

# Revista Brasileira de Horticultura Ornamental

V. 13

SUPLEMENTO

2007

Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais



16º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais  
3º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas  
1º Simpósio de Plantas Ornamentais Nativas

Goiânia, Goiás - 10 a 15 de setembro de 2007

Ficha elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação do Instituto Agrônomo

Revista Brasileira de Horticultura Ornamental. Campinas:  
Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais,  
1995.

v. 13 suplemento, 2007  
ISSN: 1809 - 6093

1. Horticultura. I. Sociedade de Floricultura e Plantas  
Ornamentais

**Indexação:** AGRICOLA  
AGRIS  
AGROBASE  
BINAGRI  
CAB ABSTRACTS  
LATINDEX  
PERI  
PERIODICA



## APRESENTAÇÃO

O tema dos Eventos “Biodiversidade e competitividade: buscando novas opções” traduz e sintetiza as preocupações de pesquisadores, professores, acadêmicos, empresários e produtores, dentre outros, quanto às freqüentes agressões ao ambiente natural, que colocam em risco de extinção muitas de nossas espécies vegetais e animais, componentes ímpares de parte de uma rica biocenose, ainda não totalmente conhecida pela Ciência.

Os eventos 16º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais e 3º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos Vegetais foram planejados de forma a terem atividades comuns às duas áreas de abrangência. Para o período matutino foram programadas mesas redondas com assuntos pertinentes às duas áreas, embora algumas palestras sejam também de interesse geral. No período vespertino estará sendo realizado o 1º Simpósio de Plantas Ornamentais Nativas, onde renomados palestrantes estarão enfocando os principais problemas encontrados para aproveitamento de nossas espécies vegetais de interesse para a ornamentação. Resultados de pesquisa e tecnologias de produção e comercialização para algumas das nossas espécies potenciais serão também apresentados. Paralelamente estarão ocorrendo palestras de interesse para estudantes e profissionais da cultura de tecidos vegetais.

Para aprofundamento de conhecimentos em determinados assuntos, tendo como base uma pesquisa realizada com os sócios da ABCTP e SBFPO, foram programados oito mini cursos, cada um com seis horas de duração. Estes estão sendo oferecidos em horários paralelos a outras atividades.

Ao todo foram programadas sete sessões de mesas redondas, quinze sessões de palestras, oito mini cursos, cinco excursões técnicas e apresentação de 585 trabalhos técnico-científicos. Destes, 64 serão apresentados na forma oral, em quatro sessões simultâneas, nos dias 12 e 14 de setembro. Os demais serão apresentados na forma de poster, em três sessões, nos dias 11, 12 e 13 de setembro.

O Estado de Goiás tem apresentado um crescimento expressivo da Floricultura nos últimos anos, principalmente em relação à produção de plantas ornamentais para parques e jardins, sendo praticamente autosuficiente. Entretanto, a produção de flores de corte e de plantas envasadas ainda carece de maior empenho dos diferentes atores da cadeia produtiva, para alavancar o seu crescimento, podendo ressaltar aqui a importância do estímulo ao crescimento da floricultura tropical na região. Os congressistas terão oportunidade através das excursões técnicas, de conhecer a nossa realidade quanto à produção de flores tropicais e de plantas ornamentais, levando daqui a certeza de que esta é uma região altamente promissora para o desenvolvimento da Floricultura, por apresentar condições edafoclimáticas favoráveis, dentre outros fatores.

A Comissão Organizadora reconhece e agradece o empenho e o interesse de cada congressista e deseja que todos tenham a oportunidade de transmitir os resultados alcançados em suas pesquisas, expor suas idéias e sugestões para impulsionar as inovações técnico-científicas em prol do fortalecimento da ciência e da tecnologia no Brasil.

Ao término dos eventos, desejamos a cada participante um feliz retorno à sua cidade, e que todos levem consigo a vontade de retornar mais vezes à nossa Capital, em outras oportunidades.

*Comissão Organizadora.*

## **BOAS VINDAS**

O Estado de Goiás, a cidade de Goiânia e seus habitantes transmitem suas boas-vindas e votos de uma feliz e proveitosa permanência dos Congressistas que participarão dos eventos 16º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 3º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas e 1º Simpósio de Plantas Ornamentais Nativas, que se iniciam. Goiânia, nesta semana, não será apenas a sede desses eventos, mas a Capital de todos nós; hospitaleira e acolhedora, nos proporcionará momentos de trabalho e produção e de lazer e diversão em seus parques, praças e jardins, avenidas, pontos históricos, restaurantes, casas noturnas e outros ambientes. As opções são variadas e que cada congressista se sinta como se estivesse em sua casa.

Sentimo-nos honrados em sediar esses importantes eventos e, vislumbrando que os mesmos se coroarão de êxito, não foram medidos esforços e árduas atividades dos membros das diferentes Comissões, em todas as fases de sua organização.

Comissão Organizadora

## **MENSAGEM DA PRESIDÊNCIA**

É com grande satisfação que organizamos o 16º Congresso Brasileiro de Floricultura, o 3º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas e o 1º Simpósio de Plantas Nativas Ornamentais. Ciente da importância desses eventos no desenvolvimento do agronegócio e da ciência e tecnologia e apoiados pela Universidade Federal de Goiás, aceitamos o desafio.

A busca de temas que representassem gargalos nas áreas de floricultura e de cultura de tecidos de plantas, nos impulsionou na busca de parcerias com importantes profissionais e instituições, os quais prontamente se envolveram e não mediram esforços no planejamento, preparo e dimensionamento dos congressos. A esses valorosos parceiros registramos nossos mais sinceros agradecimentos.

Gostaríamos de registrar nosso pesar pela perda da Dra. Linda Styer Caldas, que foi uma pioneira na Cultura de Tecidos de Plantas no Brasil e que contribuiu de forma irrefutável para a formação de muitos profissionais do ensino e da pesquisa no Brasil, presentes nestes eventos. A Dra Linda Caldas também foi uma grande parceira quando da colocação da proposta de realização dos dois congressos em Goiânia, em 2007. A essa valorosa profissional rendemos nossas homenagens e o nosso reconhecimento.

Esperamos que os participantes tenham um boa estadia em Goiânia, uma das mais belas capitais brasileiras, e que aproveitem as diferentes atividades propostas para a semana de realização dos eventos, desfrutando das belezas naturais e da hospitalidade do povo goiano.

Iraídes Fernandes Carneiro  
Presidente

Antônio Carlos Torres  
Vice-Presidente

## **SOCIEDADE BRASILEIRA DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS**

Presidente: Antônio Fernando Caetano Tombolato

Vice-presidente: Maria Esmeralda Soares Payão Demattê

Primeiro Secretário: José Marcos Leme

Segundo Secretário: José Luiz Mosca

Primeiro Tesoureiro: Gláucia Moraes Dias Tagliacozzo

Segundo Tesoureiro: Ana Maria Liner Pereira Lima

Secretária Executiva: Roberta Pierry Uzzo

## **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS**

Presidente: Renato Paiva

Secretário: Moacir Pasqual

Secretário Adjunto: Antônio Carlos Torres

Tesoureiro: Guilherme Augusto Canela Gomes

*Nossa Homenagem de gratidão à*

*Dra. Linda Syer Caldas*

*Pelo legado de seus conhecimentos em favor da  
Ciência e Tecnologia Brasileira.*

Dr<sup>a</sup> Linda Styer Caldas  
*Presidente de Honra*

### **COMISSÃO ORGANIZADORA**

Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iraídes Fernandes Carneiro - UFG/EA  
*Presidente*

Eng. Agr. Dr. Antônio Carlos Torres - Embrapa Hortaliças  
*Vice-Presidente*

Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> M. Sc. Rossana Serrato Mendonça - SEAGRO  
Biól. Ilara Pereira -UFG/EA  
*Secretaria*

Biól. Dr. Jácomo Divino Borges - UFG/EA  
Eng. Agrícola Dr. Fabiano Guimarães Silva - CEFET Rio Verde  
*Tesouraria*

### **Comissão Científica**

Biól. Dr. Jácomo Divino Borges - UFG/EA  
Eng. Agr. Dr. Antônio Carlos Torres - Embrapa Hortaliças  
Eng. Agrônomo Dr. Antonio Fernando Caetano Tombolato – IAC – NPD Jardim Botânico  
Eng. Agr. Dr. Edson Ferreira Duarte - UFG/ICB  
Eng. Agrícola Dr. Fabiano Guimarães Silva -CEFET - Rio Verde  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iraides Fernandes Carneiro - UFG/EA  
Eng. Agr. João Batista Teixeira - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Eng. Agr. Dr. João Luiz Palma Meneguci - Embrapa Transferência de Tecnologia  
Eng. Agr. Dr. Kazumitsu Matsumoto – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Eng. Agr. Dr. Luis Pedro Barreto Cid – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Dra Marta Cristina Corsi de Filippi - Embrapa Arroz e Feijão  
Biól. Dra Maurizia de Fátima Carneiro - AGENCIARURAL  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Dra. Monalisa Sampaio Carneiro - UFG/ICB  
Biól. Dr. Sérgio Tadeu Sibov - UFG/ICB  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Dra. Sílvia Correa Santos - UFG/CAJ

### **Comissão de Logística e Infra-Estrutura**

Eng. Agr. Dr. Edson Ferreira Duarte - UFG/ICB  
Eng. Agr. Dr. Manuel Gabino Crispim Churata Masca - UFG/CAJ  
Eng. Agr. Dr. Paulo Alcanfor Ximenes - UFG/EA  
Eng. Agr. M. Sc. Saulo Araújo de Oliveira - UEG-Ipameri

### **Comissão Sócio-Cultural**

Biól. Daniella Mota Silva - UFG/ICB  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Fabíola Adaianne Oliveira - PMG/Comurg  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Márcia Gomes Martins da Silva - Casa Jardim  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Shoraya Gonçalves Silva Canedo - Art Plant Paisagismo Ltda

### **Comissão de Comunicação e Divulgação**

Eng. Agr. Aquiria Alvarenga Pereira- SEMARH  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Claudini Vieira Deboni Caixeta - MAPA/SFA-GO  
Eng. Agr. James Stecca de Sousa - PMG/Comurg  
Biól. Kharen de Araújo Teixeira - SEMARH  
Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> M. Sc. Susete Araújo Pequeno - AGÊNCIAAMBIENTAL

## REVISORES AD HOC

Alexandre Moraes do Amaral (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia), Alexandre de Moraes Ferreira (UNAMA), Alineaurea Florentino Silva (Embrapa Semi-Árido), Ana Cecília Ribeiro de Castro (Embrapa Agroindústria Tropical), Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho (Embrapa Agroindústria Tropical), Ana da Silva Lédo (Embrapa Tabuleiros Costeiros), Ana Paula Artimone Vaz (Embrapa Transferência de Tecnologia/Campinas), Ana Paula de Oliveira Ribeiro (CEFET-Ribeirão Preto), André Luiz Lopes de Faria (UFV), Andreza Santos da Costa (UFRPE), Antônio Carlos Torres (Embrapa Hortaliças), Antônio Chalfun Junior (UFLA), Antônio Paulino da Costa Netto (UEMG - Fundação de Ensino Superior de Passos), Aparecida Gomes de Araújo (UFLA), Beatriz Jordão Paranhos (Embrapa Semi-Árido), Bernardo Dourado Ranieri (UFMG), Claudete Santa Catarina (USP/ DB-IB), Cláudia Ulisses de Carvalho Silva (UFRPE/UAG), Claudio Barbosa Moreira (UFRJ/IBCCF), Cleiton Mateus Sousa (EAFC e Escola Agrotécnica Federal de Ceres, GO), Clovis José Fernandes de Oliveira Junior (Instituto de Botânica, SP), Cristiane Elizabeth Costa de Macedo (UFRN), Cristina Ferreira Nepomuceno (UEFS), Cristina Paiva da Silveira Carvalho (UFC), Cynthia Cavalcanti de Albuquerque (UERN), Donizetti Tomaz Rodrigues (UFV), Edson Ferreira Duarte (UFG/ICB), Edson Soares Filho (UFV), Edvaldo Aparecido Amaral da Silva (UFLA/DCF-LASFLO), Eliana Cristina Generoso Konrad (Centro Paula Souza), Érika Soares Reis (UFLA), Fabíola Villa (UFLA), Fernando Luiz Finger (UFV), Flávio Araújo Pimentel (Embrapa Agroindustria Tropical), Franciane Tavares Braga (UFLA), Gilmar Roberto Zaffari (Epagri-Itajaí), Giuseppina Pace Pereira Lima (UNESP/IB - Botucatu), Graciela da Rocha Sobierajski (IAC), Heliana Maria Silva Brasil (UFRAM), Ilene Ribeiro da Silva Passos (IAC), Iraídes Fernandes Carneiro (UFG), Isaac Stringueta Machado (UNESP/FCA-ABMA/DRN), Jácomo Divino Borges (UFG/EA), Janilza da Paixão Santos (UEFS), João Batista Teixeira (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia), João Luiz Palma Meneguci (Embrapa Transferência de Tecnologia/Goiânia), José Marcos Leme (UNICAMP/ FEAGRI), Kazumitsu Matsumoto (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia), Leonardo Ferreira Dutra (Embrapa Florestas), Letícia de Menezes Gonçalves (UEM), Márcia de Nazaré Oliveira Ribeiro (UFLA), Marcus A. Nadruz Coelho (JBRJ), Marguerite Quoirin (UFPR-Depto. Botânica), Maria Angélica Guimarães Barbosa (Embrapa Semi Árido), Maria do Desterro Mendes dos Santos (Embrapa Hortaliças), Maria Rita de Cássia Campos (UEG), Marines Marli Gniech Karasawa (UESB), Marta Cristina Corsi de Filippi (Embrapa Arroz e Feijão), Marta Dias Soares Scott (IAC/CPD Recursos Genéticos Vegetais), Maurízia de Fátima Carneiro (Agência Rural/GO), Monalisa Sampaio Carneiro (UFSCar), Monique Inês Segeren (Pro-Clone), Neiva Izabel Pierozzi (IAC), Norma Albarello (UERJ/Instituto de Biologia), Petterson Baptista da Luz (UNESP-Jaboticabal/DPV), Rachel Fátima Gagliardi Araújo (UERJ), Raírys Cravo Nogueira (UFLA), Ricardo Manoel dos Santos Silva (UFAL/IQB), Ricardo Monteiro Corrêa (UNIPAC e UFLA), Rita de Cássia Alves Pereira (Embrapa-CNPAT), Roberta Pierry Uzzo (IAC), Roberto Alcântara Gomes (IBRAG/DBV/LABPLAN), Sandra Regina de Oliveira Domingos Queiroz (UEFS), Sérgio Tadeu Sibov (UFG/ICB), Sílvia Correa Santos (UFG/CJ), Suzana Stefanello (UP), Tanise Luisa Sausen (UFRGS), Tatiana Michlovská Rodrigues (UFU), Tatiana Vieira Ramos (UEG), Valácia Lemes da Silva Lobo (Embrapa Arroz e Feijão), Vanildo Silveira (UENF/CBB/LBT), Walter Alvarenga Rodrigues (UFG/ICB).

# Promoção, Apoio, Patrocínio

Realização



Promoção



Apoio

Ministério da  
Agricultura, Pecuária e  
Abastecimento



SEMARH  
SECRETARIA DO  
MEIO AMBIENTE E DOS  
RECURSOS HÍDRICOS



Organização/Informações



Fone/Fax: 62 3241 3939

congressosgo2007@wincentraldeeventos.com.br

**Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**  
*Brazilian Magazine of Ornamental Horticulture*

**Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais**  
*Official publication of the Brazilian Association of Floriculture and Ornamental Plants*  
[www.sbfpo.com.br](http://www.sbfpo.com.br)

**COMISSÃO EDITORIAL**  
*Editorial committee*

**Editor-chefe**

*Editor-in-Chief*

Antonio Fernando Caetano Tombolato

**Editores de Área**

*Area Editors*

Paisagismo (*Landscape*) – Maria Esmeralda Soares Payão Demattê – UNESP - Jaboticabal  
Fisiologia (*Physiology*) – José Luiz Mosca – Embrapa – CNPAT - Fortaleza  
Substrato, Nutrição (*Substrate, Nutrition*) – Atelene Norman Kampf – UFRGS – Porto Alegre  
Pós-colheita (*Post-harvest*) – Gláucia Moraes Dias Tagliacozzo – IAC - Campinas  
Custo de Produção e Mercado (*Costs of Production, Market*) – Lilian Anefalos – IEA – São Paulo  
Melhoramento genético e novas culturas (*Breeding, New Crops*) – Antonio Fernando Caetano  
Tombolato – IAC - Campinas  
Fitossanidade (*Phytopathology*) – Maria Amélia Alexandre – IB – São Paulo  
Cultura de Tecidos (*Tissue Culture*) – Enio Pedrotti – UFSC - Florianópolis  
Fitotecnia (*Cultivation Practices*) – José Antonio Saraiva Grossi – UFV - Viçosa

**Diretoria:**

*Board:*

Presidente (*Chairman*): Antonio Fernando Caetano Tombolato, IAC, Campinas, SP.  
Vice-Presidente (*vice Chairman*): Maria Esmeralda Soares Payão Demattê, UNESP, Jaboticabal, SP.  
1º Secretário (*1st. Secretary*): José Marcos Leme, FEAGRI, UNICAMP, Campinas, SP.  
2º Secretário (*2nd. Secretary*): José Luiz Mosca, CNPAT, EMBRAPA, Fortaleza, CE.  
1º Tesoureiro (*1st. Treasurer*): Gláucia Moraes Dias Tagliacozzo, IAC, Campinas, SP.  
2º Tesoureiro (*2nd. Treasurer*): Ana Maria Liner Pereira Lima, ESALQ, USP, Piracicaba, SP.  
Secretária-Executiva (*Executive-Secretary*): Roberta Pierry Uzzo, IAC, Campinas, SP.

Secretária da Revista (*Magazine Secretary*): Marta Marilda Cesira Tombolato Tramontina

Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento – Jardim Botânico – Instituto Agrônomico  
Endereço (*Address*): Av. Barão de Itapura, 1.481, Caixa Postal 28, 13001-970, Campinas, São Paulo.  
Telefone 55 (19) 3241-9091, fax 55 (19) 3241-9091, e-mails: [sbfpo@iac.sp.gov.br](mailto:sbfpo@iac.sp.gov.br);  
[rbho@iac.sp.gov.br](mailto:rbho@iac.sp.gov.br)

**Editoração** (*Technical processing*): **TecArt**

**Tiragem** (*Printing*): **800** exemplares

É autorizada a reprodução de artigos publicados nesta edição, agradecendo-se a citação da fonte.  
*The reproduction of articles published in this edition is authorized, under the condition that the source is acknowledged.*



# Áreas

---

**Botânica e Fisiologia**

**Economia e Mercado**

**Fitossanidade**

**Genética e Melhoramentos**

**Micropropagação**

**Outras Aplicações da Cultura de Células Tecidos e Órgãos**

**Outros**

**Paisagismo**

**Produção de Metabólicos Secundários *in vitro***

**Sementes e Propagação**

**Solos, Nutrição e Adubação**

**Tecnologia de Produção**

## Palestrantes

---

1. ALDERETE, M.; BOLOGNA, P.; FACCIUTO, G.; HAGIWARA, J. C.; KATO, A.; **ESCANDÓN, A.S.** El uso de mutágenos en el mejoramiento de germoplasma ornamental nativo.
2. **ALOUFA, M.A.I.** Enraizamento *in vitro* de plantas lenhosas: dificuldades e soluções.
3. CUQUEL, F.L.; **MIELKE, E.C.**; VALLE, F.J.R. do. Valorização da biodiversidade urbana em Curitiba.
4. **FLOH, E. I. S.**; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V. Marcadores bioquímicos e moleculares para estudos da morfogênese *in vitro*.
5. Dias, L.L.C.; Floh, E.I.S.; Santa-Catarina, C.; **Silveira, V.** Proteômica comparativa aplicada à cultura de tecidos de plantas.
6. **DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.**; MOSCA, J.L. Pós-colheita de flores e folhagens: manutenção da qualidade.
7. **FINGER, F.L.**; **BARBOSA, J.G.** Relações hídricas e fisiologia pós-colheita de flores de corte.
8. GENNARELLI, M.C.; ÁLVAREZ, M.A.; **ESCANDÓN, A.S.** Avances en transgénesis de cultivos ornamentales. El uso de la tecnología de *Agrobacterium rhizogenes* como herramienta en el mejoramiento.
9. **GERALD, L.T.S**; BRESSAN, E.A.; CORRÊA DA SILVA, A.D.; LEE, L.L. Implantação de biofábrica de cana-de-açúcar: riscos e sucessos.
10. **Guerra, M.P.**, Dal Vesco, L.L. Sementes Sintéticas e Unidades Encapsuláveis
11. IKUTA, H.; YABASE, M.K.K.; **BRANDT, M.C.P.** Melhoramento de *Oncidium flexuosum* para flor de corte.
12. **OLIVEIRA, G.M.de**; BRACHER JR, P.E., OLIVEIRA, R.C. de; EITERER, M. Representação gráfica digital em paisagismo com os softwares autolandscape e photolandscape.
13. **PEREIRA, A.C.S.** O comércio internacional de espécies da flora silvestre ameaçadas de extinção e a convenção CITES.
14. **RODRIGUES, L.R.** Isolamento e cultivo *in vitro* de micrósporos e grãos de pólen.
15. SANTOS, M. DO D. M DOS; **TORRES, A.C.** Meio e condições de cultivo *in vitro*.
16. **Schiva, T.**; A. Mercuri, A. Who's still breeding flowers?
17. **SEGEREN, M.I.** Biofábrica de Plantas Ornamentais.

18. **Silva, A.B.** Uso da luz natural na micropropagação.
19. **TEIXEIRA, M do C.F.** RECIFLORA – da produção de flores e plantas ornamentais para o consumo interno à exportação.
20. **TEIXEIRA, S.L.** Reduzindo custos em biofábricas.
21. **TULMANN NETO, A.;** LATADO, R. R. Indução de mutação: ampliação da variabilidade genética para o melhoramento de ornamentais
22. **VAN KOOTEN, O.;** SCHEPERS, H. Optimizing and retaining product quality in the supply chain: for whom and who profits?
23. **ZAFFARI, G.R.** Geração e transferência de biotecnologias para a cadeia produtiva de plantas frutíferas e ornamentais.
24. **TOMBOLATO, A.F.C.** Projeto: Plantas ornamentais para o futuro - Região centro-oeste
25. **ANDRIGUETO, J.R;** Nasser, L.C.B.; Teixeira, J.M.A.; Martins, M.V.M.; Produção integrada e certificação de plantas e flores.
26. **BARRET, R.C. ;** Viana, A.M.B. ; Castro, A.C.R. ;Vinhas, N.J.; Plantas do futuro do NE: plantas ornamentais, produtoras de fibras e com sementes ornamentais.
27. **BIANCHETTI, L.B.;** Miranda, Z.G.; Conservação ex situ de recursos genéticos de plantas ornamentais no Brasil: estratégia básica para o desenvolvimento do setor.

## PROGRAMAÇÃO

10.09.2007	Segunda-feira
08:00-18:00	Inscrições e entrega de material <b>Excursão Técnica 5:</b> Cultura de Tecidos Coordenador: Dr. Sérgio Tadeu Sibov-UFG/ICB Local: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Brasília, DF
20:00	Solenidade de Abertura
21:00	Coquetel

11.09.2007	Terça-feira
8:00-10:30	<b>Mesa Redonda 1:</b> Implantação de biofábricas: riscos e sucessos 1. Implantação Palestrante: Dr. José Antonio Peters - UFPel 2. Biofábrica de cana-de-açúcar Palestrante: Dr. Lee Tseng Sheng Gerald - UFSCar 3. Biofábrica de plantas ornamentais Palestrante: Dra. Monique Inês Segeren - Pro-Clone
8:00-12:00	<b>Mini curso 1:</b> Arte floral
10:30-11:00	Intervalo
11:00-12:00	<b>Palestra 1:</b> A produção de flores tropicais como estratégia de competitividade no mercado mundial Palestrante: Dr. Carlos Eduardo Ferreira de Castro - IAC <b>Palestra 2:</b> Estabilidade genética Palestrante: Dra. Solange Rocha Monteiro de Andrade - Embrapa Cerrados
12:00-13:30	Almoço
13:30-14:30	<b>Palestra 3:</b> Cultivo <i>in vitro</i> com o uso de luz natural Palestrante: Dr. Adriano Bortolotti da Silva - UNIFENAS
13:30-15:30	<b>Mesa Redonda 2:</b> Plantas do futuro: espécies brasileiras com potencial ornamental 1. Região Norte Palestrante: Dr. Samuel Soares de Almeida - Museu Emílio Goeldi 2. Região Nordeste: Palestrante: Dra. Ana Cecília Ribeiro de Castro - Embrapa Agroindústria Tropical 3. Região Centro-Oeste Palestrante: Dr. Antônio Fernando Caetano Tombolato - IAC 4. Região Sudeste Palestrante: Dra. Míriam Pimentel Mendonça - Fundação Zoo-Botânica (BH) 5. Região Sul Palestrante: Dr. Kurt Bourcheid - UFSC
14:30-15:30	<b>Palestra 4:</b> Produção de metabólitos secundários Palestrante: Dr. Paulo Sérgio Pereira - UNAERP
15:30-16:00	Intervalo
16:00-17:00	<b>Apresentação de "Posters" - Seção 1</b>
17:00-18:00	<b>Palestra 5:</b> Comércio internacional de espécies da flora silvestre ameaçadas de extinção (CITES) Palestrante: Dra. Ana Carla Santos Pereira - IBAMA <b>Palestra 6:</b> Proteômica Comparativa Aplicada à Cultura de Tecidos de Plantas Palestrante: Dr. Vanildo Silveira - USP
17:00-19:00	<b>Mini-cursos: 2, 3, 4, 5, 6 e 7</b> Mini-curso 2 (3º CBCTP) <b>Isolamento e cultivo <i>in vitro</i> de micrósporos e grãos de pólen</b> Palestrante: Dra. Lia Rosane Rodrigues - UFRGS Mini-curso 3 (3º CBCTP) <b>Tecnologias alternativas para cultivo <i>in vitro</i></b> Palestrante: M. Sc. Vanda Marilza de Carvalho Mini-curso 4 (3º CBCTP)

	<p><b>Microenxertia e outras técnicas de propagação para limpeza clonal e apoio a programas de melhoramento de plantas</b> Palestrante: Dr. Sérgio Alves de Carvalho-IAC- Centro APTA Citros Sylvio Moreira</p> <p>Mini-curso 5 (16º CBFPO) <b>Produção de orquídeas para corte e envasadas</b> Palestrante: Dr. Roberto Jun Takane - Takane Agrifloricultura</p> <p>Mini-curso 6 (16º CBFPO) <b>Pós-colheita de flores e folhagens</b> Palestrante 1: Dr. Fernando Luiz Finger Palestrante 2: Dra Gláucia Moraes Dias Tagliacozzo - IAC Palestrante 3: Dr. Olaf van Kooten</p> <p>Mini-curso 7 (16º CBFPO) <b>Uso de software em projetos paisagísticos</b> Palestrante: Arq. Guilherme Motta de Oliveira - AUE Soluções Paisagísticas</p> <p>Mini-curso 8 (3º CBCTP) <b>Meios e condições de cultivo <i>in vitro</i></b> Palestrante 1: M. Sc. Maria do Desterro Mendes dos Santos - Embrapa Hortaliças Palestrante 2: Dr. Antônio Carlos Torres - Embrapa Hortaliças</p>
18:00-19:00	<b>Reuniões</b> (R1 - Ensino; R2 – Pesquisa; R3 - Extensão)
12.09.2007	<b>Quarta-feira</b>
8:00-10:30	<p><b>Mesa Redonda 3:</b> Melhoramento de plantas ornamentais: estratégia de competitividade e aproveitamento da biodiversidade</p> <p>1. Indução de mutações: ampliação da variabilidade genética Palestrante: Dr. Augusto Tulmann Neto – USP/CENA</p> <p>2. Avanços em transgenia de espécies ornamentais: O uso da tecnologia de <i>Agrobacterium rhizogenes</i> como ferramenta no melhoramento Palestrante: Dr. Alejandro Salvio Escandón - Instituto de Floricultura-INTA-Argentina</p> <p>3. Hibridação como estratégia de valor agregado ao produto Palestrante: Dr. Tito Schiva - Istituto Sperimentale per la Floricoltura - Itália</p>
8:00-12:00	<b>Mini curso 1:</b> Arte floral
10:30-11:00	Intervalo
11:00-12:00	<p><b>Palestra 7:</b> Modelagem em Floricultura Palestrante: Dr. Olaf Van Kooten - Universidade de Wageningen - Holanda</p> <p><b>Palestra 8:</b> Marcadores bioquímicos e moleculares para estudos da morfogênese <i>in vitro</i> Palestrante: Dra Eny lochevet Segal Floh - USP</p>
12:00-13:30	Almoço
13:30-15:30	<b>Apresentação Oral de Trabalhos - Sessões 1, 2, 3 e 4</b>
15:30-16:00	Intervalo
16:00-17:00	<b>Apresentação de "Posters" - Seção 2</b>
17:00-18:00	<p><b>Palestra 9:</b> Melhoramento de <i>Oncidium flexuosum</i> para flor de corte Palestrante: Dra Maria Cecília Piola Brandt – Univ. Mogi das Cruzes, SP (UMC)</p>
17:00-19:00	<b>Mini-cursos: 2, 3, 4, 5, 6 e 7</b>
18:00-20:00	<b>Assembléia Geral da ABCTP</b>
13.09.2007	<b>Quinta-feira</b>
8:00-10:30	<p><b>Mesa Redonda 4:</b> Marketing para novos produtos</p> <p>1. Agregando valor às flores: produção e comércio Palestrante: Eng. Agr. Vítor Hugo Artigiani - FAAP</p> <p>2. Geração e transferência de biotecnologias para as cadeias produtivas de frutíferas e plantas ornamentais Palestrante: Dr. Gilmar Roberto Zaffari - EPAGRI-Itajaí</p> <p>3. Inserção de novos produtos no mercado internacional Palestrante: Eng. Agr. Alexandre Borges Moreno Syntese Treinamento e Consultoria Empresarial</p> <p><b>Mini curso 8:</b> Meios e condições de cultivo <i>in vitro</i></p>
8:00-12:00	<b>Mini curso 1:</b> Arte floral
10:30-11:00	Intervalo

11:00-12:00	<b>Palestra 10:</b> Certificação de plantas e flores Palestrante: Dr. Luiz Carlos Behring Nasser - MAPA
	<b>Palestra 11:</b> Unidades encapsuláveis e semente sintética Palestrante: Dr. Miguel Pedro Guerra - UFSC
12:00-13:30	Almoço
13:30-15:30	<b>Mesa Redonda 5:</b> Conservação <i>ex-situ</i> de espécies nativas 1.Procedimentos legais para coletas, curadores e fiel depositário Palestrante: Dr. Eduardo Martin Velez - MMA/CGEN 2.Formas de conservação Palestrante: Dr. Luciano do Bem Bianchetti - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia 3.Mapeamento das Coleções e bancos de germoplasma de espécies nativas Palestrante: Dr. Renato Ferraz de Arruda Veiga - IAC
	<b>Mini curso 8:</b> Meios e condições de cultivo <i>in vitro</i>
15:30-16:00	Intervalo
16:00-17:00	<b>Apresentação de "Posters" - Seção 3</b>
17:00-18:00	<b>Palestra 12.</b> Novas cultivares de <i>Hemerocallis</i> : do melhoramento à comercialização Palestrante: Gestor Téc. Dário Bergemann - Agrícola da Ilha (Paraná)
17:00-19:00	<b>Mini-cursos: 2, 3, 4, 5, 6 e 7</b>
18:00-19:00	<b>Assembléia Geral da SBFPO</b>

14.09.2007	Sexta-feira
8:00-10:30	<b>Mesa Redonda 6:</b> Micropropagação: problemas e soluções 1.Redução de custos Palestrante: Dr. Sílvio Lopes Teixeira - UENF 2.Aclimatização Palestrante: Dr. Wagner Campos Otoni - UFV 3.Espécies lenhosas Palestrante: 3: Dr. Magdi Ahmed Ibrahim Aloufa – UFRNorte
	<b>Mesa redonda 7:</b> O associativismo no agronegócio da floricultura no Brasil 1.A importância do trabalho conjunto para o crescimento da floricultura brasileira Palestrante: Sociol. Marcello Meirelles Associação dos Produtores Rurais do Litoral Norte-APRLN, Caraguatatuba, SP 2.Associações emergentes no Brasil - em busca de maior competitividade Palestrante: Paisag. Jordi Castan Bañeras - Associação Mercaflor 3.RECIFLORA – da produção de flores e plantas ornamentais para consumo interno à exportação Palestrante: Jorn. Maria do Carmo Ferraz Teixeira Associação dos Produtores de Flores Tropicais de Recife (RECIFLORA)
10:30-11:00	Intervalo
11:00-12:00	<b>Palestra 13:</b> Paisagismo contemporâneo: conceitos e tendências Palestrante: Dra Ana Maria Liner Pereira Lima - USP/ESALQ
	<b>Palestra 14:</b> Passifloraceae: experiências em cultura de tecidos e transformação genética Palestrante: Dra Maria Lúcia Carneiro Vieira - USP/ESALQ
12:00-13:30	Almoço
13:30-15:30	<b>Apresentação Oral de Trabalhos - Sessões 5, 6, 7 e 8</b>
15:30-16:00	Intervalo
16:00-17:00	<b>Palestra 15:</b> O uso de agentes mutagênicos no melhoramento de germoplasma nativo ornamental Palestrante: Dr. Alejandro Salvio Escandón - Instituto de Floricultura - INTA - Argentina
17:00-18:00	<b>Sessão de Encerramento</b>

15.09.2007	Sábado
8:00-18:00	<b>Excursões Técnicas</b> <b>ET1: Parques urbanos de Goiânia</b> Coordenadora: Eng <sup>a</sup> Agr <sup>a</sup> M. Sc. Márcia Yuriko - AMMA Local: Goiânia, GO

<b>ET2: Reserva Biológica da Serra Dourada - UFG</b> Coordenadora: Eng <sup>a</sup> Agr <sup>a</sup> Aquíria Alvarenga Pereira - SEMARH Locais: Mossâmedes e Goiás, GO
<b>ET3: Produção de plantas ornamentais</b> Coordenadoras: Eng <sup>a</sup> Agr <sup>a</sup> Shoraya Gonçalves Silva Canedo Eng <sup>a</sup> . Agr <sup>a</sup> . Ana Rita Lopes e Souza Locais: Goianira e Trindade, GO
<b>ET4: Produção de flores tropicais</b> Coordenador: Eng <sup>a</sup> Agr <sup>a</sup> Fabíola Adaianne Oliveira Local: Santo Antônio de Goiás, GO

## Índice de Autores

### A

Abbade, L.C.	398, 1012, 1397, 1400, 1538, 1542
Aboboreira Neto, M.	1079
Abreu, H.S	85, 1388, 1392
Abreu, I.S.	1267
Abreu, P.P.	347, 1373
Adilson N.S	643
Adriana S.C.	1464
Adriene M.S.	406, 796, 799
Afrânio F.	84
Agner H.B	183, 230
Aguiar, M.	95
Aguiar, R.S	918
Aguilar, J.P.L	35
Ahnert, D.	343, 1079
Akiyoshi, B.K.	733
Alan D.C.	652
Albarelo, N.	459
Albarelo, N.	464
Albrecht, C.	1550
Albuquerque, C.C.	455
Albuquerque, M.C.F.	1766
Alcântara, G. B.	1598
Alcântara, G.B.	1465
Alcebiádes D.	1327
Alcebiádes R.S.J.	1355
Alloufa M.H.I.	295
Almeida, A.A.F.	347
Almeida, E.F.A.	129, 1688, 1689, 1696
Almeida, G.R.R.	435
Almeida, J.L.	396, 397
Almeida, S.Á.	536
Almeida, T.C.S.	536, 694
Almeida, W. A. B.	617, 626, 677, 986
Almendagna, F.	738
Aloufa, M.A.I.	244, 248, 252, 1206, 1207, 1310
Althaus O.M.M.	11, 1315, 1316
Alvarenga Â.A.	638
Alvarenga, A.A.	1384
Alvarenga, R.C.E.	1693, 1799
Alvarez V.V.H.	159, 179, 206, 226, 1680, 1684, 1697, 1710, 1813
Alves C.M.L.	1714
Alves, C.M.L.	1688
Alves, E.	473, 477, 481
Alves, G.D.	1, 540, 601, 673
Alves, L.S.	884
Alves, M.A.G.	1727



A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Alves, S.F.N.S.C. ....	1337, 1346
Alvim, B.F.M. ....	1094, 1099
Ambrosano G.M.B. ....	.93
Ambrosano G.M.B. ....	.94
Anami E.T. ....	183, 230
Andrade, G.A. ....	.334
Andrade, G.D.S.C. ....	.376
Andrade, G.R. ....	1653
Andrade, J.B.R. ....	.12
Andrade, S.R.M. ....	1061, 1205, 1288
Andradre A.G. ....	.621
André L.L.S. ....	1081
André L.V. ....	1625
Anjos, D.C. ....	1730
Aquino, F.G. ....	1369
Aragão F.J.L. ....	.281, 329, 1073
Aragão G.I. ....	.7
Araujo A.G. ....	.406, 796, 799
Araújo C.M. ....	.829, 931
Araújo D.B. ....	1416, 1739, 1743
Araújo I.C. ....	.583
Araújo, A.G. ....	.383, 387, 391, 427, 1466, 1519
Araújo, E.R. ....	.123
Araújo, F.G. ....	.193, 240
Araújo, F.S. ....	1267
Araújo, I.S. ....	.343, 347
Araújo, T.G. ....	.164, 167, 211, 214
Araújo, T.H. ....	.409, 411, 1737, 1738
Arcari, F.S. ....	.193, 240
Arcari, F.S. ....	.243
Argôlo, M.A.V. ....	.677
Arrigoni-Blank, M.F. ....	.506, 528, 532, 536, 592, 694, 770, 1248
Arruda, R.C.O. ....	.35
Assis J.G.A. ....	.569
Assis, A.M. ....	.733, 918, 1770, 1782, 1790
Assis, D.F.C. ....	.1657
Assis, F.A. ....	.401, 608, 638, 738, 807, 1124
Assis, S.P. ....	1748, 1749, 1794
Ataíde, M.T.S. ....	.360
Augustin L. ....	.305, 1031
Augustin, L. ....	.588
Auxiliadora M. ....	.780
Azevedo Júnior H.B. ....	.1657
Azevedo, H.M.A. ....	.1108
Azevedo, J.H. ....	.978, 982
Azevedo, P.H. ....	.1603

**B**

Balbuena, T.S. ....	12
Bandeira, F.S. ....	970
Barata L.E.S. ....	1440
Barbosa F.S. ....	382
Barbosa J.B.F. ....	53
Barbosa J.G. ....	1804, 1805, 1806
Barbosa J.M. ....	1804, 1805, 1806
Barbosa L.V. ....	569
Barbosa Lee, P.M.S.; ....	1728
Barbosa T.G. ....	1355
Barbosa, C.M. ....	729, 1774
Barbosa, F.S. ....	1821
Barbosa, G.C.V. ....	103, 132, 1747, 1748, 1749, 1794
Barbosa, J.B.F. ....	49, 523, 648, 665
Barbosa, J.G. ....	57, 103, 140, 141, 142, 1545, 1549, 1747, 1748, 1749, 1765, 1794, 1803
Barbosa, L. ....	1529
Barbosa, M.S. ....	57, 1549
Barbosa, N.R. ....	1019
Barboza, S.B.S.C. ....	715, 829, 960, 969, 1036, 1037, 1049, 1129, 1258, 1502, 1513
Barreto O.M.T. ....	167, 214
Barros I.B.I. ....	1504
Barros L.M. ....	380, 381
Barros, A.F. ....	816, 1680, 1747, 1748, 1749, 1765, 1794,
Barros, E.F.S. ....	41, 1333
Bassi, A.J.T.; ....	351, 758
Bastos L.P. ....	419, 423, 431
Batida, S.S.; ....	1729
Batista, C.R. ....	1104
Batista, M.V. ....	1697
Batista, R.J.R. ....	103, 1748
Beauvalet, C.S. ....	309
Beck, A.P.A. ....	317
Beckmann-Cavalcante, M.Z. ....	1512, 1621, 1628, 1632, 1444, 1761
Bellingieri, P.A. ....	1786
Bellintani, M.C. ....	569, 574, 575, 579, 792, 1023
Bellon, G. ....	1365
Benko-Iseppon, A.M. ....	1108
Berger, M. V .S. ....	816
Bernini, C.S. ....	1435
Bertolin D.C. ....	1464
Bertozzo, F. ....	375, 902, 1529, 1817
Bespalhok Filho, J.C. ....	294, 907
Bezerra F.C. ....	1416, 1739, 1743
Bezerra Neto E. ....	62, 70
Biasi, L.A. ....	1465, 1598
Biondi D. ....	1471, 1472, 1493
Bisognin D.A. ....	1081

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Bisognin, D.A. ....	1165, 1173
Bittar, C.A. ....	1208, 1216
Bittencourt, L.D. ....	1616
Bittrich, V. ....	.83
Blank, A.F. ....	.506, 528, 532, 536, 592, 694, 770, 1248
Boliane, A.C. ....	1489, 1497
Bonsucesso, J.S. ....	.626
Borges, L.F.V. ....	.600, 642
Borges, R.S. ....	.334
Borsatto, R. ....	1315, 1316
Bortoluzzi, E.C. ....	1554
Braga, F.T. ....	.362, 367, 371, 767
Braga, M.C. ....	1680
Braga, M.F. ....	.334, 337, 340, 1365, 1369
Brandão S.C. ....	1258
Brito J.Z. ....	.621, 1485
Brito M.R. ....	170, 217
Brito, L.K.F.L. ....	.304, 865, 869
Brondani, G.E. ....	.978, 982
Bruno V.C.G. ....	170, 217, 1355
Bruno, R.L.A. ....	.74
Buso, G.S.C. ....	1130

C

Cabral J.A.S. ....	405, 583
Cabral J.R.S. ....	.274
Cabral, G.B. ....	.281
Cabral, K. F. ....	1327
Caldas, P.E.A. ; ....	1594
Caliari, M.; ....	1660
Callado, C.H. ....	.459
Calvete E. ....	.305
Calvete, E.O. ....	.588, 1550, 1554
Câmara, M.M.A. ....	248, 1206, 1207, 1310
Camara, T.R. ....	.415, 439, 451, 455, 469, 710, 922, 1157
Campos O.W. ....	.970, 1254, 1267
Campos, A.C. ....	.941
Campos, A.C.A.L. ....	.622, 630, 634, 935
Cantanhede, I.S.L. ....	1529, 1817
Caprestano, C.A. ....	.716
Cardoso R.D.L. ....	.305, 1031
Cardoso, M.G.S. ....	1226
Cardoso, R.D.L. ....	.58
Cardoso, T.V. ....	1190
Carelli, M. ....	1807
Carla V.B.C. ....	.903, 908, 913
Carmo D.O. ....	.643, 690, 698, 702
Carneiro, A.A. ....	.329

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Carneiro, A.G. ....	.903, 908, 913
Carneiro, C.E. ....	.579 1023
Carneiro, D.N.M. ....	.1688, 1689, 1807
Carneiro, F.S. ....	.557, 1140, 1153, 1169, 1177, 1182, 1200
Carneiro, I.F. ....	.412, 413, 414, 1565, 1569, 1722, 1723
Carneiro, M.F. ....	.414, 1722
Carneiro, N.P. ....	.329
Carolina M.M. ....	.1235
Carribeiro, L.S. ....	.106
Carrijo, N.S. ....	.1561
Carvalho, L.J.C.B. ....	.329
Carvalho F.L.B.M. ....	.1464
Carvalho M. ....	.1808
Carvalho M.F.A. ....	.1489, 1497, 1640
Carvalho, A. ....	.1533
Carvalho, A.C.P.P. ....	.380, 381, 382
Carvalho, A.J.C. ....	.1135
Carvalho, C.H.S. ....	.435
Carvalho, C.P.S. ....	.1383
Carvalho, C.R. ....	.1267, 1272
Carvalho, F.L.B.M.C. ....	.1489, 1497
Carvalho, J.G. ....	.391, 706, 1688, 1689
Carvalho, J.M.F.C. ....	.330
Carvalho, L.R. ....	.1561
Carvalho, M. ....	.545, 549, 605
Carvalho, M.L.M. ....	.776, 784, 788
Carvalho, P.R. ....	.1395
Carvalho, R.C. ....	.1360
Carvalho, R.S. ....	.41
Carvalho, R.S.C. ....	.1333
Carvalho, S.A. ....	.1287
Carvalho, Z. ....	.677
Carvalho, Z.S. ....	.617, 626
Carvalho-Sobrinho, J.G. ....	.83
Casali, L.P. ....	.1421, 1672
Castiglioni, G.L. ....	.337
Castilho R.M.M. ....	.1457, 1460, 1464
Castilho, R.M.M. ....	.154, 201, 1289, 1291, 1292, 1417, 1434, 1448, 1527, 1558, 1640
Castro D.M. ....	.484, 496, 501
Castro E.M. ....	.998
Castro M.F.A. ....	.1626, 1627
Castro, A. ....	.1403, 1407, 1412, 1425, 1429, 1448
Castro, A.C.R. ....	.1625, 1626, 1627
Castro, A.C.R. ....	.66
Castro, A.H.F. ....	.927, 1384
Castro, C.N. ....	.464
Castro, C.R.N. ....	.459
Castro, E.M. ....	.31, 362, 367, 371, 383, 387, 427, 746, 767, .803, 961, 965, 1057, 1145, 1281
Castro, F.V. ....	.1612, 1616

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Castro, J.P. ....	123, 330
Castro, L.M. ....	95 , 596, 599
Castro, T.C. ....	464
Catunda, P.H.A ....	1135
Cauto V.B. ....	1485
Cavalcante R.A. ....	104, 105
Cavalcante, Í.H.L. ....	1621, 1628, 1632
Cavalcante, P.R. ....	243
Cavalcante, R.A. ....	141
Cavalcanti, F.R. ....	1383
Cavalcanti, G.J.F. ....	1108
Cavalcanti, L.L. ....	1206, 1207, 1310
Cavalcanti, T.S. ....	1108
Cavallari L.L. ....	948, 1273, 1277
Centofante, A.R. ....	1012, 1538, 1542
Cerqueira L.S. ....	643
Chalfun, N.N.J. ....	1534
Charchar, M.J.D. ....	1288
Chiea, S.A. ....	1728, 1729
Chig, L.A. ....	1604
Cibelley V.S.D. ....	295
Cidade Junior, H. ....	1315
Ciotta, M.N. ....	1478, 1778
Cipriano, T. M. ....	329
Clandio M.S. ....	183. 230
Clarindo, W. R. ; ....	1267, 1272
Clarissa A.C. ....	620
Claudete S.C. ....	6
Claudio B.M. ....	898
Clébio, P. F. ....	66
Coelho P.C. ....	1747, 1748, 1749, 1794
Coelho, M.C.F. ....	281, 587
Coelho, P.J.A. ....	15
Coelho, S.J. ....	1534
Conceição, L.D.H.C.S. ....	347
Copati, L.A.S. ....	1036, 1037, 1129
Cordeiro I.M.C.C. ....	903, 908, 913
Cordeiro, S.Z ....	35, 669
Corrêa R.M. ....	492, 1379
Corrêa, L.S. ....	1489, 1497
Corrêa, R.X. ....	343, 347
Corrêa, R.M. ....	1235
Correa, V.R.S. ....	410, 1737, 1738
Correia, A.A.S. ....	104
Correia, Diva ....	13, 14, 15
Correia, W.K.A.M ....	1008
Costa A.S. ....	1625, 1626, 1627
Costa J.N. ....	105
Costa M.A.P.C. ....	419, 423, 431, 643, 690, 698, 702
Costa, A.D. ....	1360

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Costa, A.F. ....	26, 78
Costa, A.S. ....	62, 66, 70, 136, 321, 506, 532, 592, 770
Costa, D.A. ; ....	710
Costa, F.C. ....	383
Costa, F.H.S. ....	742, 746, 803, 841, 888, 948, 961, 965, 1050, 1057, 1066, 1070, 1090, 1145
Costa, F.R. ....	1594
Costa, G.L. ....	1657
Costa, L.C.B. ....	1145
Costa, M.A.P.C. ....	617, 626, 677, 986
Costa-Netto, A.P. ....	256, 1435
Cruz, D.S. ....	53
Cunha T.G. ....	1799
Cunha, A.O. ....	1251
Cunha, E.C. ....	1750
Cuquel, F.L. ....	294, 907, 1181, 1297, 1598
Curio, P.N. ....	1534

D

D'Andrea, F. ....	1425, 1429
Dal Vesco, L.L. ....	716, 725
Dalilhia N.S. ....	406, 796, 799
Damasceno, C.F.B. ....	986
Damasceno, C.V. ....	729
Dantas, C.V.S. ....	7, 16, 21
Dantas, J.L.L. ....	1226
Davey, M.R. ....	1514
David, J.M. ....	1136
David, J.P.L. ....	1136
Davide, A.C. ....	1433
Deccetti, S.F.C. ....	648
Deuner, S. ....	932, 935, 938
Deus, D.A. ....	85, 1388, 1392
Dias G.M.G. ....	380, 381
Dias T. ....	111, 115, 119
Dias, A.L.F. ....	1, 26, 36, 78, 540, 601, 673
Dias, I.E. ....	410, 411, 1735, 1737
Dias, J.M.M. ....	605, 816
Dias, L.L.C. ....	5, 12
Dias, M.M. ....	1192, 1534
Dignart, S.L. ....	362, 367, 371
Diniz, J.D.N. ....	396, 397, 1730
Dombroski, J.L.D. ....	1603, 1604, 1608
Donato V.M.T.S. ....	621, 1485
Dornelas, C.S.M. ....	74, 1581
Dornelas, G.V. ....	74
Dornelles, A.L.C. ....	443
Dourado, P.M. ....	95

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Duarte, B.C. ....	164, 211
Duarte, E.F. ....	1561, 1565, 1569, 1723
Duarte, M.S. ....	85, 1388, 1392
Duarte, R.D. ....	256
Dutra M.F. ....	93, 295, 532
Dutra M.F.B ....	94
Dutra, E.M ....	1327
Dutra, L.F. ....	978, 982, 1104
Dutra, M.F.B. ....	686, 865, 869
Duval, F.G. ....	1089

E

Eberlin, C.B.V.T. ....	1434
Emrich, E.B. ....	473, 477, 481, 622, 630, 873, 877, 880
Esquibel M.A. ....	898

F

Facioli, A.P. ; ....	1590
Fagundes, D.B. ....	1089
Fagundes, R.N. ....	1089
Falcão, T.I.S.N. ....	164, 211
Faleiro, F.G. ....	337, 340, 1205, 1365, 1369
Faria J.M.R. ....	1433
Faria, A.D. ....	83
Faria, M.A.V.R ....	1192
Faria, R.T. ....	729, 733, 734, 750, 918, 1770, 1774, 1782, 1790
Farias, J.S. ....	1534
Farias, M.E. ....	865, 869
Fava, C.L.F. ....	1766
Favero J.M. ....	1435
Felix A.M. ....	1627
Felix, A.M.S. ....	62, 70, 136
Feniman, E. ....	1315
Fermino Jr, P.C.P.; ....	45, 519, 811, 837, 841, 845, 849
Fernanda L. ....	1636, 1643, 1648, 1664, 1668
Fernandes E.M.L. ....	1464
Fernandes, D.M. ....	1636, 1643, 1648, 1664, 1668
Fernandes, E.P. ....	1657, 1660, 1676
Fernandes, K.D. ....	175, 222
Fernandes, K.R.G. ....	186, 233, 1186
Fernandez, T.G. ....	1407
Fernando A.S.A. ....	1625, 1626, 1627
Ferreira E.A. ....	944
Ferreira F.F. ....	405, 583
Ferreira S.F. ....	903, 908, 913
Ferreira, C.A. ....	257, 277

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Ferreira, C.A.B.V. ....	375
Ferreira, E.A. ....	742, 948, 1090
Ferreira, G.N. ....	473
Ferreira, L.D.B. ....	1503, 1676
Ferreira, R.G. ....	1590
Ferriani, A.P. ....	1315, 1316
Ferronato, A. ....	1608
Ferronato, M.L. ....	1465
Ferronato, S.D. ....	1608
Fick T. ....	1081
Figueiredo, M.A. ....	553, 561, 565, 622, 630, 634, 763, 773, 857, 873, 877, 880, 932, 1515, 1523
Filho, J. ....	1603
Finger F.L. ....	1804, 1805, 1806
Finger, F.L. ....	103, 140, 141, 142
Fior, C.S. ....	1259
Fioravati, C.D. ....	1291
Floh E.I.S. ....	6
Floh, E.I.S. ....	5, 12
Fogaça, L.A. ....	294, 1598, 1465
Fonseca A.S. ....	1440
Fonseca, A.S. ....	596, 599
Fonseca, J. ....	1688, 1689
Fontes, A. A. ....	1813
Fontes, Z.D.A.G. ....	1066, 1070
Fontoura, T. ....	88
França, A.C. ....	1074, 1281
Franco, E.T.H. ....	1165
Frateschi, C.S. ....	1320, 1332, 1589
Frazão, J.E.M. ....	1689
Freire, K.C.S. ....	715, 829, 931, 1049, 1251, 1513
Freitas Neto, O.G. ....	1533
Freitas, Á.D.L. ....	600, 642
Freitas, A.L.B.F. ....	252
Freitas, J.C.O. ....	173, 174, 220, 221, 343, 347
Freitas, T.T. ....	1590
Fukuju E. Y. ....	1470
Fuzitani, E.J. ....	1795

G

Galdiano Júnior, R.F. ....	612, 682, 1675
Gallão, M.I. ....	140, 141, 142
Garcia F.R. ....	643
Garcia, C.S.G. ....	129
Garcia, J. ....	1503
Garcia, V.A. ....	1795
Gato, A.M.G. ....	405, 583
Gláucia .M. ....	111, 115, 119



A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Gomes F.M.	1112
Gomes, A.C.	902
Gomes, E.S.	612, 682
Gomes, G.P.	729
Gomes, I.A.	16, 21
Gomes, L.R.	1089
Gomes, M.M.A	1135
Gonçalves Júnior M.	1378
Gonçalves, A.N.	14
Gonçalves, F.S.	20
Gonçalves, L.M.	351, 758, 780
Gonçalves, N.P.	1192
Gonçalves, R.M.	1288
Gondim R.S.	1739, 1743
Gonzalez, M.	1425, 1429
Gracielle F.K.	1365
Grando M.F.	58, 305, 1031, 1254
Grando, M.F.S.B.	58
Grison, T.P	1254
Grossi, F.	978, 982
Grossi, J.A.S.	57, 103, 163, 210, 1693, 1747, 1748, 1749, 1765, 1794, 1803, 1813
Guedes, R.	837, 845
Guedes, R.S.	519, 811, 841, 888
Guerra M.P.	448, 449, 450, 620, 652, 716, 725
Guerrero, A.C.	1292, 1718
Guilherme, F.A.G.	1333
Guimarães, A.A.	140, 141, 142
Guimarães, B.V.C.	1821
Guimarães, N.N.R.	1569
Guimarães, R.J.	435
Guimarães, W.N.R.	136, 317, 321
Guisso-Navarini A.P.	1504

H

Hafle O.	1273, 1277
Hansel, F.A.	978, 982, 1104
Hata, F.T.	1062
Heberle M.	1081
Helen C.A.R.	484, 496, 501
Helena S.	1795
Helna C.	1136
Hernandez, F.F.F.	1730
Hirooka, S.	1603, 1604, 1608,
Hodecker, T.P.	970
Holderbaum, D.F.	716
Honório, S.L.	1810, 1811, 1812
Horbach M.A.	1081
Horbach, M.A.	1173

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Houullo-Kido, L.M. ....	1, 26, 36, 78, 540, 601, 673
Hulshof, T .....	106

I

Iha, L.L. ....	1320, 1332, 1512, 1672
Iseppon, C. ....	1108

J

Jacomel Júnior, N. ....	716
João T.M. ....	1693, 1799
Junqueira, K.P. 334, 337, 340, 1365, 1369	
Junqueira, N.T.V. 334, 337, 340, 1365, 1369	

K

Kabbach, L.G.A. ....	1417
Karsburg, I.V. ....	502
Koehler, H.S. ....	11
Kramer D.P.S. ....	1457, 1460, 1527

L

Lacerda, G.A. ....	299
Lameira O.A. ....	892, 895, 903, 908, 913
Lana, L.D .....	1680
Landgraf, P.R.C. ....	1298, 1303, 1359, 1477, 1483, 1484, 1486, 1487, 1488
Lani, E.R.G. ....	970
Laschi, D .....	99, 106, 1470, 1648
Lattuada, D.S. ....	1259
Laureen M. ....	1, 36
Leal L. ....	1471, 1472, 1493,
Leão, G.M.O. ....	1383
Lédo, A.S. . . .715, 829, 931, 960, 969, 1036, 1037, 1049, 1129, 1251, 1258, 1502, 1513	
Ledo, C.A.S. ....	488, 657, 829, 931, 1003, 1750
Leite, F.G.S. ....	1190
Leite, N.S. ....	1037, 1129, 1258
Leme, J.M. ....	1810, 1811, 1812
Lemos, E.G.M. ....	612, 682, 1675
Lemos, E.P. ....	150, 197
Lessa M.A. ....	1714
Lima A.M.L.P. ....	93, 94, 1323
Lima Neto, V.C. ....	1465
Lima S.S. de .....	898

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Lima, A.F. ....	1688
Lima, A.V.R. ....	1416, 1739, 1743
Lima, B.H. ....	1104
Lima, C.A. ....	340, 1365
Lima, C.O.C. ....	574, 575, 579, 792, 1023
Lima, D.M. ....	1465, 1598
Lima, G.V.M. ....	1653
LIMA, J.A. ....	244, 1206, 1207
Lima, J.D. ....	128, 1795
Lima, M.M. ....	927
Lima, M.S. ....	1079
Lima, R.E. ....	189, 236, 1196
LIMA, S.C. ....	1206, 1207, 1310
Lima, Y.O.U. ....	907, 1173, 1181, 1598
Lima-Brito, A. ....	1023, 1094, 1099, 1112, 1119, 1144, 1160
Lino L.S.M. ....	1028
Lino, L.O. ....	570, 1086, 1208, 1216, 1489, 1497
Locarno M. ....	584
Loges V. ....	62, 66, 70, 136, 321, 317, 1625, 1626, 1627
Lombelo A. ....	941
Lone, A.B. ....	1770, 1774, 1782, 1790
Lopes L.S. ....	1355
Lopes, E.A.G.L. ....	477
Lopes, L.L.F. ....	304
Luginbuhl, Y. ....	1337, 1342, 1346
Luz, J.M.Q. ....	570, 1086, 1208, 1212, 1216
Luz, M.A. ....	1718
Luz, P.B. ....	1403, 1407, 1412, 1425, 1429, 1448, 1456, 1589
Lyra, C.S. ....	557, 1140, 1153, 1169, 1177, 1182, 1200

M

Macagnan, D. ....	189, 236
Macedo C.E.C. ....	16, 21, 295
Macedo, A.F. ....	6
Macedo, C.E.C. ....	7, 21, 49, 53, 164, 167, 211, 214, 262, 266, 304, 686, 865, 869, 1008
Machado Neto N.B. ....	1395
Machado, C.A. ....	715, 1049, 1251, 1513
Machado, I.S. ....	375, 902, 1529, 1817
Machado, M.A. ....	1287
Machado, M.C. ....	243
Machado, M.F.P.S. ....	351, 758, 1062
Machado, M.R. ....	193, 240, 1374
Machado, P.R. ....	146
Machado, R.P. ....	1754, 1757
Maciel , G.M. ....	584
Maciel, S.A. ....	837, 845, 849, 884, 888
Madeira, R. ....	1786
Magalhães Jr., J.L.P. ....	1545

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Maia Neto, A.A. ....	1730
Maia, M.M.D. ....	26, 36, 78
Manço, G. ....	415, 439
Manfio, E.C. ....	545, 549, 605
Mapeli, A.M. ....	1804, 1805, 1806
Marani L.M. ....	1384
Marchiori C.R. ....	1321, 1322
Marcolino, K.G. ....	1558, 1640
Marconi, A.P. ....	1577
Marcuz, F.S. ....	1062
Mariano F.A.C. ....	1464
Mariath, J.E.A. ....	309, 313
Marinho L.P.S. ....	49
Marinho, C.S ....	1135
Marinho, P. ....	53
Marques Jr. J. ....	1074 , 1281
Marques, D.A. ....	596, 599
Marques, K.C. ....	13, 15
Marques, M.T.F. ....	7, 16, 21
Marques, N.P. ....	1489, 1497
Marques, P. ....	1503
Marques, V.B. ....	84
Martini, A. ....	1493
Martinotto, C. ....	31, 481, 511, 820, 824, 861, 974, 1074, 1114, 1131, 1281, 1523
Martins, L.S. ....	710
Martins, P.L. ....	173, 174, 220, 221
Masetto, T.E. ....	974, 1131, 1433
Mateus, C.M.D. ....	20, 1321, 1322
Matiello, C.P.G. ....	1765, 1803
Matiello, H.N. ....	103, 1765, 1803
Matos, A.M. ....	1070, 1090
Matos, M.R. ....	132
Matsumoto, k. ....	281, 587
Matsumoto, S.N. ....	1821
Matthes, L.A.F. ....	115, 119
Mattos L.A. ....	1243
May , A. ....	115, 119
Medeiros, C.D. ....	1383
Medeiros, E.C. ....	451
Medeiros, L.N. ....	164, 211, 262, 266, 295
Meira, P.R. ....	1136
Mello E.T. de ....	1374, 1612, 1616
Melo, G.B. ....	570
Melo, G.M. ....	455, 469, 922, 1157, 1653
Melo, M.B. ....	960
Melo, N.F. ....	360
Melo, Y.L ....	49, 53, 1008
Mendonça, E.G. ....	299
Menezes, A.C.P. ....	82, 1573
Mengai B. ....	1470

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Menossi, M. ....	256
Meredith S. ....	58
Mesquita, E.R. ....	163, 210, 1765, 1794, 1813
Michel, A. ....	588
Michelini, J. ....	1817
Mielke, E.C. ....	1297
Milaneze-Gutierre, M.A. ....	351, 758, 780
Miranda R.M. ....	1378
Miyata, L.Y. ....	427, 746, 961, 965, 1050
Modenese-Gorla S. ....	1795
Moema A.C.R. ....	419, 431
Moema M.J.S.M. ....	419, 423, 431, 643
Monfort, L.E.F. ....	892
Montarroyos V. ....	36
Montarroyos, P.A.V. ....	26, 78
Monte Santo, J. S. ....	82, 1573
Monte, D.C. ....	281
Montoro, G.R. ....	1620
Moraes, C. ....	1316
Moraes, E.T. ....	159, 179, 206, 226, 1710
Moraes, M. ....	1675
Moraes, W.S. ....	128
Morais Lino, L.S. ....	488, 1230, 1239, 1750
Morais O.M. ....	1355
Morais, A.T. ....	1073
Morais, D.S.C. ....	49, 164, 211
Morais, J.P.S. ....	13, 15
Morais-Lino, L.S. ....	270, 1226
Moreira E.R. ....	1464
Moreira, C.V. ....	515, 523, 648, 665, 941, 1082
Moritz, A. ....	1104
Moro, F.V. ....	1456, 1589
Mosca, J. L. ....	104, 105, 140, 141, 142, 143, 144, 145
Mosyleide F.R. ....	1416
Mota, P.R.D. ....	1636, 1643, 1647, 1648, 1652, 1664, 1668, 1718
Motoike, S.Y. ....	545, 549
Moura, E.F. ....	545, 549, 605
Moura, S.M. ....	142, 143, 144, 145
Mozena L.W. ....	1657, 1660
Muniz, M.A. ....	57, 1549
Myiata, L.Y. ....	401

N

Nachtigall, A.M. ....	1302
Nagao, E.O. ....	811
Nascimento M.C.A. ....	652
Nascimento, E.P. ....	396, 397
Nascimento, M.G.A. ....	986
Natal C.M. ....	1493

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Nepomuceno, C.F. ....	1099, 1119, 1144, 1149, 1160
Neto, J. ....	1205
Neves, J.A.L. ....	1120
Nicoli, P.M. ....	853, 861, 927, 1384
Nienow, A.A. ....	1550
Nietche, S. ....	1192
Nilton M. ....	1254
Nogueira do N.S.M. ....	167, 214
Nogueira, D.A. ....	1306, 1311
Nogueira, G.F. ....	299, 553, 754, 776, 784, 788, 938, 1041, 1045, 1054, 1244, 1508
Nogueira, R.C. ....	665, 927, 952, 1045, 1054, 1082
Nogueira, T.C.P. ....	1640
Nomura, E.S. ....	128, 1795
Norma E.P. ....	1808
Novais, R.F. ....	159, 179, 206, 226, 1680, 1684, 1697, 1710
Nunes, C.F. ....	406, 796, 799, 1015, 1263, 1268
Nunes, E.C. ....	1478, 1778
Nunes, E.P. ....	84

O

Oliveira F.V. ....	506, 528, 532, 592, 770
Oliveira G.C. ....	1808
Oliveira J.A.G. ....	1457, 1460
Oliveira Junior, C.J.F. ....	1727, 1728, 1729
Oliveira Júnior, J.P. ....	1657
Oliveira Júnior, V.F. ....	1594
Oliveira K.P.G. ....	170, 217
Oliveira L.M. ....	998, 1457, 1460, 1464
Oliveira M.C. ....	1807
Oliveira, A.B. ....	396, 397
Oliveira, Á.S. ....	1079
Oliveira, A.C.L. ....	506, 528, 532, 592, 770
Oliveira, A.M.S. ....	770
Oliveira, C.M. ....	62, 70, 136
Oliveira, C. ....	1057
Oliveira, D.L. ....	1534
Oliveira, D.M. ....	1594
Oliveira, E.B.L. ....	884
Oliveira, F.J.V. ....	1120
Oliveira, I.R. ....	969
Oliveira, J.A.G. ....	1527
Oliveira, J.F. ....	865, 869
Oliveira, J.P. de ....	841, 884
Oliveira, K.P.G. ....	1821
Oliveira, L.F.M. ....	931, 1049, 1502, 1513
Oliveira, L.M. ....	443, 473, 477
Oliveira, M.A.R. ....	605
Oliveira, M.G. ....	256

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Oliveira, N.P. ....	1688, 1689
Oliveira, S.A. ....	414, 1590, 1594, 1676, 1722
Oliveira, W.C. ....	1205, 1288
Oliver, C.F. ....	1315
Ortiz, C.E.R. ....	1604
Otoni W. C. ....	1235

P

Pacheco, R.A. ....	414
Padilha, L. ....	435
Padovani, J.M. ....	754
Padovanni, N. ....	750
Paiva, L. ....	1244
Paiva, L.V. ....	299
Paiva, P.D.O. ....	129, 175, 222, 257, 277, 299, 398, 853, 857, 932, .935, 938, 941, 952, 1012, 1041, 1045, 1054, 1082, 1298, .1303, 1306, 1311, 1337, 1342, 1346, 1359, 1361, 1397, 1400, .1538, 1542, 1688, 1689, 1696, 1714, 1807
Paiva, R.; ....	31, 150, 197, 299, 398, 473, 477, 481, 511, 515, .523, 553, 561, 565, 622, 630, 634, 648, 665, 706, .754, 763, 767, 773, 776, 1012, 784, 788, 820, 824, .853, 857, 861, 873, 877, 880, 927, 932, 935, 938, 941, .952, 974, 998, 1041, 1045, 1054, 1074, 1082, 1114, 1131, .1244, 1281, 1384, 1397, 1400, 1435, 1508, 1515, 1523, .1538, 1542, 1714
Paixão-Santos, J. ....	443
Pasqual M. ....	362, 383, 406, 584, 746, 796, 799, 944, 1050, 1057, .1066, 1070, 1090, 1124, 1145, 1244, 1263, 1268, 1273, 1277, .1466, 1519, 367, 371, 387, 391, 401, 427, 608, 638, 721, 738, 742, .803, 807, 833, 948, 961, 965,
Passinho-Soares, H.C ....	1136
Paula, J.W.A. ....	532
Paula, M.M. ....	1327
Paula, R.C. ....	1456
Paulino, P.M.S. ....	415, 439, 455, 469, 922, 1157, 1653
Paz, C.D. ....	82, 1573
Pedrinho, D.R. ....	1452
Pedro A. ....	36
Peixoto V.D. ....	754, 776, 784, 788, 824, 938, 1131 , 1508
Peixoto, D.V. ....	927
Peixoto, J.R. ....	334
Pelacani, C.R. ....	1112
Pellegrini M.B.Q. ....	1577, 1809
Penariol, A. P. ....	1425, 1429, 1448, 1452
Pereira L.K. ....	321
Pereira N.S. ....	1739, 1743
Pereira R.C. ....	1485
Pereira T.O. ....	1457, 1460

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Pereira, E.C. ....	.865, 869
Pereira, E.G.J. ....	.154, 201
Pereira, F.D. ....	.443, 484, 496, 501, 998
Pereira, G. ....	.1089
Pereira, G.L. ....	.111
Pereira, G.S. ....	.257, 277
Pereira, J.E.S. ....	.45, 519, 746, 803, 811, 845, 849, 884, 888, .961, 965, 1050, 1057, 1090, 1145
Pereira, L.B. ....	.1291, 1558
Pereira, M.B.M. ....	.299
Pereira, M.C.T. ....	.1192
Pereira, N.E. ....	.347
Pereira, O.L. ....	.163, 210
Pereira, T.O. ....	.1527
Pessoa M.N.G. ....	.104, 105
Petry, C. ....	.1550 , 1554
Picoli, P.R.F. ; ....	.1289
Pillegi, M. ....	.907
Pimenta, R.S. ....	.1403, 1407, 1412, 1448, 1452, 1456, 1589
Pimentel R.M.M. ....	.66
Pinheiro M.V.M. ....	.380, 381
Pinto C.M.F. ....	.1804, 1805, 1806
Pinto J.E.B.P. ....	.484, 492, 496, 501, 1235, 1379
Pinto, C.M.D. ....	.1079
Pinto, J.E.B.P. ....	.1015
Pinto, S.A. ....	.132, 1693 , 1701, 1705 , 1799
Pio L.A.S. ....	.738, 1145, 1273, 1277
Pires, L.L. ....	.95, 146, 193, 240, 243, 1374, 1612, 1616
Pires, N.C.C. ....	.106
Pivetta, K.F.L. ....	.20, 1320, 1321, 1322, 1332, 1403, 1407, 1412, .1421, 1425, 1429, 1444, 1448, 1452, 1456, 1512, 1589, .1621, 1628, 1632, 1672, 1761, 1786
Pizetta, P.U.C. ....	.1421
Porto M.L. ....	.1080
Porto P.C. ....	.170, 217
Porto, B.H.C. ....	.85, 1388, 1392
Porto, J.S. ....	.1079
Porto, J.M.P. ....	.553, 561, 565, 634, 767, 853, 857, 861, 1041, 1045, 1523
Power, J.B. ....	.1514
Praça, M.M.; ....	.1272
Prazeres, J.N. ....	.136
Prestes C.G. ....	.1574
Prizão-Resende, E.C. ....	.351, 758
Pujals, A. ....	.780



Q

Queiroz, S.R.O.D. ....	.557, 1140, 1153, 1169, 1177, 1182, 1200
Quisen, R.C. ....	.907, 1181
Quoirin, M. ....	.907, 1165, 1173, 1181, 1465, 1598

R

Rabelo, A.L. ....	.600, 642
Ramos J.D. ....	.1273, 1277
Ramos, R.S. ....	.159, 206
Ramos, T.V. ....	.412, 413, 414, 1722
Rangel, M.S.A ....	.1513
Rebeiro Junior G.E. ....	.1273, 1277
Rebouças F.S. ....	.617, 677, 690, 698, 702
Rech, J. ....	.1554
Rêgo, E.R ....	.330, 1120, 1581
Rêgo, M.M. ....	.330, 1120, 1581
Reis É.S. ....	.1235
Reis I. N.R.S. ....	.903, 908, 913
Reis, É.S. ....	.492 , 1015, 1379
Reis, I.N.R.S. ....	.895
Reis, J.M.R. ....	.1534
Reis, J.R.M. ....	.88, 89
Reis, S.N. ....	.84, 175, 222
Rescarolli C.L.S. ....	.993, 1035, 1113
Resende L.V. ....	.317
Resende M.L. ....	.1714
Resende R.K.S. ....	.998
Resende, M.L. ....	.1696, 1807
Resende, S.V. ....	.1094, 1099, 1112, 1119
Resende, V.A. ; ....	.1684
Retuci V.S. ....	.183, 230
Rezende F.P. ....	.95
Rezende, F.L. ....	.600, 642, 1019
Rezende, R.K.S. ....	.941, 1244, 1515
Ribeiral, R.A. ....	.1079
Ribeiro Júnior, J.I. ....	.103, 1803
Ribeiro R.C. ....	.570, 1086
Ribeiro, A.P. ....	.1417, 1434
Ribeiro, C.A.G. ....	.1089
Ribeiro, I.G. ....	.459
Ribeiro, J.E.L.S. ....	.83
Ribeiro, J.M. ....	.356, 360
Ribeiro, M.N.O. ....	.608, 833, 1519
Ribeiro, R.J. ....	.725
Rios, A.P.S. ....	.557, 1140, 1153, 1169, 1177, 1182, 1200
Ritter, M. ....	.1598
Rivas, R. ....	.1, 26, 36, 78, 540, 601, 673

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Robles, R.C.	115, 119
Rocha R.J.	1749
Rocha, A.C.,	423
Rodrigues P.H.V.	93, 94, 405, 583, 686
Rodrigues, D.S.	1795
Rodrigues, D.T.	159, 179, 206, 226, 816, 1680, 1684, 1697, 1710, 1813
Rodrigues, E.M.	1594
Rodrigues, F.A.	387, 391, 721, 742, 746, 1066, 1070, 1090, 1124
Rodrigues, I.A.G.	686
Rodrigues, J.D.	638.721
Rodrigues, L.R.	309, 313, 1259
Rodrigues, M.	481, 820, 824, 853, 935, 952, 1074, 1114, 1281, 1515, 1523
Rodrigues, M.A.	1186
Rodrigues, P.H.V.	361
Rodrigues, T.M.	570, 1086, 1216
Rosa T.P.	1484
Rosa, C.S.	1321, 1322
ROSA, J.Q.S.	1660
Rosa, T.P.	1477, 1483, 1486, 1487, 1488
Rosado L.D.S.	484, 492, 496, 501, 1379, 1015
Rovaris, S.R.S.	733, 918, 1790
Roza, F.A.	343, 347
Rubim, M.	57
Rubio Neto, A.	189, 186, 233, 236, 1186, 1196

S

Sá, A.F.	464
Sá, P.G.	1549
Sakagawa, S.	83
Saldanha, A.L.M.	892
Sales, J.F.	186, 233, 1190
Salgado, K.C.P.C.	257, 277
Salles, N.S.C.	1561
Salvador, E.D.	129
Samantha O.	621
Samartini, C.Q.	1705, 1701
Sampaio P.T.B.	1440
Sanches, L.V.C.	99, 106, 1647, 1652, 1718
Sano, S.M.	1365, 1369
Santa-Catarina, C.	5, 12
Santana M.V.	170, 217
Santana, C.V.S.	1573
Santana, J.G.	186, 189, 233, 236, 1186, 1196
Santana, J.R.F.	488, 557, 574, 575, 579, 792, 1023, 1094, 1099, 1112, 1119, 1136, 1140, 1144, 1149, 1153, 1160, 1169, 1177, 1182, 1200, 1230, 1239, 1750
Santana, J.R.F.	998
Santana, M.C.	1247, 1501

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Santana, M.C.S. ....	960, 969
Santana, P.N. ....	243
Santana, T.F. ....	780
Santana, T.H.B. ....	506
Santos A. ....	170, 217
Santos F.C. ....	944
Santos O.M.N. ....	274, 1128, 1585
Santos P.R.P. ....	170, 217
Santos, A.B. ....	536
Santos, A.M. ....	803, 961, 965, 1050, 1066, 1145, 1263, 1268, 742
Santos, A.V. ....	694, 1248
Santos, B.R.S. ....	1074, 1114, 1131
Santos, D.N. ....	383, 803, 1263, 1268
Santos, D.S. ....	146
Santos, E.A. ....	347
Santos, E.C. ....	1465
Santos, E.C. ....	334
Santos, E.R. ....	1247, 1501
Santos, F.A. ....	1287
Santos, G.L.A.A. ....	132, 1693, 1701, 1705, 1799
Santos, J. ....	600, 642
Santos, J.B. ....	1205
Santos, J.C.S. ....	608, 721, 807, 833
Santos, J.G. ....	1321, 1322, 1444, 1621, 1628, 1632, 1761, 1786
Santos, J.M. ....	173, 174, 220, 221, 612
Santos, M. ....	45
Santos, M.A.C. ....	82, 1573
Santos, M.C. ....	1036, 1037, 1129, 1258
Santos, M.D.M. ....	990, 992, 1130, 1533
Santos, M.T. ....	657, 991, 1003
Santos, N.T. ....	1747, 1748, 1749, 1794
Santos, P.A.A. ....	1247, 1501
Santos, P.P.R. ....	1821
Santos-Serejo J.A. ....	274, 282, 286, 290, 325, 644, 653, 662, 1028, 1239, 1350
São José, A.R. ....	1821
Sara, J.G. ....	193, 240, 1374
Sato, A ....	35, 669, 898
Scareli-Santos, C. ....	41
Scherwinski-Pereira, J.E. ....	837, 841
Schillo, R. ....	1550
Schirley F.N.S.C.A. ....	1342
Schmitz, G. ....	884
Schnitzer, J. A. ....	729, 734, 750
Schwarz S. F. ....	1504, 1574
Scortecci, K.C. ....	304
Segatto F.B. ....	1804, 1805, 1806
Segeren M.I. ....	305, 596, 599, 1220, 1440
Seixas, A.A.G ....	1693
Semen W. L. ....	710
Sezerino E.B. ....	448, 449, 450

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Shaw, J.M.H. . . . .	1514
Sherlock E.M. . . . .	569
Shiozaki, E. . . . .	1697
Shishido, S.M. . . . .	256
Silva ,L.C. . . . .	31
SILVA C.D.S. . . . .	1247
Silva E.A. . . . .	944, 1433
Silva Filho, D.F. . . . .	1323
Silva H. . . . .	948
Silva J.F.G. . . . .	1378
Silva Junior, E.F. . . . .	1594
Silva Junior, J.F. . . . .	715, 829, 1502
Silva Júnior, J.M. . . . .	31, 150, 197, 511, 515, 706, 820, 824, 861, 974, 1041, 1082
Silva Júnior, M.C. . . . .	1620
Silva M.J. . . . .	991
Silva Neto, S.P. . . . .	600, 642
Silva R.A . . . . .	845
Silva R.P. . . . .	690, 698
Silva S. . . . .	898
Silva S.O. . . . .	282, 286, 325, 653, 662, 1350
Silva T.M.R. . . . .	1035
Silva V. F. . . . .	584
Silva, A.B. . . . .	62, 70, 409, 410, 411, 1735, 1736, 1737, 1738
Silva, A.L.L. . . . .	1165, 1173
Silva, A.L.P. . . . .	401, 608, 721, 807, 833
Silva, A.S. . . . .	1208, 1216
Silva, A.T. . . . .	1306 , 1311, 1361
Silva, C.D.S . . . . .	1501
Silva, C.G. . . . .	1514
Silva, C.M. . . . .	1062
Silva, C.M.M. . . . .	1108
Silva, D.C. . . . .	347
Silva, D.G.P. . . . .	334, 1369
Silva, D.J.H. . . . .	1545
Silva, D.P.C. . . . .	511, 515, 561, 565, 630, 634, 754, 773, 853, 857, 861, 873, 877, 932, 935, 938, 941, 952, 1041, 1045, 1054, 1082, 1508, 1515
Silva, E.B. . . . .	1120
Silva, E.J. . . . .	626
Silva, F.G. . . . .	186, 189, 233, 236, 1186, 1190, 1196
Silva, G.L. . . . .	729
Silva, I.C. . . . .	15
Silva, J.A.S. . . . .	409, 1735, 1736
Silva, J.M.M.L. . . . .	1612
Silva, J.R.A. . . . .	1657
Silva, K.K.A. . . . .	82
Silva, K.O. . . . .	244, 248, 252, 1206, 1207, 1310
Silva, K.S. . . . .	1, 26, 36, 78 , 540, 601, 673
Silva, L.C. . . . .	146, 150, 197, 511, 515, 523, 553, 648, 665, 706, 763, 857, 952, 974, 1114

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Silva, L.F. ....	1323, 1754, 1757
Silva, L.F.C. ....	1287
Silva, L.R. da ....	123
Silva, M.G.C.P.C. ....	1079
Silva, N.F. ....	1565, 1569, 1723
Silva, P.A. ....	1019
Silva, P.K. ....	330
Silva, R.M. ....	1019
Silva, S.M. ....	123
Silva, S.O. ....	290, 1239
Silva, T.G. ....	1289
Silva, T.L. ....	837
Silva, T.S. ....	1144, 1149, 1160
Silva; J.M.M.L. ....	1616
Silveira, A. ....	173, 174, 220, 221
Silveira, D.G. ....	270, 488, 1230, 1239, 1750
Silveira, V. ....	5, 6, 12
Silverio L. ....	183, 230
Simões, C. ....	464
Siqueira, S.C.A. ....	1036
Soami F.C.D. ....	1220, 1440
Soares D.J. ....	104
Soares Filho, W.S. ....	270
Soares Júnior, M., ....	1660
Soares T.L. ....	282, 286, 510, 653, 662, 1350
Soares, Â.M. ....	523, 648, 665
Soares, F.P. ....	561, 754, 763, 767, 773, 820, 873, 877, 880, 1508
Soares, J.D.R. ....	1124
Soares, J.V. ....	35
Soares, T.L. ....	290
Soares-Scott, M.D. ....	337
Sorace, M. ....	729, 734, 750
Soriano, L. ....	375, 902, 1529, 1817
Sóter, M.O. ....	1384
Sousa C.M. ....	1378
Sousa, A.B.O. ....	13, 143, 144, 145
Sousa, D.M.M. ....	74, 1581
Sousa, E.M. ....	1206, 1207, 1310
Sousa, J.A. ....	960, 969
South L. ....	1817
Souto, E.R. ....	1062
Souto, N.F.C. ....	415, 439, 469, 922, 1157
Souza É.R. ....	419, 431
Souza E.H. ....	282, 286, 325, 510, 644, 653, 662, 1028, 1128, 1350, 1585
Souza E.S. ....	702
Souza F.D.V. ....	274, 325, 510, 653, 662, 1028, 1128, 1243, 1350, 1585
Souza P.V.D. ....	1504, 1574
Souza R.R. ....	484, 496, 501
Souza, A.B.O. ....	140
Souza, A.C. ....	565, 622, 932

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Souza, A.G. ....	.833, 1124
Souza, A.S. ....	.270, 282, 286, 290, 991, 1226, 1230
Souza, D.L.M. ....	.600, 642
Souza, E.H. ....	.290
Souza, E.R.B. ....	.1657, 1660
Souza, E.S. ....	.617, 626, 677
Souza, F.V.D. ....	.488, 657, 991, 1003, 1230, 1750
Souza, H.D. ....	.763, 773, 1131
Souza, J.C. ....	.82, 1113, 1573
Souza, K.C.A. ....	.85, 1388, 1392
Souza, L.M. ....	.1061
Souza, L.S. ....	.337
Souza, M.M. ....	.347, 173, 174, 220, 221, 343, 1247, 1373, 1501,
Souza, N.A.D. ....	.128
Souza, P.E. ....	.175, 222
Souza, R.M. ....	.175, 222
Souza, R.R. ....	.1037, 1129, 1258
Souza, R.T.G. ....	.1019
Souza, S.E. ....	.170, 217
Souza, T.P. ....	.170, 217
Spier M. ....	.1504, 1574
Stein, V.C. ....	.473, 477, 481, 776, 788, 820, 873, 877, 880, 1012, 1054, 1538
Steinmacher D.A. ....	.652
Stringheta, Â.C.O. ....	.1360, 1545, 1302
Stringheta, B.O. ....	.1360
Stringheta, P.C. ....	.1302
Stuker H. ....	.448, 449, 450
Sturião, W.P. ....	.1477, 1483, 1486, 1487, 1488
Suassuna, T.M.F. ....	.330
Suzin M. ....	.588. 1031

T

Tábata E. J. ....	.193, 240, 1374
Taina S.M. ....	.620
Taís T.G. ....	.1577, 1809
Takahashi, L.S.A. ....	.729, 734, 1770, 1774
Takeda, A.O. ....	.1590
Tales A.A. ....	.584
Tavares F.P. ....	.1144, 1149, 1160
Tavares T.S. ....	.1306, 1311
Tavares, F.F. ....	.1248
Tavares, T.S. ....	.1361
Teixeira J.B. ....	.281, 380, 381, 382, 435, 587
Teixeira R.A. ....	.193, 240
Teixeira R.N. ....	.484, 496, 501
Teixeira S.L. ....	.356
Teles, H.F. ....	.1612 , 1616
Teramoto, A. ....	.243

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Terashima, M. ....	128
Termignoni, R.R. ....	1080, 1286
Terra, L.O.Á. ....	410, 411, 409, 1736
Togoro, A.H. ....	1735, 1736, 1738
Tomaz, D.R. ....	1701, 1705
Tomazini, M. ....	1594
Tombolato, A.F.C. ....	294
Torres, A. C. ; ....	990, 992, 1130, 1533
Toyota, M. ....	150, 197, 706
Tsuji, S. ....	57

U

Uchôa, A. F. ....	21
Ulisses, C. ....	415, 439, 455, 469, 922, 1157, 1653
Unemoto, L.K. ....	733, 918, 1770, 1774, 1782, 1790

V

Valente, M.S. ....	545, 549
Valle F.J.R. ....	1297
Van Den Berg, E. ....	89
Vanin, J. ....	1554
Vasconcelos Filho, S.C. ....	1190
Vasconcelos, J.M. ....	189, 236, 1190
Vaz A.B. ....	170, 217
Vaz, C.F. ....	340
Vaz, S.R. ....	1590
Velame, M.P. ....	1094, 1119
Venegas, V.H.A. ....	1545
Vera, R. ....	1660, 1657
Verona, A.L. ....	136, 321
Vespoli, L.S. ....	1089
Viana, A.J.C. ....	343
Viana, A.M. ....	45
Viana, A.P. ....	347
Vicente, M.A.A. ....	617, 626, 986
Vicentin, A. ....	1220, 1440
Vidal, Á.M. ....	1226
Viegas M.S. ....	1212
Viegas M.R. ....	1212
Viegas, P.R.A. ....	1037
Vieira C.F. ....	382
Vieira, F.G.N. ....	729
Vieira, G.M. ....	1660
Vieira, G.S.S. ....	1251
Vieira, J.G.Z. ....	918
Vieira, J.M. ....	1192

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z

Vieira, M.R. ....	154, 201
Vieira, R.A. ....	1062
Vieira, R.L. ....	376
Vilas Boas, R.L. ....	20
Vilela, X.M.S. ....	401, 638, 807, 833, 1124, 1466, 1519
Villa, F. ....	401, 608, 638, 721, 738, 807, 833, 1124, 1466, 1519
Villanova, A.C.C. ....	340
Villas Bôas, R.L. ....	1636, 1643, 1647, 1648, 1652, 1664, 1668, 1718
Vitor, S.M.M. ....	784, 880
Vitória, A.P. ....	1094, 1099, 1119
Volpe-Filik, A. ....	1323
Von Pinho, É.V.R. ....	257, 277

W

Walter, J.M. ....	1165
Weber, R.L.M. ....	1080
Wegher, F.N. ....	1550
Weliton A.B.A. ....	431, 690, 698, 702
Wendling, I. ....	978, 982, 1472
Willadino, L. ....	62, 66, 70, 415, 439, 451, 455, 469, 922, 1157, 1625, 1626, 1627, 1653
Wolfgang H. ....	621

X

Xavier, A. ....	970
Ximenes, F.A. ....	186, 189, 233, 236, 1186, 1196

Y

Yamakami, J.K. ....	918
Yamamoto, L.Y. ....	734, 1770, 1774, 1782
Yumbla, M.O. ....	1549

Z

Zaffari G.R. ....	448, 449, 450, 993, 1035, 1113
Zaidan, H.A. ....	1079
Zamparetti, M.G. ....	1478
Zanotto, M.D. ....	1529
Zartman, C.E. ....	83
Zenaide M.F. ....	1079
Zuffellato-Ribas, K.C. ....	11
Zuin A.H.L. ....	132, 1693, 1701, 1705, 1747, 1748, 1749, 1794, 1799
Zullo, M.A.T. ....	1135
Zunete M. ....	1761



## Índice de Palavras-Chave

1-MCP (1-metilciclopropeno);	.103
2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético),	.248
2,4-D	.451, 473, 477, 481, 824, 877, 903, 908, 970, 1012
2IP (2-isopenteniladenina).	.248
6- benzilaminopurina;	.415, 439

### A

Abacaxizeiro;	.1129, 1738
Acalifa,	.1460
Acanthostachys strobilacea;	.1089
Acca sellowiana ,	.620
Ácido 2,4-diclorofenilacético.	.690
Ácido abscísico.	.12
Acido giberélico	.99, 398, 415, 643, 784, 792, 944, 948, 1400
Ácido indolbutírico	.1512
Ácido naftalenoacético (ANA);	.982, 1008
Ácido Nicotínico,	.918
Acidoindolbutírico	.1144
Aclimatação,	.1
Aclimatação,	.506, 560, 682, 770, 892, 965, 1177, 1727, 1750, 1807
Aclimatização ex vitro ;	.1165
Acrocomia aculeata ;	.970
Açúcar.	.70, 601
Aditivos.	.351, 758
Adubação Orgânica	.1696, 1799
Adubação	.1647, 1652, 1684, 1705
Adubo de liberação lenta,	.1640
Adubo mineral,	.1680
Adubo orgânico	.1680
Aechmea sp.,	.1128, 1585
AG3,	.913
Agave attenuata;	.448, 449, 450
Agave sisalana Per.,	.560, 1140, 1153, 1169, 1177, 1182, 1200
Agente desinfestante;	.816
Ageratum conyzoides,	.1113
AgNO3.	.1216
Agrobacterium rhizogenes	.1383
Agrobacterium tumefaciens ;	.281
água sanitária;	.587
AIB,	.375, 833, 853, 1081, 1169, 1489, 1497
ajuste osmótico	.21
Alcantarea im perialis;	.725
Alpínia purpurata,	.1743
alterações anatômicas;	.746, 965
alterações estruturais.	.964
altura de planta.	.82

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

amarílis; . . . . .	.20, 1809
Amaryllidaceae; . . . . .	.20
Amazônia, . . . . .	.83, 519
ambiente de cultivo; . . . . .	.371, 648
ambiente ex vitro. . . . .	.1050
Amburana acreana ; . . . . .	.811
amêndoa. . . . .	.1173
amido. . . . .	.62, 449
aminoácido, . . . . .	.738
aminoácidos totais; . . . . .	.448
amoreira-preta, . . . . .	.608, 738
amoxicilina, . . . . .	.150, 197
ANA . . . . .	.375, 515, 734, 750, 853, 861, 902, 938, 1081, 1104, 1538
Anacardiaceae, . . . . .	.1196
Anacardium othonianum Rizz., . . . . .	.1196
análise de crescimento; . . . . .	.1621, 1628, 1632
análogo do fitorregulador . . . . .	.540
Ananas com osus var. erectifolius ; . . . . .	.892
Ananas comosus , . . . . .	.169, 214, 1008, 1135, 1036, 1037
Ananas comosus L.; . . . . .	.1070
Ananas comosus var . bracteatus, . . . . .	.1003
Ananas comosus var . comosus, . . . . .	.510, 1003
Ananas comosus var. . . . .	.657, 1130
Ananas comosus var. ananassoides; . . . . .	.382
Ananas comosus var. bracteatus ; . . . . .	.274, 990, 992
Ananas erectifolius , . . . . .	.375, 496, 501
Ananas erectifolius L.B.Smith; . . . . .	.902, 1817
ananassoides. . . . .	.657
anatomia foliar, . . . . .	.427, 484, 496, 803
anatomia vegetal. . . . .	.362
anatomia, . . . . .	.367, 1057, 1145
androgênese, . . . . .	.313, 309
Annona glabra L., . . . . .	.523, 648, 665
Annonaceae , . . . . .	.998
anteras, . . . . .	.473, 776
Anthurium andraeanum; . . . . .	.380, 1795, 1810, 1811, 1812
antibiótico, . . . . .	.644
antioxidante. . . . .	.459, 816, 1302
antocianinas. . . . .	.1286
Ápice caulinar; . . . . .	.1104
Apocynaceae, . . . . .	.715, 829
Apomixia. . . . .	.305
Arachis, . . . . .	.330
Araucaria angustifolia , . . . . .	.12
Arborização urbana, . . . . .	.1323, 1333
Arborização, . . . . .	.41
Archontophoenix alexandrae , . . . . .	.1429, 1786
Archontophoenix cunninghamii , . . . . .	.1412, 1483
Área de produção; . . . . .	.1303
áreas verdes. . . . .	.1360

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

Arecaceae, . . . . .	.163, 210, 380, 596, 599, 845, 1374, 1689
armazenamento refrigerado. . . . .	.103
armazenamento, . . . . .	.95, 123 , 146, 1561
aspectos bioquímicos. . . . .	.5
Aspilia setosa Griseb., . . . . .	.1472
assepsia, . . . . .	.406, 536, 974, 978, 1035
Assimbiótica; . . . . .	.1653
Asteraceae, . . . . .	.58, 898, 1471
atividade cinética. . . . .	.1817
atropha curcas , . . . . .	.799
autoclave, . . . . .	.356
auxina . . . . .	.304, 397, 412, 763, 837, 849, 873, 1074, 1114, 1466, 1519
Azadirachta indica , . . . . .	.820, 824, 1258, 1515, 1523

**B**

Baccharis myriocephala ; . . . . .	.898
Baccharis trimera , . . . . .	.1080
Bactris gasipaes ; . . . . .	.849
bagaço de cana, . . . . .	.780
baixo custo, . . . . .	.540, 601, 673
bananeira; . . . . .	.1502
BAP (Benzylaminopurina); . . . . .	.600, 642
BAP, . . . . .	.451, 515, 824, 833, 857, 861, 908, 1104, 1435, 1538
Barbatimão; . . . . .	.1384
Bastão do Imperador . . . . .	.128, 996
batata; . . . . .	.1244
benzilamina, . . . . .	.982, 1603
Bignoniaceae . . . . .	.398, 1397, 1400
BIOBRÁS – 16 . . . . .	.1135
biodegradação; . . . . .	.1653
biodiesel . . . . .	.583, 960
bioestimulante; . . . . .	.1529
Biofábrica; . . . . .	.725
biometria. . . . .	.74
biorreguladores. . . . .	.1292
Biotecnologia Florestal; . . . . .	.811
Biotecnologia . . . . .	.6, 409, 451, 677, 1735
B-Nine, . . . . .	.1803
boro, . . . . .	.401
bráctea. . . . .	.66
bracteatus ; . . . . .	.1130
Brassavola flagellaris ; . . . . .	.986
Bromelia sp, . . . . .	.1722
Bromélia terrestre, . . . . .	.1722
Bromélia, . . . . .	.545, 549, 1165, 1545, 1565, 1569, 1723, 1729
Bromeliaceae . . . . .	.88, 93, 375, 382, 431, 488, 574, 575, 579,
. . . . .	.725, 792, 1023, 1230, 1565, 1569, 1585, 1722,
. . . . .	.1723, 1727, 1738, 1750, 1794

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

bromelina;	1817
brotação	.754, 857, 941, 1082, 1378, 1577
brotações.	.515, 763, 1074, 1114, 1538
Brotos adventícios,	.1169
brotos estiolados	.484, 496, 501
brotos	.1153, 1200
bulbo	.20, 1289
Butia eriospatha ,	.652

C

Cactaceae;	.569, 1112, 1365
Cacto;	.569
cactus,	.15
Cadeia produtiva;	.1821
Café,	.435
Caju-de-Árvore-do-Cerrado,	.1196
calagem.	.1710
Calea hispida (DC.) Baker,	.1471
calêndula;	.1302
calogênese in vitro;	.902
calogênese,	.85, 553, 622, 630, 677, 776, 788, 796, 861, 877, .908, 927, 932, 935, 938, 1012, 1131, 1140, 1173, 1208, 1212, 1254, 1258
Calophyllum brasiliense Camb.;	.1558
calos embriogênicos.	.849, 1286
calos friáveis;	.1392
calos,	.473, 477, 702, 820, 824, 903, 960, 1200, 1384
Camptosema grandiflorum ,	.1672
cana-de-açúcar,	.6, 164, 211, 262
Canavalia rosea;	.669
Capsicum spp. ,	.1804, 1805, 1806
características fisiológicas;	.964
caracterização morfológica.	.257
caracterização,	.317, 1374
carboidrato,	.383, 729, 1254, 1625, 1268, 1523
carboidratos não-estruturais solúveis totais;	.14
carboidratos solúveis totais;	.62, 70
carboidratos solúveis;	.449
carboidratos totais não-estruturais;	.62
Carica papaya ;	.1267
Cariocaraceae;	.1281
cariótipo.	.347
carqueja;	.898
carvão ativado.	.653, 1169, 1186
carvão ativado;	.970, 1081, 1310
Caryocar brasiliense ;	.1074, 1114, 1281,
Caryocar brasiliense Camb.,	.189, 236
Caryocar brasiliense subsp. intermedium,	.1369
Caryota mitis;	.1477

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

casa-de-vegetação	1, 1730
casca de arroz carbonizada	1465
Cassia fistula ;	1503
Catharanthus roseus;	1378
Cattleya bicolor LINDL.,	351, 758
Cattleya harrisoniana;	986
Cattleya labiata ;	455
Cattleya labiata x Cattleya granulosa;	1157
Cattleya loddgesii.	721
Cattleya siclieriana;	1035
Cattleya walkeriana ;	612
Cattleya	383, 391, 427, 1675
Cefalexina;	895
Cell Suspension,	256
Celosia plumosa;	1108
Celósia;	82
celulase;	1281
cerejeira ornamental,	1534
Cereus jamacaru ,	15
cerosidade.	1145
Cerrado,	1131, 1327, 1561, 1620, 1722
chá-do-rio,	1383
Chrysanthemum frutescens;	1464
Chrysanthemum x grandiflorum ;	1621, 1628
chuva-de-ouro,	1503
cinetina,	927, 944, 1603
citocinina,	141, 396, 412, 431, 519, 799, 865, 869, 888, 938, 1062, 1074, 1082, 1114, 1504, 1603
citometria de fluxo;	1267, 1272
Citrus latifolia Tanaka,	677
Citrus reshni Hort.	270
Citrus sinensis,	1277
citrus	1287
classificação;	58
clínica fitossanitária	178, 222
clonagem.	982
Cloreto de Sódio(NaCl).	16
clorofilômetro.	1643, 1652
Cnidosculus phyllacanthus;	1120
Cocos nucifera L.,	1253
Codiaeum variegatum (L.);	1527
Codiaeum variegatum;	1417
Coffea arabica ;	1208, 1212, 1216
Coffea canephora ;	451
colchicina;	1272
colheita,	94
coloração,	820
comercialização.	1374
componentes de substratos.	15
comportamento anual,	1757

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

compostos orgânicos;	1070
Condições in vitro e ex vitro;	45
Condutivímetro;	1652
conservação da natureza.	1315
conservação de germoplasma.	1128, 1585
conservação,	35, 88, 146, 652, 991
conservantes	106
contaminação endofítica,	644
contaminação in vitro;	621
contaminação.	587, 895, 974, 1542
Controle Biológico;	154
conversão do ápice radicular	1080
copo-de-leite,	163, 210, 1689
<i>Cordia leucocephala</i> ,	1512
<i>Cordia</i>	1640
<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.;	1464
Costaceae.	415
cotilédones,	824
Crassulaceae,	1714
crescimento in vitro.	575, 792
crescimento lento.	1253
crescimento,	20, 600, 820
crianças e adolescentes,	1315
Crisântemo var. 'Chá Repin';	99
Crisântemo	104, 144, 362, 367, 371, 410, 1470, 1807
cromossomos;	305
cultivo assimbiótico,	780
cultivo de eixo embrionário;	1529
cultivo de embriões,	653, 662, 799
cultivo em vaso;	1805
cultivo heterotrófico;	1050, 1145
cultivo in vitro	6, 31, 36, 266, 295, 330, 376, 380, 381, 382, 414,
	419, 451, 455, 469, 532, 540, 587, 592, 599, 600, 601, 617,
	626, 642, 643, 669, 673, 706, 715, 725, 824, 829, 898,
	931, 952, 960, 969, 978, 986, 990, 992, 1019, 1035, 1036,
	1037, 1041, 1045, 1049, 1057, 1062, 1070, 1081, 1108, 1130, 1157,
	1192, 1120, 1206, 1244, 1263, 1273, 1281, 1513, 1515, 1523, 1604, 1738
cultivo protegido,	163, 210, 1718
cultivo sem solo.	1810, 1811, 1812
cultivo,	88, 1647, 1652
cultura de anteras;	1208, 1212, 1216
cultura de tecidos vegetais,	605, 1031
cultura de tecidos	150, 197, 244, 361, 387, 405, 410, 411, 443, 488,
	553, 561, 583, 617, 630, 657, 698, 702, 729, 767, 773, 788, 877,
	880, 895, 907, 1003, 1015, 1226, 1028, 1086, 1230, 1239, 1243, 1247,
	1277, 1288, 1379, 1735, 1736, 1750
cultura in vitro,	13, 16, 412, 459, 612, 682, 792, 1529
cultura líquida,	464
culturas embriogênicas,	620
curauá;	1817

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

Curcuma alismastifolia ,	.570, 1086
Curcuma zedoaria;	.1019
curso técnico em paisagismo,	.1316
cv. Caipira;	.865
cv. Tropical;	.869
Cyperus articulatus ,	.118

D

Dendograma.	.299
Dendranthema grandiflora ;	.1632
Dendranthema grandiflorum cv. Rage,	.1660, 1657, 1807
Dendrobium nobile Lindl.,	.1790
Dendrobium nobile;	.409
densidade de plantio,	.1739, 1743
densidade estomática;	.45
descontaminação,	.459, 1205, 1288
desenvolvimento vegetativo	.1782, 1813
desinfestação de sementes,	.1388, 1581
desinfestação in vitro,	.164, 211
Desinfestação,	.189, 570, 931, 1542
Desinfestação, in vitro.	.236
desordens anatômicas,	.998
diagnose foliar,	.1676
diagnose,	.178, 222
Dicksonia sellowiana Hook.,	.1790
dicotiledôneas;	.1286
dimensão de estômatos;	.45
dinâmica de crescimento;	.450
Discocactus catingicola ;	.569
divisão de touceiras;	.1554
doença,	.178, 222
dormência de sementes.	.561, 1471
dormência,	.1478
Dose resposta;	.16
DREB ;	.1073
DSD1,	.738
duplo-haplóide.	.309
Durabilidade,	.136, 1625
Dwarf Jamaica;	.686
Dyckia goehringii ,	.1565, 1569, 1723
Dyckia sp,	.1722
Dypsis lutescens ;	.1486

## E

Echinocereus;	1108
eixos embrionários.	1192
Elaeis guineensis ;	837
eletroforese bidimensional,	12
Embalagens de 100 litros,	1754
embebição.	1477, 1483, 1486, 1487, 1488
embrião somático,	1028, 1239
embrião zigótico;	970, 1247
Embriões,	1435
embriogênese adventícia;	992
embriogênese somática, . . .5, 6, 12, 244, 262, 304 652, 837, 845, 849, 991, 1207, 1267	
embriogênese,	313, 309, 1216, 1263
encapsulamento;	841
endurecimento ex vitro.	1057
Enraizamento in vitro;	1008
enraizamento.	1, 450, 734, 750, 773, 884, 1378, 1144, 1512, 1612
Ensete sp.,	1350
enxertia,	1421, 1534
Enzima de ramificação do amido I (SBE I) ;	329
enzimas.	31, 277
Epidendrum ibacuense ;	816, 1684
epiderme;	66
epífitas.	93, 1653
Eriocaulaceae;	1094, 1099, 1119, 1144, 1149, 1160
Escola Rural.	1327
escores,	1131
escurecimento,	140
Espécie nativa;	1259
espécies arbóreas viárias.	1323
espécies arbóreas,	1754
espécies exóticas,	41
espécies lenhosas,	907, 1620
espécies nativas,	41, 84
espécies ornamentais,	1327, 1472
estabelecimento ex vitro;	560, 974, 1090
estacas.	1417, 1434, 1550
estádio fisiológico.	1268
estado físico do meio de cultura.	1149
estado nutricional,	1668
estaquia caulinar,	1472
estaquia,	1460, 1465, 1466, 1470, 1519, 1577, 1590, 1598, 1612
esterilização química,	356
estimulo;	1378
estiolamento in vitro	1129
estômato;	66, 803, 998
estresse hídrico	53, 266, 435, 1073, 1395
estresse salino	21, 46
etileno,	1216, 1729



A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

Etligera elatior ;	.31, 706
eucalipto,	.907, 978, 982
Eucalyptus .	.621
Eucalyptus grandis ;	.14
Eucalyptus grandis W. Hill ex Maiden;	.85
Eucalyptus urograndis ;	.1012, 1538
Eugenia dysenterica (Mart. ex DC),	.186, 235
Eugenia dysenterica ,	.1131, 1186
Eugenia pleurantha ,	.1433
Euphorbiaceae,	.799, 1263
Euterpe oleraceae ;	.845
ex Tan.,	.270
exóticas,	.84, 1757
explantes florais.	.620
explantes foliares;	.1012
explantes,	.85, 423, 536, 903, 913, 1019, 1196
extração de fibras.	.1750
extratos vegetais,	.182, 226

F

fator de multiplicação;	.642
Feijão-caupi,	.26, 78
feijãozinho-da-praia;	.669
Feijoa sellowiana;	.620
fenóis totais.	.449
ferrugem;	.170, 217
fertilidade.	.742
fertilização,	.1643, 1664, 1718, 1739, 1714, 1743
Fertirrigação;	.1647
fibra de coco,	.892, 1675, 1790
fibra de xaxim,	.1794
Fibra vegetal,	.484
fisiologia in vitro;	.45
fitagel	.1604
fitomassa seca.	.1628
Fitonematóides;	.174, 193, 221, 243
fitorregulador.	.36, 360, 1612
fitorreguladores	.413, 414, 596, 734, 750, 1527
fitossanidade.	.183, 230
fitotoxidade.	.644
flor de corte,	.129, 1303, 1676, 1688, 1689, 1809, 1810, 1811
floração,	.11
Flor-de-maio,	.1705
Flor-de-seda,	.1705
flores significativas,	.1323
flores tropicais,	.141, 142, 321, 415, 439, 1625, 1626, 1627, 1739, 1743, 1808
Flores.	.1647, 1652
florescimento.	.1625, 1811

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

floricultura orgânica;	1693
floricultura tropical	105, 405, 1693, 1799
floricultura	15, 94, 321, 334, 337, 340, 361, 380, 382, 1181, 1298, 1303, 1664, 1668, 1714, 1821
florística,	93
folha cotiledonar.	796
folhagem,	13
Folhas.	406
Foliar	592
Fonte de carbono;	575
fontes de nitrogênio.	673
forçamento	1534
formação de calo.	1035
formação profissional.	1316
fórmio;	132
formulação de sais,	360
fotoautotrófica;	371
fotoautotrofismo,	601
fotoperíodo;	82, 1378
Fragaria vesca L.,	183, 230
Fuchsia regia ,	1465
fungicidas,	1205
fungos endofíticos.	154, 201
fungos;	1288
fusário.	193, 243

**G**

GA3;	1104, 1477, 1483, 1486, 1487, 1488
garfagem	1421
geitonogamia;	305
gemas adventícias.	986
gene repórter.	281
Genipa americana ,	690, 698
Genipa americana L.	423
genótipo.	592, 1090
Geraneaceae;	770
gerânio,	1696
Gerbera hybrida ;	58, 305
Gerbera jamesonii ;	305, 941, 952, 1041, 1045, 1054, 1082, 1573, 1636, 1643, 1648
Gerbera jamesonii L,	1664, 1668, 1718
Gerbera sp,	1031
Gérbera,	106, 305
germinação de sementes	1429, 1786
germinação in vitro,	409, 569, 784, 970, 1089, 1235, 1388, 1533, 1581
germinação	330, 653, 1190, 1355, 1395, 1407, 1412, 1448, 1452, 1456, 1472, 1478, 1485, 1493, 1565, 1558, 1569, 1573, 1589, 1594, 1616, 1672, 1766
germoplasma,	1253

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

Gesneriaceae	.295, 1728, 1782
giberelina,	.387, 1515, 1523, 1765, 1803
giberelina, estufa.	.11
Ginkgo biloba L;	.1254
Gadíolo;	.257, 277
Gladiolus sp;	.170, 217
Glycine max ,	.313
Gossypium hirsutum ,	.248, 252, 1206
Graziela Barroso,	.11
grupo genômico BB.	.282
GUS;	.281

H

H. bihai ;	.381
H. chartacea ;	.381
H. lingulata ;	.381
Hancornia speciosa Gomes,	.715, 763, 767, 773, 829
Hancornia speciosa;	.873, 877, 880
haplodiploidização	.313, 309
harmonia de vaso;	.1805
haste floral.	.1765
Heliconia bihai ,	.140, 141, 142, 662
Heliconia psittacorum ,	.381, 1693, 1799
Heliconia psittacorum L. f. x Heliconia spathocircinata Aristeguieta "Golden Torch",	.1676
Heliconia rostrata ,	.644, 653, 1028
helicônia,	.145, 317, 686, 1626, 1627
Heliconiaceae,	.62, 66, 439, 1808
Hemerocallis hybrida cv.	.11
Hemerocallis hybrida.	.294
herdabilidade,	.294
Hibiscus rosa-sinensis L.;	.1434
híbrido interespecífico;	.347, 1373
híbrido M. ornata x M. velutina,	.325
hiperhidricidade.	.888
hipoclorito de cálcio,	.169, 214
hipoclorito de sódio,	.164, 169, 211, 214, 356, 978
hipocótilo,	.796, 1173, 1310
Hippeastrum hybridum,	.1289, 1809
Hippeastrum spp.;	.240
Hippeastrum X hybridum Hort.;	.20, 1292
histoire;	.1337, 1342, 1346
histologia;	.845
hormônio	.584
horticultura urbana,	.1315
Hylocereus undatus ,	.948
Hyptis marrubioides,	.1015

I

IAC Eidibel;	1810, 1811, 1812
île de Santa Catarina.	1337, 1342, 1346
impermeabilidade	1503
in vitro germination;	1514
in vitro	26, 189, 413, 448, 686, 998, 1131, 1190, 1287, 1485, 1538, 1542, 1736
índices DRIS.	1676
indução de brotos,	360, 1182
indução de calogênese;	1206
indução de calos.	252, 565, 1235
indução floral.	1729
indução,	584
indutores de enraizamento.	1417, 1434
Inga vera,	473, 477, 481
ingá,	473, 477
injúria por frio,	136, 142
inseticidas naturais.	182, 226
Internodal	592
inventário de arborização;	1333
Ipomoea ssp.,	1444
Ipomoea,	1761
ISSR,	317
IVG	948, 1395
Ixora coccínea L.;	123

J

Jardins Históricos;	1361
Jatropha curcas ,	406, 796, 960, 969, 1263, 1268
jenipapo,	698
Jerivá,	1435
Justicia gendarussa Burm. F.;	617

K

Knudson,	455, 1124
----------	-----------

L

Laelia purpurata ,	159, 206, 1680, 1697
Laelia tenobrosa ;	1735
Lafoensia pacari ,	861
Lafoensia pacari St. Hil.,	853, 857
Lamiaceae,	532, 592, 694, 1015, 1136
Lantana camara L.;	1550

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

Lavanda. ....	.716
Lavandin, ....	.716
Lavandula angustifolia Miller.; ....	.1478
Lavandula x intermedia , ....	.716
lenhosas; ....	.459
Leucotricha ....	.1782
levantamento de flora. ....	.83
liberação lenta. ....	.1464
lignan; ....	.1514
Liliaceae, ....	.1577
Limonium sinuatum; ....	.1778
Limpeza clonal; ....	.1287
Litchi chinensis Sonn., ....	.1235
logística. ....	.94
longevidade pós-colheita ....	.128
longevidade, ....	.1648
Lophantera lactescens Ducke; ....	.1388, 1392
luminosidade, ....	.1782, 1809
luteína; ....	.1302
Luz natural ....	.362, 367, 383, 746, 1050, 1737
Lycopersicon esculentum ; ....	.1272

M

malhas fotoconversoras, ....	.427
Malus domestica ; ....	.376
mamona, ....	.643
mamoneira, ....	.1192
manejo de nutrientes, ....	.1664, 1668
manejo pós-colheita. ....	.141
manejo. ....	.1808
Mangifera indica , ....	.1205, 1288
manipueira, ....	.1696
maracujá nativo, ....	.553, 561
maracujá, , ....	.634
maracujazeiro, ....	.334, 337, 340, 347
maracujazeiros ornamentais, ....	.343
marcador molecular de proteínas; ....	.277
marcador molecular, ....	.299
marcadores morfológicos. ....	.317
massa fresca, ....	.1254
massa seca. ....	.450, 1812
Mata Atlântica. ....	.88
material vegetal, ....	.634
maturação; ....	.5, 1616
meio alternativo. ....	.502
meio de cultura DSD1, ....	.401
Meio de cultura ....	.270, 600, 622, 642, 721, 733, 884, 1508, 1736
meios nutritivos, ....	.1697

Melastomataceae;	1766
melhoramento de plantas;	294, 1207
Melhoramento genético	274, 325, 1243, 1273, 1277
melhoramento.	340
Meliaceae;	1258
Melissa officinalis ,	1379
Melocactus glaucescens ;	1112
Melocactus paucispinus ;	1112
Meloidogyne mayaguensis ;	173, 220
Mentha arvensis ,	506, 592
Meristema	411
Merremia ssp.,	1444 , 1761
metabólitos bioativos;	1392
metabólitos Secundários	464
métodos de análises	1718
Mezilaurus navalium ;	459
microporta-enxertos;	1287
micropropagação	164, 169, 183, 186, 211, 214, 230 , 235,
	295, 356, 362, 367, 380, 383, 391, 396, 405, 410, 413,
	415, 427, 435, 439, 464, 488, 510, 511, 528 , 536, 545,
	549, 560, 570 , 583, 596, 600, 621, 626, 642, 652, 657,
	682, 716, 742, 763, 767, 773, 803 , 807, 811, 837, 841,
	873, 880, 884, 931, 969, 982, 990, 991, 992, 996, 1003,
	1008, 1015, 1054, 1066, 1074, 1086, 1090, 1094 , 1113,
	1119, 1502, 1181, 1226, 1585, 1737
microscopia.	473
mofogênese,	612, 1230
morangueiro,	183, 230
morfologia,	74, 1620
Moringa oleifera L.;	1049, 1513
Moringaceae;	931, 1049, 1513
MS	477, 481, 738, 754, 948, 1124, 1400
mucilgem;	1286
muda,	1416, 1754, 1757
mudas arbóreas;	1359
mudas de árvores;	1359
mudas in vitro,	1730
Multiplicação in vitro,	423, 865, 869, 913
multiplicação rápida;	1129
multiplicação,	662, 941
murchamento.	123
Musa acuminata ssp.	325
Musa balbisiana ,	282
Musa ornamental,	290
Musa spp. ;	281, 286, 587, 742, 746, 803, 865, 869, 884,
	964, 965, 1050, 1057, 1066, 1090, 1145, 1239, 1502
Musaceae;	1350, 1502
mutante antisense;	46
Myrtaceae,	186, 235, 1186, 1433

N

nativa, .....	1561, 1757
neem; .....	182, 226
nematóide. ....	240
Neoglaziovia variegata (Arr. Cam.) Mez., .....	1230
Nerium oleander; .....	1612
NH4 + .....	448
Ninféia, .....	1504
nitrato de amônio, .....	391
nitrato de cálcio, .....	391
nitrato .....	1718
Nitric Oxide. ....	256
nitrogênio. ....	706
níveis de irradiância; .....	1066
NO3 - ; .....	448
nódulos; .....	1286
Norantea brasiliensis, .....	464
NPK, .....	502
número de hastes florais. ....	1778
nutrição de planta, .....	1636, 1643, 1676
nutrição mineral in vitro. ....	13, 14
nutrição mineral, .....	1688, 1689, 1621, 1632, 1657, 1660
nutrição .....	1626, 1627, 1664, 1684, 1697, 1710
nutrientes; .....	449, 450
Nylon Arrays .....	256

O

Ocotea catharinensis ;	
óleo de neem. ....	170, 217
Óleo de nim; .....	182, 226
óleo mineral; .....	159, 206
Oncidium ceboletta , .....	1603, 1604, 1608
Ophiopogon japonicus Ker-Gawl.; .....	1554
Opuntia ficus, .....	974
Orchidaceae Cattleya, .....	387
Orchidaceae .....	36, 383, 391, 412, 413, 414, 455, 469, 605, .612, 682, 729, 733, 1035, 1466, 1519, 1675, 1813
Organogênese direta. ....	579, 694, 1023, 1153, 1182
organogênese indireta, .....	634, 1181
organogênese .....	26, 78, 419, 767, 829, 873, 880, 1049, .1074, 1099, 1112, 1114, 1136, 1205, 1244
Organogênico; .....	690
orientação. ....	1094
ornamentais. ....	84
ornamental. ....	1660, 1657, 1794
Orquidaceae ; .....	93, 159, 206, 502, 986, 1737
orquídea .....	419, 729, 734, 750, 780, 816, 918, 1590, 1608, 1680

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

Orthophytum grossiorum ,	.545, 549, 574, 575, 579, 792, 1023
ovários,	.481
óvulo,	.286
oxidação de explante	.1243
oxidação.	266, 1258, 1310, 1502

P

paisagem.	.1321, 1322
paisagismo urbano.	.1333
Paisagismo	.1297, 1306, 1311, 1320, 1332, 1321, 1361, 1322, 1360, 1365
Palinologia,	.1273, 1277
Palmae;	.1477, 1483, 1486, 1487, 1488
palmeira areca-bambu;	.1486
palmeira cariota;	.1477
palmeira fenix;	.1487
palmeira jerivá;	.1488
palmeira seafortia;	.1483
Palmeira,	.1403, 1407, 1429, 1448, 1452, 1456, 1616, 1786
palmeira-de-pescoço-marrom,	.1589
panorama,	.1342
parque.	.41
participação comunitária	.1323
Passiflora coccinea,	.334, 337, 340
Passiflora gibertii N.E.Brown;	.553, 561, 565, 622, 630, 634
Passiflora misera ;	.173, 220
Passiflora setacea,	.334, 337, 340, 944
Passiflora spp.;	.174, 221, 347, 1373
Passifloraceae.	.343, 1247, 1501
pays ;	.1346
Paysage ;	.1337, 1342, 1346
pectinase.	.1281
Pelargonium graveolens (L.);	.528, 770
Pelargonium hortorum L.H. Bailey,	.1696
perda de água,	.523, 1145
perfil protéico,	.21
perfilhamento,	.321
periferia,	.1315
peroxidase,	.140
pH,	.282, 290, 1149
Phalaenopsis ,	.1710
Phaseolus vulgaris ;	.309
Phoenix roebelenii ;	.1448, 1456, 1487, 1616
Phormium tenax;	.132
Physalis angulata ;	.519
picloram;	.927
pimenta,	.1804, 1805, 1806
Piridoxina,	.918
planejamento;	.1321, 1322



A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

planta aquática,	1504
planta medicinal,	996, 1379, 1598
planta nativa do Cerrado.	1369
planta ornamental,	146, 173, 178, 193, 220, 222, 240, 243,
.....	294, 396, 397, 1181, 1369, 1373, 1590, 1594, 1612, 1616
planta suculenta,	1714
Plantas lenhosas.	811
plantas medicinais,	519, 617, 626, 1113
plantas nativas,	1728
plantas ornamentais nativas,	83, 1297
plantas ornamentais	174, 221, 443, 932, 935, 938, 1259, 1298,
.....	1360, 1545, 1648, 1766 , 1804, 1806
plantas restinga.	35
plantmax;	1397
Plântulas;	1620
Plectranthus ornatus,	1136
pó de coco.	506, 1248
podophyllotoxin;	1514
Podophyllum hexandrum ;	1514
Pogostemon cablin;	694, 1248
pólen,	290, 305
Polietilenoglicol.	53, 266
polifenoloxidase;	140
Polifertil® ,	892
polinização.	286, 1350
poliploidização in vitro.	1272
polipropileno branco	1754
Polygonum capitatum Buch.-Ham.;	1550
Pós-colheita,	70, 95 , 99 , 104, 105, 106, 111, 119,
.....	123, 129, 132, 136, 143, 144, 145, 1460
potencial ornamental,	35, 118
potencial osmótico.	1160
potencial regenerativo in vitro.	78
praça	1320, 1361
Praças Públicas;	1306, 1311, 1361
presença/ausência de irradiância de fótons;	622
preservação.	841, 1790
pré-tratamento,	313
Priprioca,	118, 119
processo de aprendizagem transdisciplinar,	1316
produção comercial,	15
produção de mudas,	382, 405, 488, 657, 1128, 1230, 1359, 1501, 1533, 1750
produção,	1806, 1821
produtividade,	1778
Produtores;	1298
proliferação de gemas;	1037
prolina.	14
propagação clonal;	888, 1104
propagação in vitro,	351, 501, 574, 758, 1081
propagação por sementes,	1471

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

propagação vegetativa, . . . . .	.435, 1031, 1466, 1504, 1519, 1550, 1554, 1574
propagação, . . . . .	.733, 1403, 1412, 1416, 1433, 1489,
. . . . .	.1497, 1527, 1545, 1590, 1594
propágulos. . . . .	.969
proteínas solúveis totais; . . . . .	.14
proteínas totais; . . . . .	.448
proteômica, . . . . .	.12
Prunus serrulata, . . . . .	.1534
Psidium guajava , . . . . .	.360
pulsing . . . . .	.99, 145
pulverização; . . . . .	.1765
pureza varietal; . . . . .	.257

Q

qualidade da inflorescência, . . . . .	.1625
qualidade de hastes florais. . . . .	.1743
qualidade de luz . . . . .	.367, 387, 427, 1795
qualidade. . . . .	.1648
quaresmeira-do-cerrado; . . . . .	.1766
químicas, . . . . .	.1718
quina do cerrado, . . . . .	.1190

R

raízes . . . . .	.397, 1012
RAPD; . . . . .	.347, 1130
RB 72 454; . . . . .	.304
readequação; . . . . .	.1320
recursos genéticos . . . . .	.274, 1501
redutores. . . . .	.70
refrigeração. . . . .	.106
regeneração de plantas. . . . .	.1206
regeneração in vitro, . . . . .	.244, 252, 907, 1080
regeneração. . . . .	.262, 519
regulador de crescimento, . . . . .	.443, 469, 510, 511, 565, 608, 634,
. . . . .	.807, 932, 935, 1036, 1070, 1135
regulador osmótico, . . . . .	.1253
regulador vegetal. . . . .	.902
reguladores de crescimento vegetais. . . . .	.605
reguladores de crescimento . . . . .	.85, 252, 545, 549, 584, 620, 898,
. . . . .	.1037, 1124, 1157 , 1208, 1212, 1226
reguladores vegetais, . . . . .	.375, 431
reguladores. . . . .	.528
replanejamento . . . . .	.1332
resgate de embriões, . . . . .	.270
resíduo sólido industrial. . . . .	.1653
resíduos vegetais, . . . . .	.1693, 1799

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

resistência sistêmica adquirida;	1395
resposta fotossintética,	648, 665
respostas morfogenéticas.	1207
retardante,	1803
revestimentos biodegradáveis.	142
Rhapis excelsa,	299
Ricinus com munis L.;	776, 784, 788, 1073, 1192, 1529
rifampicina,	150, 197
rizogênese in vitro.	375, 853
Rizogênese.	715, 1140
RNA interferente (RNAi);	329
Rollinia emarginata Schltl.,	511
Rosa hybrida L.;	103
Rosa sp.,	95, 111, 129, 888, 1421, 1765, 1803, 1821
Rosa X híbrida;	1108
Rosaceae,	1489, 1497, 1534
Roystonea regia ,	1452
Rubus spp. ;	401, 833, 1124, 1489, 1497
Rumohra adiantiformis ;	13
Ruscus hypoglossum ,	1574
Rustificação in vitro;	964

S

sacarose,	62, 70, 99, 746, 913, 1066, 1604, 1089, 1384
Saccharum officinarum ,	16, 21, 601, 673
Saccharum spp. ;	1, 262, 266, 304, 540, 1062
Saintpaulia ionantha ;	295
Salinidade;	1652
Sansevieria trifasciata,	1577
Sarccharum sp ,	164, 211
Schizolobium parahyba var. amazonicum ,	903, 908, 913
Scrophulariaceae,	1383
secções nodais	1036
seeds.	1514
segmento nodal,	592
segmento radicular	702
segmentos nodais,	186, 235, 532, 978, 1186, 1392
sementes oleaginosas,	1268
sementes	398, 414, 569, 669, 1120, 1192, 1397, 1400, 1403, 1407, 1412, 1433, 1444 , 1477, 1478, 1483, 1485, 1486, 1487, 1488, 1503, 1508, 1513, 1529, 1542, 1558, 1573, 1589, 1594, 1672
sempre-viva;	1099, 1119, 1149, 1160
senescência.	132, 136, 140
Sequoia sempervirens ,	356
silicato de sódio,	721
silício	952, 1041, 1045, 1054, 1688, 1807
Sinningia	1782

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Z

sintomas. . . . .	132, 1627
sintomatologia, . . . . .	1626
sistema de vedação; . . . . .	362, 665
sistema radicular; . . . . .	1090
sobrevivência, . . . . .	1177
<i>Solanum tuberosum</i> L; . . . . .	411, 1244
<i>Solidago canadensis</i> ; . . . . .	193, 243
solo, . . . . .	1465, 1722
Solução de fortificação. . . . .	104, 105
solução nutritiva; . . . . .	1165
solução pulsing . . . . .	119, 143, 144
soluções conservantes; . . . . .	95 , 123
soluções de condicionamento . . . . .	111
sombreamento. . . . .	1723, 1739, 1761, 1795
SP 81 3250; . . . . .	304
<i>Spathyphyllum walisii</i> Regel.; . . . . .	143
Stimulate Mo; . . . . .	1292
<i>Strongylodon macrobotrys</i> , . . . . .	932, 935, 938
<i>Strychnos pseudoquina</i> , . . . . .	1190
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville; . . . . .	927
<i>Stryphnodendron adstringens</i> , . . . . .	754, 1384, 1508
subcultivo; . . . . .	990
substrato, . . . . .	742, 1135, 1165, 1289, 1291, 1407, 1470, 1416,
. . . . .	1504, 1545, 1598, 1608, 1636, 1647, 1675, 1727, 1728, 1730
substratos alternativos, . . . . .	780, 1248
Sugar Cane, . . . . .	256
suplemento mineral; . . . . .	630
<i>Syagrus romanzoffiana</i> ; . . . . .	1488
<i>Syngonanthus mucugensis</i> , . . . . .	443, 1094, 1099, 1119, 1144, 1149, 1160
<i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston, . . . . .	515

T

Tabaco, . . . . .	46 , 53
<i>Tabebuia avellanedae</i> . . . . .	45
<i>Tabebuia roseo-alba</i> ; . . . . .	398, 1397, 1400, 1542
<i>Tagetes erecta</i> ; . . . . .	1594
<i>Tagetes</i> ; . . . . .	1302
<i>Tam arindus indica</i> L., . . . . .	74, 1581
tamanho de vaso. . . . .	1806
Taninos; . . . . .	1384
taxa de Crescimento . . . . .	1254
TDZ; . . . . .	902
tecidos foliares. . . . .	523
<i>Tectona grandis</i> ; . . . . .	895
tegumento; . . . . .	1444, 1173, 1672
teor de sólidos solúveis. . . . .	1804
Teor de umidade . . . . .	1355
terra, . . . . .	1397

textura. ....	820
Tiamina, ....	918
tioredoxinas; ....	46, 53
tipos de capítulos. ....	58
Tipos de citocinina; ....	574
toxidez, ....	159, 182, 206, 226
transformação genética. ....	1244
transplântio. ....	1730
tratamentos pré-germinativos. ....	1493
tubo polínico, ....	282, 290, 1259

## U

unidades encapsuláveis; ....	841
Urbanismo; ....	1306, 1311
urina de vaca; ....	170, 217

## V

V. splendens; ....	725
valorização, ....	35
Vanilla chamissonis ; ....	1590
variabilidade genética. ....	343
Variabilidade ....	325, 361
variação somaclonal. ....	1130, 1267
vaso, ....	1291
vedação, ....	648, 1186
Vellozia squamata ; ....	1533
ventilação natural. ....	371
Verbena rigida Spreng., ....	1493
Vermiculita; ....	376
vetiver, ....	536
viabilidade do pólen, ....	1350
viabilidade, ....	290
videira, ....	608, 738
Vigor, ....	1355, 1565, 1569
vinca ....	1416
violeta; ....	295
vitamina C, ....	1804
vitamina, ....	738
Vitis spp., ....	401, 807
Viveiro, ....	1374, 1757
voyageurs étrangers; ....	1337, 1342, 1346
Vriesea flammea, ....	1545
Vriesea fosteriana; ....	725

**W**

Waltheria ferruginea; .....	1485
White. ....	1124
WPM, .....	398, 754

**X**

Xanthosoma mafaffa , .....	600, 642
xaxim, .....	1675, 1813

**Z**

Zantedeschia aethiopica , .....	1688, 1689
Zantedeschia spp .; .....	154, 596, 599
Zea mays; .....	329
zebrina, .....	325
Zigocactus truncatus , .....	1705
Zingiberaceae , .....	31, 150, 197
zinco. ....	401
Zingiberaceae .....	570, 706, 1019, 1086

# Resumos Incluídos

---

## Genética

### **Estudo das relações genéticas de acessos de Anthurium Schott e Etilingera Giseke usando marcadores moleculares.**

Carvalho, A. A. A. de ; Diniz, B.T.; Oliveira, D.S. de; Ferreira, M.A.; Paiva, W.O. de 3 ; Marouelli, L.P.; Buso, G.S. C.

### **Comportamento de cultivares de antúrio como planta de vaso no norte do Paraná**

Lúcia Sadayo Assari Takahashi, Ricardo Tadeu Faria, Antonio Fernando Caetano Tombolato, Francine Lorena Cuquel, Maurício L. Grossi

### **Sete novas cultivares de hemerocale do Instituto Agrônômico (IAC)**

Antonio F.C. Tombolato, Luiz A. F. Matthes; Roberta P. Uzzo; Carlos E. F. Castro; Ana M.M.Costa

## Micropropagação

### **Indução de calos in vitro em diferentes explantes de sisal (Agave sisalana Perrine).**

Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos; Rios, Ana Paula de Souza ;Carneiro, Fernando dos Santos; Lyra, Camila dos Santos; Santana, José Raniere Ferreira de.

## Sementes

### **Crioconservação de sementes de Petunia hybrida e de Dyckia tuberosa**

Antonio F.C. Tombolato, Thiago N. Lucon, Lizz Kezzy de Moraes; Wilson Barbosa , Renato F.A. Veiga

### **Ocorrência e reprodução da espécie Paepalanthus speciosus koern.**

Tiemann, Luciana Umbelino; Campos, Antonio Xavier de

## Solos

### **Avaliação da aplicação de fertilizantes comerciais em grama esmeralda (Zoysia japonica)**

Carozelli, Paulo André; Castilho, Regina Maria Monteiro de; Oliveira, Letícia Lisboa; Pina, Ticiano Petean.

## Tecnologias

### **Metodologias para avaliação do pH e condutividade elétrica em substrato sob níveis de fertirrigação.**

Mota, Poliana Rocha D'Almeida; Villas Bôas, Roberto Lyra ; Ludwig, Fernanda; Fernandes, Dirceu Maximino; Luz, Michele Abreu; Perón, Ivan Henrique; Fanela, Thiago Luís Martins ; Oliveira, Cláudio Satoshi Hashimoto de .

## Índice de Títulos

---

### A

Ácido bórico e sulfato de zinco hidratado no crescimento <i>in vitro</i> de duas espécies frutíferas. . . . .	401
Ácido Indolbutírico e tempo de imersão no enraizamento de estacas semi-lenhosas e herbáceas de Amoreira-preta. . . . .	1497
Aclimação de <i>Nidularium rubens</i> Mez, uma bromélia nativa de Mata Atlântica: estudos de substratos. . . . .	1727
Aclimação e desenvolvimento <i>in vivo</i> de cana-de-açúcar propagada em sistema de baixo-custo. . . . .	1
Aclimatização da orquídea <i>Oncidium ceboletta</i> proveniente de mudas propagadas <i>in vitro</i> . . . . .	1608
Aclimatização de cultivares de bananeira, influenciada por alterações no ambiente de cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	1050
Aclimatização de <i>Dyckia maritima</i> Baker (Bromeliaceae) em hidropônia. . . . .	1165
Aclimatização de genótipos de hortelã-japonesa ( <i>Mentha arvensis</i> ). . . . .	506
Aclimatização de híbrido de orquídea ( <i>Cattleya labiata</i> x <i>Cattleya granulosa</i> ) em substratos de origem industrial e vegetal. . . . .	1653
Aclimatização de mudas micropropagadas de gerânio ( <i>Pelargonium graveolens</i> L.). . . . .	770
Aclimatização de mudas micropropagadas de patchouli. . . . .	1248
Aclimatização de mudas micropropagadas de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.) em diferentes substratos. . . . .	1177
Aclimatização de <i>Oncidium baueri</i> ( <i>Orchidaceae</i> ) utilizando auxina . . . . .	734
Aclimatização de plantas de porta-enxertos de macieira ( <i>Malus domestica</i> ), provenientes da micropropagação em substratos porosos. . . . .	376
Aclimatização de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Perrine) . . . . .	557
Acúmulo de cálcio em crisântemo ( <i>Dendrathera grandiflorum</i> T., salmon reagan) no período do inverno. . . . .	1660
Adensamento e produtividade de antúrio em sistema hidropônico com substrato. . . . .	1810
Adequação de reguladores de crescimento do meio MT para o cultivo de embriões imaturos de tangerineira Cleópatra . . . . .	270



Ajuste de protocolo para propagação <i>in vitro</i> para os clones 01, 04 e 08 de <i>Orthophytum grossiorum</i> Leme & Paula. . . . .	545
Ajuste de protocolo para propagação <i>in vitro</i> para os clones 05 e 09 de <i>Orthophytum grossiorum</i> Leme & Paula. . . . .	549
Alterações anatômicas em plantas de bananeira ‘Japira’ (AAAB) cultivadas <i>in vitro</i> e durante a aclimatização. . . . .	1057
Alterações físicas e físico-químicas em <i>Heliconia bihai</i> L. após tratamento com solução de fortificação em sacarose. . . . .	105
Análise da concentração de BAP (Benzylaminopurina) no crescimento <i>in vitro</i> do mangarito ( <i>Xanthosoma mafaffa</i> Schott). . . . .	600
Análise da produção de calos em <i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex. Maiden em diferentes concentrações de reguladores de crescimento. . . . .	85
Análise de crescimento do amarílis ( <i>Hippeastrum X hybridum</i> Hort.) cultivado a pleno sol. . . . .	20
Análise de crescimento do crisântemo cultivado em vaso sob diferentes soluções Nutritivas . . . . .	1632
Análise de expressão transiente de gene mediada de <i>Agrobacterium</i> em frutos de banana. . . . .	281
Análise do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em função do substrato e adubo de liberação controlada. . . . .	742
Análise do perfil protéico de calos embriogênicos de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum officinarum</i> ) sob estresse salino. . . . .	21
Análise proteômica comparativa durante a maturação de culturas embriogênicas de <i>Araucaria angustifolia</i> . . . . .	12
Análise Ultra-estrutural de Calos de Anteras de Ingazeiro . . . . .	473
Análise ultra-estrutural de calos de mamoneiro cv. IAC-80. . . . .	776
Análises isoenzimáticas em somaclones de bananeira Berlim . . . . .	710
Análises morfo-histológicas da embriogênese somática em açazeiro ( <i>Euterpe oleraceae</i> Mart.) . . . . .	845
Anatomia da Epiderme de Brácteas em Genótipos de <i>Heliconia</i> ( <i>Heliconiaceae</i> ). . . . .	66
Anatomia de <i>Dendranthema grandiflora</i> TZVELEV cv. Rage micropropagada sob diferentes condições de luz e sistemas de vedação. . . . .	362

Anatomia foliar comparada de seis espécies de anonáceas cultivadas <i>in vitro</i> e em casa de vegetação. ....	998
Anatomia foliar de cultivares de bananeira, influenciada por mudanças no ambiente de cultivo na fase de enraizamento/alongamento <i>in vitro</i> . ....	746
Arborização urbana em regiões de diferentes padrões construtivos no município de Jataí, Estado de Goiás. ....	1333
Área de produção de flores de corte no Estado de Minas Gerais ....	1303
Armazenamento de rosa ( <i>Rosa spp.</i> ) em câmara fria e diferentes soluções conservantes. ....	95
Árvores Nativas e Exóticas Usadas como Ornamentais no Campus do Pici. ....	84
Aspectos da germinação <i>in vitro</i> de sementes de maracujazeiro <i>Passiflora gibertii</i> N. E. Brown. ....	561
Aspectos da germinação <i>in vitro</i> do barbatimão ....	1508
Aspectos nutricionais do meio e influência da divisão longitudinal da brotação sobre o enraizamento <i>in vitro</i> de cultivares de bananeira ....	884
Aspectos paisagísticos e de utilização da Praça Dr. Augusto Silva, Lavras – MG, segundo a opinião de seus usuários e frequentadores. ....	1311
Assepsia de explantes de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> L.). ....	931
Assepsia de rizomas e inoculação de ápices caulinares de <i>Curcuma alismatifolia in vitro</i> ....	570
Atividade antioxidante de extratos de luteína proveniente de flores de <i>Tagetes patula</i> L. e <i>Calendula officinalis</i> L. ....	1302
Avaliação da atividade da enzima bromelina em resíduo agroindustrial de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Smith). ....	1817
Avaliação da capacidade morfogenética <i>in vitro</i> de diferentes genótipos de uma progênie de abacaxizeiro ....	1003
Avaliação da contaminação por fungos em fragmentos de tecidos interno e externo de segmentos nodais de cultivares de <i>Mangifera indica</i> L. ....	1288
Avaliação da fidelidade genética de propágulos micropropagados de abacaxizeiro-ornamental [ <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> (Lindley) Coppens & Lea] utilizando marcadores moleculares tipo RAPD. ....	1130
Avaliação da qualidade de sementes de <i>Eugenia pleurantha</i> (Myrtaceae) pelos testes de germinação e tetrazólio. ....	1433

Avaliação da qualidade pós-produção em cultivares de gérbera de vaso conduzidos com dois níveis de condutividade elétrica. . . . .	1648
Avaliação de brotações de explantes de crisântemo em função do número de gemas. . . . .	410
Avaliação de diferentes meios nutritivos para a germinação assimbiótica de <i>Cattleya labiata</i> . . . . .	455
Avaliação de diferentes tipos de substratos no enraizamento de crisântemo ( <i>Dendranthema grandiflora</i> ) cv . White Polaris . . . . .	1470
Avaliação de meios nutritivos na micropropagação de <i>Laeliapurpurata</i> . . . . .	1697
Avaliação de métodos de assepsia e tipos de explantes para estabelecimento <i>in vitro</i> de pinhão manso ( <i>Jatropha curcas L.</i> ). . . . .	969
Avaliação do crescimento da raiz na cultura da gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> , var. <i>cherry</i> ) cultivada em vaso submetida a diferentes níveis de condutividade elétrica. . . . .	1647
Avaliação do crescimento e produção de antúrio ( <i>Anthurium andraeanum Lind.</i> ) variedade Apalai sob diferentes cores de telas de sombreamento. . . . .	1795
Avaliação do crescimento <i>in vitro</i> de <i>Orthophytum mucugense</i> na presença de diferentes concentrações de giberelina. . . . .	792
Avaliação do desenvolvimento e propagação de mudas <i>in vitro</i> de <i>Zantedeschia spp.</i> em recipientes plásticos com filtro e sem filtro inseridos na tampa. . . . .	599
Avaliação do efeito do fungicida sistêmico cerconil sobre a regeneração e micropropagação, visando a eliminação dos fitorreguladores utilizados para clonagem de cana-de-açúcar. . . . .	540
Avaliação do índice relativo de clorofila na cultura da gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> , var. <i>salmon</i> ) cultivada em vaso submetido a diferentes níveis de condutividade elétrica por fertirrigação. . . . .	1652
Avaliação do potencial para a produção de brotos de <i>Norantea brasiliensis Choisy</i> ( <i>Marcgraviaceae</i> ) a partir de plantas germinadas e propagadas <i>in vitro</i> . . . . .	464
Avaliação do uso de ácido salicílico em sementes de calêndula ( <i>Calendula officinalis L.</i> ) sob diferentes estresses. . . . .	1395
Avaliação dos níveis de BAP na multiplicação <i>in vitro</i> do mamoeiro. . . . .	1226

## B

BAP e 2,4-D na diferenciação de calos em anteras de <i>Coffea arabica</i> . . . . .	1208
BAP e substratos na propagação vegetativa de <i>Nymphaea x marliacea</i> “ <i>Chromatella</i> ”. . . . .	1504
Brassinosteróide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro . . . . .	1135
Bromélias da Mata Atlântica do Parque Estadual Serra do Conduru no Sul da Bahia e potenciais espécies para cultivo. . . . .	88
BRS estrela do cerrado: Híbrido de passiflora para uso como planta ornamental . . . .	334
BRS roseflora: Híbrido de passiflora para uso em paisagismo . . . . .	340
BRS rubiflora: Híbrido de passiflora para uso como planta ornamental . . . . .	337

## C

Calogênese a partir de segmentos de hipocótilo de mamona cv. BRS 149 Nordestina . . . . .	788
Calogênese de <i>Passiflora gibertii</i> a partir de segmentos cotiledonares. . . . .	565
Calogênese e brotações <i>in vitro</i> de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.) induzidas por diferentes concentrações de citocininas e auxina. . . . .	1200
Calogênese e organogênese <i>in vitro</i> a partir de segmentos nodais de cerejeira ( <i>Amburana acreana</i> (Ducke) A.C. Sm.) da Amazônia Ocidental: Estabelecimento e regeneração de brotos. . . . .	811
Calogênese em cotilédones de nim utilizando TDZ. . . . .	820
Calogênese em diferentes tipos de explantes de paricá na presença de 2,4-D. . . . .	903
Calogênese em explantes de feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) . . . . .	702
Calogênese em segmentos nodais de ingazeiro – aspectos ultra-estruturais . . . . .	477
Calogênese <i>in vitro</i> de lima ácida ‘TAITI’ . . . . .	677
Calogênese <i>in vitro</i> em diferentes tipos de explantes de nim indiano na presença de BAP. . . . .	1258
Características anatômicas de plântulas de orquídeas submetidas a diferentes qualidades de luz. . . . .	427

Características anatômicas foliares de brotações de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Sm) propagadas <i>in vitro</i> . . . . .	496
Características básicas de calos embriogenéticos formados em tecidos somáticos de Angiospermas . . . . .	1286
Características estomáticas em folhas formadas <i>in vitro</i> , folhas persistentes e aclimatizadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB) . . . . .	803
Características organolépticas de variedades de pimenta com potencial ornamental. . . . .	1804
Caracterização de hastes de alpínia sob cultivo protegido em função do espaçamento e da adubação em região litorânea do Estado do Ceará . . . . .	1743
Caracterização de variedades de <i>Gladiolus</i> sp. por meio de izoenzimas. . . . .	277
Caracterização física e germinação de sementes de grama das espécies Bermudas ( <i>Cynodum dactylum</i> (L.) Pers.), Esmeralda ( <i>Zoysia japonica</i> Steud.), São Carlos ( <i>Axoponus compressus</i> Beauv.) e Japonesa ( <i>Zoysia tenuifolia</i> Trin.). . . . .	1355
Caracterização físico-química de solos do Cerrado com ocorrência de espécies terrestres da família Bromeliaceae 1 . . . . .	1722
Caracterização molecular e morfológica de espécies de Helicônias. . . . .	317
Caracterização morfológica e fertilidade em <i>Ensete</i> sp. . . . .	1350
Centre d'intérêt dans la perception du paysage des voyageurs étrangers du XIX ème siècle passés par l'île de Santa Catarina pendant leurs voyage autour du monde, Le. . . . .	1337
Certificação da pureza genética em <i>Gladiolus</i> sp. por meio de marcadores morfológicos. . . . .	257
Clonagem e Estudo Funcional do Promotor do Gene DREB de <i>Mamona</i> – <i>Ricinus communis</i> L. . . . .	1073
Como reduzir o porte de <i>Hemerocallis</i> ? . . . . .	294
Comparação de fibras foliares de brotações de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Sm) propagadas pelo método convencional e pelo estiolamento <i>in vitro</i> . . . . .	484
Comparação de morangueiro provenientes de mudas de propagação convencional e micropropagadas quanto à ocorrência de doenças e à produção. . . . .	183
Comparações anuais de crescimento entre espécies nativas e exóticas, em condições de viveiros. . . . .	1757

Comportamento físico-fisiológico de sementes de <i>Dyckia goehringii</i> ( <i>Bromeliaceae</i> ) sob diferentes temperaturas . . . . .	1569
Composição do substrato no enraizamento de estacas de brinco-de-princesa . . . . .	1465
Concentração de fósforo em crisântemo ( <i>Dendrathera grandiflorum</i> T., <i>salmon reagan</i> ) no período do verão. . . . .	1657
Concentração de sais do meio MS e ambiente de cultivo na indução de calos organogênicos de <i>Passiflora gibertii</i> . . . . .	622
Concentrações de cinetina na indução de brotações <i>in vitro</i> de mangabeira . . . . .	880
Concepts pays et paysage dans les sens paysager de l'île de Santa Catarina : son émergence et développement, Les. . . . .	1346
Condicionamento em pós-colheita de <i>Etilingera elatior</i> (Jack) R.M. Smith . . . . .	128
Condutividade elétrica e pH do substrato em cultivares de gérbera de vaso avaliado com duas metodologias. . . . .	1636
Conservação pós-colheita de <i>Ixora vermelha</i> sob diferentes soluções conservantes e condições de armazenamento. . . . .	123
Conservação pós-colheita de <i>Spathyphyllum walisii</i> Regel com a utilização de solução de "Pulsing". . . . .	143
Conteúdo endógeno de AIA, ABA, poliaminas e aminoácidos na maturação de embriões somáticos de <i>Ocotea catharinensis</i> . . . . .	5
Controle da ocorrência de danos mecânicos em hastes florais de <i>Heliconia bihai</i> cv. <i>Lobster Claw I</i> ( <i>HELICONIACEAE</i> ). . . . .	94
Controle de polifenóis em folhas jovens de Mangueira ( <i>Mangifera indica</i> L.) cultivadas <i>in vitro</i> . . . . .	1243
Correlação entre características da germinação de sementes e o potencial regenerativo de diferentes cultivares de <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. . . . .	26
Crescimento da gérbera e produção de fitomassa seca em função de níveis de condutividade elétrica. . . . .	1664
Crescimento de <i>Epidendrum ibaguensis</i> e <i>Laelia purpurata</i> em diferentes Substratos . . . . .	1813
Crescimento de mandacaru em diferentes substratos em tubetes. . . . .	15
Crescimento de rainha-do-abismo sob diferentes níveis de sombreamento . . . . .	1782
Crescimento de variedades pendentes de <i>Zigocactus Truncatus</i> sob diferentes doses de adubações . . . . .	1701

Crescimento e desenvolvimento de gametófitos de avencão em diferentes meios nutritivos. . . . .	13
Crescimento <i>in vitro</i> de <i>Oncidium baueri</i> (Orchidaceae) em diferentes concentrações de sacarose e macronutrientes . . . . .	729
Crescimento <i>in vitro</i> de <i>Oncidium ceboletta</i> em diferentes concentrações de sacarose e solidificantes. . . . .	1604
Crescimento <i>Vriesea flammea</i> L. B. Smith em diferentes substratos. . . . .	1545
Crescimento vegetativo e resposta ao estresse hídrico de cafeeiros propagados por embriogênese somática e por sementes. . . . .	435
Cultivo de <i>Dendrobium nobile</i> Lindl. (Orchidaceae) em substratos alternativos ao Xaxim . . . . .	1790
Cultivo de pimentas ornamentais comestíveis em vaso. . . . .	1805
Cultivo <i>in vitro</i> de orquídea sob luz natural com diferentes espectros luminosos. . . . .	1737
Cultivo <i>in vitro</i> de segmentos nodais de variedades silvestres de abacaxi. . . . .	657
Cultura de embriões zigóticos e indução de embriogênese somática em <i>Campomanesia guasumifolia</i> Berg (sete-capotes). . . . .	588
Curva de crescimento de calos de maracujazeiro <i>Passiflora gibertii</i> N. E. Brown. . . . .	553
<b>D</b>	
Descrição dos sintomas de deficiência de N, P, K, Ca, S, Fe e B em plantas de copo-de-leite. . . . .	1689
Desenvolvimento de antúrio em sistema hidropônico com substrato. . . . .	1812
Desenvolvimento de bulbos de <i>Hippeastrum X hybridum Hort cv Ferrari</i> com o uso de diferentes doses de Stimulate Mo. . . . .	1292
Desenvolvimento de <i>Heliconia psittacorum L.f.</i> em vaso, sob diferentes modos de adubação orgânica e mineral . . . . .	1799
Desenvolvimento de mudas de <i>Cattleya</i> (Orchidaceae) em diferentes recipientes . . . . .	750
Desenvolvimento de seis espécies arbóreas, cultivadas em embalagens de 100 litros de polipropileno branco, durante três anos. . . . .	1754
Desenvolvimento e florescimento de <i>Merremia spp.</i> e <i>Ipomoea spp.</i> em vasos sob sombreamento artificial. . . . .	1761



Desenvolvimento e multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Heliconia bihai</i> . . . . .	662
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de brotos micropropagados de <i>Orthophytum mucugense</i> por organogênese direta, em diferentes fontes de carbono. . . . .	575
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de <i>Cattleya labiata</i> em diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> . . . . .	36
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de orquídea nativa do Mato Grosso em diferentes concentrações de citocinina. . . . .	1603
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de raízes em brotos adventícios de sisal ( <i>Agave sisalana Per.</i> ) sob diferentes concentrações de AIB e Carvão Ativado. . . . .	1169
Desenvolvimento vegetativo em vaso de <i>Zigocactus truncatus semi</i> - eretos sob diferentes doses de adubações. . . . .	1705
Desinfestação de meio de cultura e recipientes por hipoclorito de sódio em micropropagação de bananeira. . . . .	587
Desinfestação de sementes de Ipê-Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ) para estabelecimento <i>in vitro</i> . . . . .	1542
Desinfestação de sementes de teca ( <i>Tectona grandis Linn. f.</i> ) para germinação sob condições <i>in vitro</i> . . . . .	895
Desinfestação e germinação <i>in vitro</i> de sementes de faveleira ( <i>Cnidoscylus phyllacanthus</i> (M. Arg.) Pax & K. Hoffm). . . . .	1120
Desinfestação e germinação <i>in vitro</i> de sementes de tamarindo ( <i>Tamarindus indica L.</i> ). . . . .	1581
Determinação de doses de NaCl para a realização de seleção <i>in vitro</i> em calos de cana-de-açúcar . . . . .	16
Determinação de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em soluções extraídas com diferentes metodologias em duas cultivares de gérbera fertirrigadas. . . . .	1718
Diagnóstico da produção de rosas em Vitória da Conquista – Bahia. . . . .	1821
Diferentes concentrações de AIB no enraizamento <i>in vitro</i> de <i>Crossandra infundibuliformis</i> . . . . .	397
Diferentes substratos para germinação de sementes de palmeira real australiana ( <i>Archontophoenix cunninghamii H. Wendl. &amp; Drude</i> ). . . . .	1407
Dimensões dos estômatos e densidade estomática de folhas de <i>Tabebuia avellanedae Lor. ex Gris. (Bignoniaceae)</i> <i>in vitro</i> e <i>ex vitro</i> . . . . .	45
Diversidade genética com base em características morfológicas e de marcadores moleculares (RAPD) em passifloras silvestres ornamentais . . . . .	343



Diversidade, Riqueza e Distribuição de Bromélias e Orquídeas epífitas na Mata de Galeria do Rio das Antas, Poços de Caldas – MG. . . . .	89
Doses de Ácido Indolbutírico, tamanhos de estacas e diferentes substratos no enraizamento de estacas de amoreira-preta sob nebulização intermitente. .	1489
<b>E</b>	
Efeito da Água de coco na indução de calos organogênicos de <i>Passiflora gibertii</i> (Passifloraceae). . . . .	630
Efeito da aplicação de daminozide em roseiras para vaso cv. Button's Boys e Yellow Doll. . . . .	1803
Efeito da assepsia em sementes após a retirada do tegumento sobre a regeneração, contaminação e o desenvolvimento de propágulos de mamoneira ( <i>Ricinus communis</i> L.) cultivados <i>in vitro</i> . . . . .	1192
Efeito da cinetina e picloran no cultivo <i>in vitro</i> de pequiizeiro. . . . .	1114
Efeito da concentração de BAP ( <i>Benzylaminopurina</i> ) no fator de multiplicação <i>in vitro</i> do mangarito ( <i>Xanthosoma mafaffa</i> Schott). . . . .	642
Efeito da concentração do ANA ( <i>Ácido Naftalenoacético</i> ) no enraizamento <i>in vitro</i> de brotos de abacaxizeiro ( <i>Ananas comosus</i> ) . . . . .	1008
Efeito da fitotoxidez de antibióticos no controle de contaminações bacterianas no cultivo <i>in vitro</i> de bastão-do-imperador . . . . .	150
Efeito da fitotoxidez de antibióticos no controle de contaminações bacterianas no cultivo <i>in vitro</i> de bastão-do-imperador . . . . .	197
Efeito da fragmentação do rizoma na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giul. . . . .	1119
Efeito da glutamina na indução de embriogênese somática a partir de inflorescências masculinas em bananeiras triploides ( <i>Musa sp</i> ). . . . .	1239
Efeito da individualização de nós de segmentos caulinares estiolados de <i>Ananas comosus</i> na proliferação de brotos <i>in vitro</i> . . . . .	1129
Efeito da integridade do cotilédone sobre o potencial regenerativo de diferentes variedades de <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp). . . . .	78
Efeito da luz e da posição dos explantes na micropropagação de Cagaita. . . . .	186
Efeito da luz e diferentes concentrações de sais do meio MS na regeneração <i>in vitro</i> de <i>Catharanthus roseus</i> . . . . .	1378

Efeito da luz natural em meio de cultura líquido e sólido na propagação <i>in vitro</i> de abacaxi cv. Imperial. . . . .	1736
Efeito da luz, vedação e carvão ativado na micropropagação de cagaita. . . . .	1186
Efeito da pulverização com ácido giberélico nas características das hastes florais de roseira “Hebe Camargo”. . . . .	1765
Efeito da sacarose associada com diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> na taxa de germinação <i>in vitro</i> de sementes de nim . . . . .	1523
Efeito da solução de fortificação com sacarose na alteração de parâmetros físico e físico-químicos em <i>Dendranthema grandiflorum</i> (Ramat) Tzvelev. . . . .	104
Efeito da solução NPK na micropropagação <i>in vitro</i> de cana-de-açúcar, objetivando reduzir custos de produção. . . . .	673
Efeito da temperatura e da escarificação mecânica na germinação de sementes de <i>Copernicia prunifera</i> (Arecaceae). . . . .	1425
Efeito da temperatura e do armazenamento temporário na germinação de sementes de <i>Archontophoenix alexandrae</i> (Arecaceae). . . . .	1429
Efeito da temperatura e do estágio de maturação dos frutos na germinação de sementes de <i>Roystonea regia</i> (Kunth) O. F. Cook (Arecaceae) . . . . .	1452
Efeito da temperatura na germinação de sementes de <i>Camptosema grandiflorum</i> Benth. . . . .	1672
Efeito da temperatura na germinação de sementes de espécies de <i>Merremia</i> spp. e <i>Ipomoea</i> spp. . . . .	1444
Efeito das condições de conservação <i>in vitro</i> no resgate e micropropagação de plantas de abacaxi. . . . .	510
Efeito de ácido giberélico (GA) e sacarose em pós-colheita de <i>crisântemo</i> var. ‘chá repin’. . . . .	99
Efeito de agentes desinfestantes em propágulos do abacaxizeiro <i>in vitro</i> . . . . .	167
Efeito de ANA e TDZ na calogênese <i>in vitro</i> de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Smith). . . . .	902
Efeito de auxinas no enraizamento <i>in vitro</i> de dedaleiro. . . . .	853
Efeito de bioestimulante vegetal no cultivo e regeneração <i>in vitro</i> de embriões de mamona ( <i>Ricinus communis</i> L.). . . . .	1529
Efeito de carvão ativado e do grafite no crescimento <i>in vitro</i> de <i>Cattleya bicolor</i> Lindl. (Orchidaceae). . . . .	351

Efeito de citocininas, ANA e meio de cultura na indução de calos em anteras de Trepadeira-Jade . . . . .	932
Efeito de concentrações de benzilaminopurina (BAP) e volume do meio de cultura na regeneração de microplantas de Ananas bracteatus Tricolor . . . . .	431
Efeito de concentrações de benzilaminopurina, formulação do meio de cultura e o período de subcultivo na produção de brotações adventícias no abacaxizeiro ornamental . . . . .	990
Efeito de concentrações de hormônio e do tipo de estaca na propagação vegetativa de espirradeira ( <i>Nerium oleander L.</i> ). . . . .	1612
Efeito de diferentes auxinas e de giberelina na indução de brotos estiolados <i>in vitro</i> de abacaxi Imperial para propagação clonal por segmentos nodais. . . . .	1036
Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D e carvão ativado na germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos imaturos de Macaúba ( <i>Acrocomia aculeata</i> ). . . . .	970
Efeito de diferentes concentrações de ácido silícico e do meio de cultura MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera . . . . .	1045
Efeito de diferentes concentrações de água de coco e carvão ativado no cultivo <i>in vitro</i> de pinhão-manso. . . . .	1263
Efeito de diferentes concentrações de AIB na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes. . . . .	873
Efeito de diferentes concentrações de BAP e Cinetina na micropropagação <i>in vitro</i> das variedades RB867515 e RB855156 de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum spp.</i> ). . . . .	1062
Efeito de diferentes concentrações de <i>Heterodera glycines</i> em amarílis ( <i>Hippeastrum spp.</i> ). . . . .	193
Efeito de diferentes concentrações hormonais e antioxidantes sobre a indução de calos em algodão ( <i>G. hirsutum L.</i> ). . . . .	248
Efeito de diferentes doses de ANA e BAP na multiplicação <i>in vitro</i> de crisântemo ( <i>Dentratheuma grandiflora</i> ). . . . .	584
Efeito de diferentes fontes de citocinina na micropropagação de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa Gomes</i> ). . . . .	767
Efeito de diferentes fungicidas na descontaminação de segmentos nodais de mangueira ( <i>Mangifera indica L.</i> ) . . . . .	1205
Efeito de diferentes níveis de sombreamento em <i>Heliconia psittacorum varsassy</i> e <i>H.psittacorum x H. sparthocircinata var. Golden Torch</i> . . . . .	1808

Efeito de diferentes substratos e aplicações de manipueira no desenvolvimento de gerânio. . . . .	1696
Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mudas de areca-de-lucuba, <i>Dyopsis madagascariensis</i> (Becc.) Beentfe & J. Dransf. . . . .	1786
Efeito de doses de BAP na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Zantedeschia cv Neroli</i> em recipientes plásticos. . . . .	596
Efeito de meio, BAP e fotoperíodo na micropropagação de antúrio var. Eidibel. . . . .	380
Efeito de níveis de sombreamento sobre o desenvolvimento de <i>Dyckia goehringii</i> Gross & Rauh ( <i>Bromeliaceae</i> ) em ambiente protegido. . . . .	1723
Efeito de reguladores de crescimento e do carvão ativado na organogênese de variedade botânica de mangabeira da região Nordeste . . . . .	829
Efeito de reguladores de crescimento e meio de cultura na indução de calos em pedúnculos florais de Trepadeira Jade . . . . .	938
Efeito de soluções nutritivas sobre o crescimento e desenvolvimento do crisântemo cultivado em vaso . . . . .	1621
Efeito de substratos na formação de mudas de curauá ( <i>Ananas comosus var. erectifolius</i> L. B. Smith) . . . . .	892
Efeito de vários tipos de antioxidantes sobre a oxidação polifenólica de tecidos de algodão ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.) cultivados <i>in vitro</i> . . . . .	1310
Efeito de zeatina e concentração do meio de cultura MS na multiplicação <i>in vitro</i> de gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> ) . . . . .	1082
Efeito do 2,4 - D na indução de calos em explantes de jenipapapeiro ( <i>Genipa americana</i> L.) . . . . .	690
Efeito do ácido indolbutírico e de estações do ano no enraizamento de estacas de <i>Cordia leucocephala</i> Moric. . . . .	1512
Efeito do AIB e BAP na organogênese <i>in vitro</i> de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> L.) . . .	1049
Efeito do ANA e AIB na redução de calos em explantes de jenipapapeiro ( <i>Genipa americana</i> L.) . . . . .	698
Efeito do armazenamento temporário na germinação de sementes de <i>Ptychosperma macarthurii</i> (H. Wendl. ex. H.J. Veitch) H. Wendl. ex Hook.f. . . .	1403
Efeito do BAP e 2IP sobre a indução de calos e regeneração <i>in vitro</i> de algodão ( <i>G. hirsutum</i> L.). . . . .	252
Efeito do BAP e ANA na micropropagação de caroá [ <i>Neoglaziovia variegata</i> (Arr. Cam.) Mez.]. . . . .	488

Efeito do BAP e ANA no cultivo <i>in vitro</i> de pequiheiro. ....	1074
Efeito do BAP e do GA <sub>3</sub> no desenvolvimento <i>in vitro</i> do híbrido <i>Cattleya labiata</i> x <i>C. granulosa</i> e <i>C. persivaliana</i> . ....	469
Efeito do BAP na multiplicação de diferentes espécies de helicônias. ....	381
Efeito do benomyl e do biocloreto de mercúrio na desinfestação de explantes de palma forrageira ( <i>Opuntia ficus</i> ) ....	974
Efeito do enriquecimento de meio nutritivo por complexos orgânicos e morfogênese <i>in vitro</i> de <i>Cattleya walkeriana</i> Gardner (ORCHIDACEAE). ....	612
Efeito do estresse hídrico em tabaco cultivado <i>in vitro</i> ....	53
Efeito do estresse salino em tabaco cultivado <i>in vitro</i> ....	49
Efeito do GA <sub>3</sub> e de diferentes períodos sem hidratação após a colheita na durabilidade comercial de hastes de pripioca ( <i>Cyperus articulatus</i> ). ....	119
Efeito do GA <sub>3</sub> e meios de cultura na germinação <i>in vitro</i> de sementes de Ipê-Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ). ....	398
Efeito do hormônio BAP em meristemas apicais de duas cultivares de Maracujazeiro-azedo ( <i>Passiflora edulis</i> Sims ) em meio MS com diferentes vitaminas. ....	1061
Efeito do manitol na conservação <i>in vitro</i> de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui ....	1251
Efeito do número de explantes, meio de cultura e fotoperíodo na micropropagação de abacaxi ornamental <i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i> ....	382
Efeito do número de plantas por frasco e de carvão ativado no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera. ....	941
Efeito do pH no meio de cultura líquido e sólido em cultivos de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti. ....	1149
Efeito do potencial osmótico na germinação e crescimento <i>in vitro</i> de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti visando à conservação <i>in vitro</i> . ....	1160
Efeito do silicato de potássio e do meio de cultura MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de Gérbera ....	952
Efeito do silicato de potássio no desenvolvimento e produção de copo-de-leite. ...	1688
Efeito do silício na aclimatização de plantas de crisântemo. ....	1807
Efeito do substrato na aclimatização de caroá [ <i>Neoglaziovia variegata</i> (Arr. Cam.) Mez.]. ....	1750

Efeito do tempo de enraizamento e condições ambientais na aclimatização de mudas micropropagadas de minirosa ( <i>Rosa chinensis</i> 'Minima') . . . . .	1730
Efeito do tipo de armazenamento na durabilidade pós-colheita de hastes florais de <i>Heliconia spp.</i> . . . . .	136
Efeito residual de diferentes fontes de citocinina na rizogênese <i>in vitro</i> de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes). . . . .	773
Efeito residual de diferentes fontes de silício e concentrações de MS na aclimatização de gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> ) cultivadas <i>in vitro</i> . . . . .	1054
Efeito residual do BAP (6- benzilaminopurina) em subcultivos <i>in vitro</i> de <i>Heliconia rostrata</i> Ruiz & Pavón. . . . .	439
Efeitos da luz natural e sacarose na perda de água e anatomia foliar de plantas de bananeira, na fase de enraizamento/alongamento <i>in vitro</i> . . . . .	961
Efeitos das auxinas na germinação <i>in vitro</i> de sementes de porongo ( <i>Lagenaria siceraria</i> (Mol.) Stand.) – Cucurbitaceae. . . . .	1173
Efeitos de diferentes carboidratos no desenvolvimento de calos de <i>Ginkgo biloba</i> L. . . . .	1254
Efeitos de diferentes substâncias naturais na germinação “ <i>in vitro</i> ” de <i>Uromyces transversalis</i> (Thümen) Winter em Gladiolo ( <i>Gladiolus</i> sp.). . . . .	170
Efeitos de diferentes tratamentos na pós colheita de Gérbera ( <i>Gérbera jamesonii</i> ) de corte. . . . .	106
Efeitos de fontes de Silício e diferentes meios de cultura na propagação <i>in vitro</i> de orquídeas. . . . .	721
Efeitos do silicato de cálcio e diferentes concentrações do meio de cultura MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera . . . . .	1041
Efeito do silicato de sódio e de diferentes concentrações de MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera . . . . .	956
Effect of the GSNO in the Genic Expression in Cells Suspension of Sugar Cane. . . . .	256
Eficiência da cinetina na propagação <i>in vitro</i> de <i>Rosa sp.</i> . . . . .	888
Eficiência de enraizamento de estacas apicais de Tango, submetidas a diferentes substratos . . . . .	1549
Eficiência de reguladores no porte e qualidade de plantas de girassol cultivadas em vaso com diferentes substratos. . . . .	57
Eficiência de solução enzimática no isolamento de protoplastos de folhas de Pequiheiro cultivadas “ <i>in vitro</i> ” . . . . .	1281

Eficiência de soluções enzimáticas e do tempo de incubação na obtenção de protoplastos de bastão-do-imperador . . . . .	31
Eficiência na absorção de água de rosas variedade Tineke mantidas em diferentes conservantes florais. . . . .	129
Embriogênese somática em caroá . . . . .	1230
Embriogênese Somática indireta e respostas morfogênicas <i>in vitro</i> de algodão herbáceo ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.). . . . .	1207
Embriogênese somática indireta em explantes foliares de café Conilon. . . . .	451
Enraizamento de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti. . . . .	1144
Enraizamento <i>in vitro</i> de brotações adventícias de variedade botânica de mangabeira do Nordeste. . . . .	715
Enraizamento <i>in vitro</i> de brotações oriundas de plântulas de erva-mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> ) . . . . .	1081
Enraizamento <i>in vitro</i> e aclimação de propágulos de <i>Vanilla planifolia</i> . . . . .	605
Envolvimento das enzimas peroxidase e polifenoloxidase no escurecimento de inflorescências de <i>Heliconia bihai</i> . . . . .	140
Escolha de espécies arbóreas floríferas pelos moradores de dois bairros de Americana/SP. . . . .	1323
Estabelecimento de condições para cultivo e floração de plantas <i>in vitro</i> , visando à sua comercialização direta. . . . .	1108
Estabelecimento do cultivo <i>in vitro</i> de <i>Canavalia rosea</i> (Sw.) DC ( <i>Fabaceae</i> ) . . . . .	669
Estabelecimento <i>in vitro</i> de ápices caulinares de <i>Curcuma alismatifolia</i> . . . . .	1086
Estabelecimento <i>in vitro</i> de boldo-de-jardim ( <i>Plectranthus ornatus</i> , Lamiaceae). . . . .	1136
Estabelecimento <i>in vitro</i> de Caju-de-Árvore-do-Cerrado a partir de segmentos nodais inoculados em diferentes concentrações dos sais MS em ausência e presença de luz. . . . .	1196
Estabelecimento <i>in vitro</i> de culturas de raízes de <i>Capraria biflora</i> L. a partir de explantes foliares . . . . .	1383
Estabelecimento <i>in vitro</i> de helicônia a partir de ápice floral . . . . .	405
Estabelecimento <i>in vitro</i> de <i>Heliconia rostrata</i> a partir de embriões zigóticos. . . . .	653
Estabelecimento <i>in vitro</i> de segmentos nodais do híbrido <i>Eucalyptus benthamii</i> Maiden & Cabbage x <i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden. . . . .	978



Estabelecimento <i>in vitro</i> de segmentos de PAU-ROSA ( <i>Aniba rosaeodora Ducke</i> ) visando à obtenção de <i>plântulas assepticadas</i> . . . . .	1440
Estabelecimento <i>in vitro</i> e calogênese de <i>Rosa x hybrida</i> cv. Vegas. . . . .	1181
Estabelecimento <i>in vitro</i> e indução de calos em lichia ( <i>Litchi chinensis</i> Sonn). . . . .	1235
Estabelecimento de protocolo para cultivo <i>in vitro</i> de <i>Cattleyax mesquitae</i> autofecundada. . . . .	413
Estimativa da taxa de multiplicação de brotos em seções caulinares de uma nova cultivar de abacaxi, no primeiro ciclo de estiolamento e proliferação de gemas <i>in vitro</i> . . . . .	1037
Estudo comparativo da indução de calogênese em três genótipos de algodão herbáceo ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.) - CNPA 8H, CNPA 96117 e CNPA 981004. . . . .	1206
Estudo da embriogênese somática em duas variedades de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum</i> sp.). . . . .	262
Estudo da fertilização <i>in vivo</i> em bananeiras diplóides e triplóides. . . . .	286
Estudos do controle da oxidação e da contaminação visando o estabelecimento da cultura <i>in vitro</i> de <i>Mezilaurus navalium</i> (Allemão) Taub. ex Mez (Lauraceae). . . . .	459
Estudos preliminares do desenvolvimento <i>in vitro</i> do híbrido <i>Cattleya labiata x Cattleya granulosa</i> . . . . .	1157
Estudos reprodutivos e citológicos em gérbera visando cruzamentos sexuais. . . . .	305
Etileno e Nitrato de prata na indução e regeneração de embriões em anteras de <i>Coffea arabica</i> L. . . . .	1216
Experiência transdisciplinar no ensino de Paisagismo, Uma. . . . .	1316
<b>F</b>	
Fatores associados à superação da dormência e indução da germinação de sementes de Lavanda ( <i>Lavandula angustifolia</i> Miller “Provence Blue”). . . . .	1478
Fitonematóides detectados em <i>Passiflora</i> spp. . . . .	174
Flora do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima: Conhecer Para Preservar . . . . .	41
Fontes de nitrogênio no crescimento <i>in vitro</i> de plântulas de orquídea <i>Cattleya loddigesii</i> ‘Tipo’. . . . .	391



Formação de calo em explantes foliares de <i>Cattleya schilleriana</i> (ORCHIDACEAE) <i>in vitro</i> . . . . .	1035
Fungos endofíticos isolados de <i>Zantedeschia</i> sp . . . . .	158
Fracionamento de carboidratos em hastes florais de helicônia após senescência. . . . .	70
Fracionamento de carboidratos em hastes recém colhidas de helicônia cultivar Golden Torch. . . . .	62

**G**

Garfagem de mesa de roseira em diferentes substratos. . . . .	1421
Geminação de grãos de pólen de nêspereira e ameixeira utilizando Nitrato de cálcio e Ácido bórico em diferentes níveis de pH. . . . .	1273
Germinação de <i>Calea hispida</i> (DC.) Baker – uma espécie nativa com potencial ornamental. . . . .	1471
Germinação de pólen <i>in vitro</i> de bananeiras ornamentais. . . . .	290
Germinação de sementes de <i>Archontophoenix cunninghamii</i> H. Wendl. & Drude em diferentes períodos de imersão em água destilada. . . . .	1412
Germinação de sementes de <i>Dendrobium phalaenopsis</i> em meio de cultura alternativo. . . . .	502
Germinação de sementes de gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> Bolus) em temperaturas controladas e condições naturais no Submédio São Francisco. . . . .	1573
Germinação de sementes de guanandi ( <i>Calophyllum brasiliense</i> Camb. Clusiaceae) . . . . .	1558
Germinação de sementes de Ipê-Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ) em diferentes substratos. . . . .	1397
Germinação de sementes de <i>Tagetes erecta</i> . . . . .	1594
Germinação de sementes de <i>Trimezia juncifolia</i> Benth & Hook ( <i>Iridaceae</i> ) em diferentes substratos e condições armazenamento . . . . .	1561
Germinação de <i>Tibouchina stenocarpa</i> (DC.) Cogn. ( <i>Melastomataceae</i> ) em função da temperatura e do substrato. . . . .	1766
Germinação e controle da contaminação <i>in vitro</i> de sementes de Pequi ( <i>Caryocar brasiliense</i> Camb.) . . . . .	189

Germinação e desenvolvimento inicial <i>in vitro</i> de <i>Acanthostachys strobilacea</i> (Bromeliaceae) em diferentes concentrações de sacarose na presença e ausência de luz. . . . .	1089
Germinação <i>in vitro</i> de de sementes de canela-de-ema ( <i>Vellozia squamata</i> Pohl). . .	1533
Germinação <i>in vitro</i> de <i>Discocactus catingicola</i> (Cactaceae). . . . .	569
Germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de pinhão-manso ( <i>Jatropha curcas</i> L.) . .	1268
Germinação <i>in vitro</i> de Maracujá-de-Papoco ( <i>Passiflora</i> sp.) . . . . .	1247
Germinação <i>in vitro</i> de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> L.) . . . . .	1513
Germinação <i>in vitro</i> de Pitaya vermelha . . . . .	948
Germinação <i>in vitro</i> de pólen de <i>Portulaca</i> sp – testes preliminares. . . . .	1259
Germinação <i>in vitro</i> de quina ( <i>Strychnos pseudoquina</i> A. St. Hil.), <i>Loganiaceae</i> . . . .	1190
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de <i>Aechmeasp</i> . . . . .	1585
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de nim utilizando diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> . . . . .	1515
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de orquídeas ( <i>Dendrobium nobile</i> ). . . . .	409
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de orquídeas nativas do cerrado . . . . .	414
Germinação <i>in vitro</i> de sementes e micropropagação de goiabeira, variedade Paluma. . . . .	360
Germinação <i>in vitro</i> de <i>Waltheria ferruginea</i> A. St.-Hil. . . . .	1485
Glicina e inositol no cultivo <i>in vitro</i> de duas frutíferas de clima temperado. . . . .	738
<b>H</b>	
Hibridações interespecíficas em passifloras para utilização como planta ornamental .	1373
Híbridos de abacaxi com potencial ornamental. . . . .	274
Híbridos de passifloras UESC-HD13 confirmados pela análise de RAPD, morfologia e citogenética. . . . .	347
Hipoclorito de sódio na assepsia e resposta na multiplicação <i>in vitro</i> de cana-de-açúcar. . . . .	164
Hipoclorito de sódio na assepsia e resposta na multiplicação <i>in vitro</i> de cana-de-açúcar. . . . .	211

## I

Identificação de fungo patogênico em plantas de tango ( <i>Solidago canadensis</i> ). . . . .	243
<i>In vitro</i> germination of <i>Podophyllum hexandrum</i> seeds. . . . .	1514
Índices de recuperação de microenxertos de diferentes espécies e variedades de citros. . . . .	1287
Indução da Embriogênese Somática em <i>Butia eriospatha</i> Mart. ex Drude ( <i>Areaceae</i> ). . . . .	652
Indução da embriogênese somática em cana-de-açúcar. . . . .	6
Indução da embriogênese somática em dendezeiro ( <i>Elaeis guineensis</i> Jacq) a partir de estruturas foliares e potencial de indução utilizando discos apicais de plantas jovens . . . . .	837
Indução da embriogênese somática em pupunheira ( <i>Bactris gasipaes</i> H. B. K.) a partir de embriões zigóticos imaturos . . . . .	849
Indução de Brotações em <i>Eucalyptus Urograndis</i> . . . . .	1538
Indução de brotações em <i>Melocactus glaucescens</i> Buining & Brederoo e <i>Melocactus paucispinus</i> G. Heimen & R. Paul (Cactaceae). . . . .	1112
Indução de brotações <i>in vitro</i> de <i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> . . . . .	913
Indução de brotações <i>in vitro</i> em segmentos nodais de <i>araticum mirim</i> ( <i>Rollinia emarginata</i> Schltdl.) . . . . .	511
Indução de Calogênese em <i>Eucalyptus urograndis</i> cultivado <i>in vitro</i> . . . . .	1012
Indução de calogênese <i>in vitro</i> em explantes de pinhão manso ( <i>Jatropha curcas</i> L). . . . .	960
Indução de calos em anteras de <i>Coffea arabica</i> em função dos reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ. . . . .	1212
Indução de calos em cotilédones de nim utilizando diferentes concentrações de 2,4-D e BAP . . . . .	824
Indução de calos em embriões de mangabeira . . . . .	877
Indução de calos em explantes de <i>Neoregelia</i> sp. cultivados em diversos meios de cultura. . . . .	991
Indução de calos em explantes foliares de cagaiteira com 2,4-D e BAP em meio líquido . . . . .	1131

Indução de calos em ovários de Trepadeira-Jade . . . . .	.935
Indução de calos em segmentos foliares de dedaleiro com a utilização de BAP e ANA. . . . .	.861
Indução de calos em segmentos nodais de barbatimão . . . . .	.927
Indução de Calos em Sempre-Viva ( <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti) utilizando diferentes tipos de explantes e concentrações de BAP. . . . .	.443
Indução de calos embriogênicos em <i>Heliconia rostrata</i> . . . . .	.1028
Indução de calos embriogênicos nas variedades RB 72 454 e SP 81 3250 de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum</i> sp.). . . . .	.304
Indução de calos friáveis em segmentos nodais de <i>Lophantera lactescens</i> Ducke. .	.1392
Indução de calos <i>in vitro</i> em diferentes explantes de paricá. . . . .	.908
Indução de calos <i>in vitro</i> em diferentes explantes de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Perrine) . . . . .	.1140
Indução de calos organogênicos em diferentes explantes de <i>Passiflora gibertii</i> . . . .	.634
Indução de culturas embriogênicas de <i>Acca sellowiana</i> Berg ( <i>Myrtaceae</i> ). . . . .	.620
Indução de embriogênese somática em abacaxizeiro-ornamental. . . . .	.992
Indução de organogênese em <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giul. ( <i>Eriocaulaceae</i> ) – uma espécie ornamental ameaçada da Chapada Diamantina, Bahia. . . . .	.1099
Indução do florescimento de <i>Hemerocallis hybrida</i> cv. Graziela Barroso após a aplicação de ácido giberélico (GA <sub>3</sub> ). . . . .	.11
Indução floral em bromélia ornamental <i>Guzmania dissitiflora</i> . . . . .	.1747
Indução floral em bromélia ornamental <i>Tilandsia cyanea</i> . . . . .	.1748
Indução floral em bromélia ornamental <i>Vriesea</i> cv. ‘Charlotte’ . . . . .	.1749
Indução floral em <i>Vriesia inflata</i> Wanra. ( <i>Bromeliaceae</i> ) utilizando carbureto. . . . .	.1729
Influência da composição do meio de cultura na pré-aclimatização e aclimatização de propágulos de <i>Agave attenuata</i> Salmy-Dyck. . . . .	.450
Influência da condição nutricional do meio de cultura sobre o metabolismo mixotrófico de plântulas de <i>Agave attenuata</i> Salmy-Dyck. . . . .	.449
Influência da cor e do tamanho de vasos plásticos na evaporação de água e temperatura do substrato. . . . .	.1291

Influência da deficiência de macronutrientes na durabilidade pós-colheita de <i>Heliconia psittacorum</i> x <i>H. spathocircinata</i> cultivar Golden Torch. . . . .	1625
Influência da idade e do tipo de explante na organogênese direta de <i>Orthophytum mucugense</i> Wand. e Conceição, submetido a diferentes concentrações de ANA na presença de BAP. . . . .	1023
Influência da orientação do explante na organogênese direta de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giul. . . . .	1094
Influência da sacarose no crescimento de calos e nos teores de fenóis e taninos totais em <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart. ) Coville – Fabaceae. . . . .	1384
Influência da temperatura e do substrato na germinação de <i>Melocactus Bahiensis</i> (Cactaceae) . . . . .	1770
Influência das concentrações de MS, GA <sub>3</sub> e carvão ativado na germinação de sementes de Ipê Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ). . . . .	1400
Influência das vitaminas na propagação <i>in vitro</i> de <i>Catteya</i> (Orchidaceae) . . . . .	918
Influência de adubações mineral e orgânica na pigmentação de folhas de <i>Heliconia psittacorum</i> L.f. . . . .	1693
Influência de diferentes concentrações de ANA na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes. . . . .	763
Influência de diferentes concentrações de MS no teor e composição química do óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. . . . .	1379
Influência de diferentes métodos de desinfestação, concentrações de sacarose e BAP na propagação do Jerivá ( <i>Syagrus romanzoffiana</i> cham. glassm.) através do cultivo “ <i>in vitro</i> ” de embriões. . . . .	1435
Influência de diferentes tipos de citocininas na organogênese direta de <i>Orthophytum mucugense</i> . . . . .	574
Influência de explantes e reguladores de crescimento na micropropagação de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.). . . . .	1153
Influência de meios de cultura e suplementações hormonais sobre a indução e desenvolvimento de calos <i>in vitro</i> em variedades de <i>Gossypium hirsutum</i> L. . . . .	244
Influência de métodos de desinfestação e tipos de explantes no estabelecimento <i>in vitro</i> de acessos de vetiver [ <i>Chrysopogon zizanioides</i> (L.) Roberty]. . . . .	536
Influência de níveis de sombreamento no comprimento dos escapos florais de <i>Hippeastrum x hybridum</i> Herb. ‘Orange Souvering’. . . . .	1809
Influência de soluções nutritivas na produção de matéria seca e inflorescências de crisântemo cultivado em vaso . . . . .	1628

Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação <i>in vitro</i> de manjerição ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) cultivar Genovese . . . . .	532
Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação <i>in vitro</i> de genótipos de hortelã-japonesa ( <i>Mentha arvensis</i> L.). . . . .	592
Influência do ácido giberélico na germinação <i>in vitro</i> de sementes de mamona ( <i>Ricinus communis</i> L. cv. BRS 149-Nordestina) . . . . .	784
Influência do BAP na multiplicação <i>in vitro</i> e aclimatização de <i>Melissa officinalis</i> L. . .	492
Influência do carvão ativado no crescimento inicial e na aclimatização de plântulas de <i>Caularthron bicornutum</i> (ORCHIDACEAE) germinadas <i>in vitro</i> . . .	682
Influência do fotoperíodo na altura média de plantas de celósia ( <i>Celosia argentea</i> ), no período de verão, no Submédio São Francisco. . . . .	82
Influência do Ga <sub>3</sub> na germinação ex vitro e <i>in vitro</i> de mamoneira ( <i>Ricinus communis</i> L.). . . . .	643
Influência do local de origem e da temperatura na germinação de sementes de tamareira-anã ( <i>Phoenix roebelenii</i> O' Brien). . . . .	1448
Influência do revestimento biodegradável nos sintomas de injúria por frio em inflorescências de <i>Heliconia bihai</i> . . . . .	142
Influência do tipo e posição do explante no desenvolvimento de calos de Pinhão-manso. . . . .	796
Intensidade de cor verde e nitrogênio em cultivares de gérbera fertirrigados com soluções nutritivas. . . . .	1643
Introdução <i>in vitro</i> de <i>Lophantera lactescens</i> Ducke ( <i>Malpighiaceae</i> ). . . . .	1388
Isolamento e cultivo de micrósporos e pólen de feijão: primeiros resultados. . . . .	309

L

Levantamento de doenças em plantas ornamentais diagnosticadas na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, no período de 2002 a 2006 . . . . .	175
Levantamento de doenças em plantas ornamentais diagnosticadas na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, no período de 2002 a 2007 . . . . .	222
Levantamento de pragas e caracterização de sintomas de infestação em plantas ornamentais no município de Ilha Solteira-SP. . . . .	154

Levantamento preliminar das principais espécies de palmeiras e perfil das empresas comercializadoras em Goiânia, Goiás. ....	1374
Longevidade floral de <i>H. bihai</i> tratadas com solução de benziladenina. ....	141
Longevidade pós-colheita de flores de rosa, tratadas com 1-MCP em câmara fria. ...	103
Luminosidade e interação de reguladores de crescimento na micropropagação de gerânio ( <i>Pelargonium graveolens</i> L) ....	528
Luz natural e sistemas de vedação na propagação <i>in vitro</i> de <i>Dendranthema grandiflora</i> TZVELEV cv. Rage. ....	371
Luz natural no cultivo <i>in vitro</i> de <i>Musa</i> spp.: uma alternativa a utilização de lâmpadas fluorescentes na fase de enraizamento. ....	1066

## M

Macronutrientes, aspectos nutricionais e bioquímicos no crescimento de brotações de <i>Eucalyptus grandis in vitro</i> . ....	14
Manejo pós-colheita de <i>Phormium tenax</i> em água e sintomas indicadores de perda de valor comercial. ....	132
Meios de cultura e BAP na micropropagação de amoreira-preta cv. Brazos. ....	638
Meios de cultura e BAP na organogênese direta em barbatimão ....	754
Meios de cultura e reguladores de crescimento na micropropagação de amoreira-preta. ....	833
Meios de cultura, cinetina e GA <sub>3</sub> na multiplicação <i>in vitro</i> de amoreira-preta cv. Cherokee. ....	1124
Metabolismo do nitrogênio durante a pré-aclimatização e aclimatização de plântulas de <i>Agave attenuata</i> Salmy-Dyck. ....	448
Micropropagação de <i>Aechmea fasciata</i> (Lindl.) Baker. ....	1128
Micropropagação de <i>Gerbera</i> através de capítulos florais. ....	1031
Micropropagação de lavanda cultivar <i>Lavandin</i> ( <i>Lavandula x intermedia</i> <i>Emeric</i> ex Loiseleur ). ....	716
Micropropagação do abacaxizeiro 'Imperial', em função do acréscimo de água de coco e BAP no meio de cultivo. ....	1070
Micropropagação fotoautotrófica de abacaxizeiro. ....	1738



Micropropagação fotoautotrófica <i>in vitro</i> de cana-de-açúcar em diferentes concentrações de sacarose. ....	601
Micropropagação <i>in vitro</i> da pupunheira ( <i>Bactris gasipaes</i> K. )* .....	1079
Modificações na anatomia foliar de plantas de bananeira, induzidas durante o processo de micropropagação. ....	965
Morfologia de diásporos e de plântulas de <i>Dypsis lastelliana</i> (Baill.) Beentje & J. Dransf. ....	1589
Morfologia de plântulas de doze espécies lenhosas do Cerrado sentido restrito. ...	1620
Morfologia dos diásporos e da plântula de <i>Caryota urens</i> L. ....	1456
Multiplicação de sequóia ( <i>Sequoia sempervirens</i> L.) em meio de cultura esterilizado com hipoclorito de sódio. ....	356
Multiplicação e alongamento do híbrido <i>Eucalyptus benthamii</i> Maiden & Cambage x <i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden. ....	982
Multiplicação e alongamento <i>in vitro</i> de <i>Eucalyptus benthamii</i> . ....	1104
Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Arundina bambusifolia</i> . ....	419
Multiplicação <i>in vitro</i> de bastão-do-imperador em diferentes concentrações de nitrato de amônia e uréia .....	706
Multiplicação <i>in vitro</i> de duas frutíferas de clima temperado sob influência do carvão ativado e do BAP. ....	608
Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Genipa americana</i> L.: Efeito da orientação do explante no meio de cultura .....	423
Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Oxalis hedysaroides</i> . ....	396
Multiplicação <i>in vitro</i> de Pinhão-manso sob diferentes concentrações de BAP (6- Benzilaminopurina). ....	799
Multiplicação <i>in vitro</i> do maracujá-do-sono .....	944
<b>N</b>	
Novos híbridos de bananeira ornamental. ....	325
Número de nós e concentrações de AIB influenciando na indução de enraizamento e brotação de <i>Dendrobium nobile</i> . ....	1519
Novo sistema para micropropagação de <i>Baccharis trimera</i> tolerante ao cobre: conversão do ápice radicular em ápice vegetativo, Um .....	1080



## O

Observação ultra-estrutural de calos de ovários de Ingazeiro . . . . .	481
Obtenção de matrizes assépticas de pau-rosa ( <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke) através da germinação <i>in vitro</i> de sementes . . . . .	1220
Ordem de limitação de nutrientes em <i>Heliconia</i> “Golden Torch”, sob diferentes adubações. . . . .	1676
Organogênese direta de <i>Orthophytum mucugense</i> Wand. e Conceição a partir de plântulas em diferentes idades, submetidas a diferentes concentrações de ANA na presença de BAP. . . . .	579
Organogênese direta <i>in vitro</i> de explantes foliares de <i>Physalis angulata</i> L. - uma espécie medicinal . . . . .	519
Organogênese e regeneração de brotos adventícios <i>in vitro</i> de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per). . . . .	1182
Organogênese em patchouli ( <i>Pogostemon cablin</i> Benth.). . . . .	694
Organogênese <i>in vitro</i> de batata ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) cultivar Atlantic visando à transformação genética. . . . .	1244
Organogênese <i>in vitro</i> do híbrido de orquídea <i>Brassavola flagellaris</i> x <i>Cattleya harrisoniana</i> a partir de segmentos internodais. . . . .	986
Organogênese indireta e micropropagação de <i>eucalyptos camaldulensis</i> . . . . .	907
Otimização da micropropagação de bromélias ornamentais em sistema biofábrica. . . . .	725
Otimização da regeneração do amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> L.) <i>in vitro</i> . . . . .	330
Otimização do processo de multiplicação <i>in vitro</i> de violeta africana. . . . .	295

## P

Paisagismo como uma atividade transdisciplinar fomentando a educação ambiental, O. . . . .	1315
Parâmetros biométricos e morfológicos de sementes de <i>Tamarindus indica</i> L. . . . .	74
Parâmetros para a produção e conversão de sementes sintéticas de orquídeas e avaliação de utilização na conservação <i>in vitro</i> . . . . .	841
Pequizeiro-anão: Alternativa para o paisagismo . . . . .	1369

Perda de água de tecidos foliares de <i>Annona glabra</i> L. submetidos a diferentes ambientes de cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	523
Período de germinação de pólen de pessegueiro, ameixeira, nespereira e citros . . .	1277
Perception du paysage panoramique de l'île de Santa Catarina au XIX ème siècle comme fait favorisant du sens de beauté dans la caractérisation de ses paysages, La. . . . .	1342
Peso e viabilidade de rizomas de <i>Heliconia spp.</i> . . . . .	321
Planejamento paisagístico do prédio de cães e gatos (Hospital Veterinário) da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal. . . . .	1321
Plantas ornamentais da Amazônia: região do Rio Uatumã, Presidente Figueiredo, AM. . . . .	83
Poliploidização <i>in vitro</i> de <i>Lycopersicon esculentum</i> e monitoramento por citometria de fluxo. . . . .	1272
Pós-colheita de folhagem da falsa murta ( <i>Murraya paniculata</i> ) com a utilização de solução Pulsing de sacarose. . . . .	146
Pós-colheita de rosas: cv. Vegas e Sayonara. . . . .	111
Posição do explante na micropropagação de <i>Hyptis marrubioides</i> Epl. . . . .	1015
Potencial da Pitaya-do-Cerrado como planta ornamental . . . . .	1365
Potencial de produção de <i>Limonium sinuatum</i> na Serra Catarinense. . . . .	1778
Potencial ornamental de hastes de pripioca ( <i>Cyperus articulatus</i> ). . . . .	115
Praça Dr. Augusto Silva, Lavras-MG: uma visão de usos, costumes e regulamentos nas décadas de 1910 e 1920, A. . . . .	1361
Precocidade em antúrio cultivado em sistema hidropônico com substrato. . . . .	1811
Preparo de lâminas foliares de Pinhão-manso: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. . . . .	406
Pré-tratamento a 4°C no cultivo de micrósoros isolados de soja. . . . .	313
Primeiro relato de <i>Meloidogyne mayaguensis</i> em passiflora silvestre. . . . .	173
Primeiro relato de Podridão do colo em <i>Zantedeschia aethiopica</i> causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> em Minas Gerais. . . . .	163
Produção de alpínia sob cultivo protegido em função do espaçamento e da adubação em região litorânea do Estado do Ceará . . . . .	1739

Produção de batata semente livre de vírus. ....	411
Produção de biomassa em cultura de células vegetais de <i>Ageratum conyzoides</i> L. Sieber. ....	1113
Produção de flores de <i>Hippeastrum hybridum</i> cv Ferrari em diferentes tipos de substratos. ....	1289
Produção de frutos de pimentas ornamentais comestíveis em vasos. ....	1806
Produção de mudas arbóreas no estado de Minas Gerais ....	1359
Produção de mudas de <i>Etilingera elatior</i> através da cultura de tecidos vegetais <i>in vitro</i> ....	993
Produção de mudas de vinca em substratos com resíduos da casca de coco verde ....	1416
Produção de orquídeas <i>in vitro</i> sob luz natural. ....	1735
Produção <i>in vitro</i> de <i>Baccharis myriocephala</i> DC: Efeitos de auxinas e citocininas. .	898
Produtores de plantas ornamentais do estado de Minas Gerais ....	1298
Propagação “ <i>in vitro</i> ” de <i>Curcuma zedoaria</i> . ....	1019
Propagação de cerejeira ornamental ( <i>Prunus serrulata</i> ) por diferentes tipos de enxertias sobre porta-enxerto de pessegueiro ( <i>Prunus persica</i> Batsch (L.) cv. Okinawa) associado a diversos métodos de forçamento. ....	1534
Propagação de Maracujá-de-Papoco ( <i>Passiflora</i> Sp.) por Estaquia. ....	1501
Propagação de <i>Sinningia schiffneri</i> Fritsch utilizando substratos alternativos ao xaxim. ....	1728
Propagação e desenvolvimento de grama-preta em diferentes substratos. ....	1554
Propagação <i>in vitro</i> de brotos estiolados de curauá utilizando ANA, GA e KIN. ....	501
Propagação <i>in vitro</i> de <i>Dendranthema grandiflora</i> cv. Rage submetida a alterações espectrais: características anatômicas e fisiológicas. ....	367
Propagação <i>in vitro</i> de orquídeas brasileiras utilizando espuma de poliuretano em substituição ao ágar ....	733
Propagação <i>in vitro</i> de Tucumã do Amazonas ( <i>Astrocaryum aculeatum</i> Meyer, Arecaceae). ....	583
Propagação <i>in vitro</i> do anador ( <i>Justicia gendarussa</i> Burm. F.) a partir de gemas axilares. ....	617

Propagação por estaquia das plantas ornamentais lantana e tapete-ínglês em diferentes substratos. . . . .	1550
Propagação por estaquia em Orquídea <i>Vanilla chamissonis</i> Klotzsch. . . . .	1590
Propagação por sementes de <i>Verbena rigida</i> Spreng. – uma planta ornamental do sul do Brasil. . . . .	1493
Propagação vegetativa de <i>Ruscus hypoglossus</i> L. através de divisão de rizoma. . . . .	1574
Propagação vegetativa de <i>Sansevieria trifasciata</i> Herb. . . . .	1577
Proposta para classificação de capítulos de <i>Gerbera</i> spp. com base no índice de sobreposição das flores. . . . .	58

Q

Qualidade de luz e GA <sub>3</sub> no crescimento <i>in vitro</i> de <i>Cattleya loddigesii</i> ‘Tipo’*. . . . .	387
Qualidade fisiológica de sementes de <i>Dyckia goehringii</i> Gross & Rauh (Bromeliaceae) em função do estágio de maturação dos frutos . . . . .	1565

R

Regeneração de explantes de <i>Cattleyax mesquitae</i> a partir do estiolamento de segmentos caulinares . . . . .	412
Relação entre o conteúdo relativo de água, densidade estomática e formação de cera epicuticular em folhas de plantas micropropagadas de bananeira . . . .	1145
Relação entre o tempo de enraizamento <i>in vitro</i> e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. . . . .	1090
Remodelação da paisagem do entorno do Restaurante Universitário da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal. . . . .	1322
Remodelação do entorno do condomínio Edifício Itamaracá, município de Jaboticabal, SP. . . . .	1332
Remodelação do jardim do entorno do Edifício Sívio Starling Brandão na Universidade Federal de Viçosa - UFV, MG. . . . .	1360
Resposta da cv. Caipira ( <i>Musa spp.</i> , grupo AAA) a diferentes doses de BAP nas fases de estabelecimento e multiplicação da micropropagação. . . . .	865
Resposta da cv. Tropical ( <i>Musa spp.</i> , grupo AAAB) a diferentes doses de BAP nas fases de estabelecimento e multiplicação da micropropagação. . . . .	869
Resposta de calos de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum sp.</i> ) a diferentes tempos de exposição ao polietilenoglicol. . . . .	266

Resposta de <i>Epidendrum ibaguense</i> a doses e intervalos de aplicação de fertilizante mineral . . . . .	1684
Resposta de explantes de <i>Epidendrum ibacuense</i> (Orchidaceae) a diferentes concentrações e tempo de exposição ao hipoclorito de sódio e a diferentes antioxidantes . . . . .	816
Resposta de <i>Laelia purpurata</i> a diferentes doses e fertilizantes minerais e orgânicos. . . . .	1680
Resposta fotossintética de plantas de <i>Annona glabra</i> L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos. . . . .	665
Resposta organogenética <i>in vitro</i> de quiôidô ( <i>Ocimum gratissimum</i> L.) em função de concentrações de BAP. . . . .	626
Revitalização da Praça do Maçom, município de Jaboticabal, SP. . . . .	1320
Rizogênese <i>in vitro</i> de curauá ( <i>Ananas ere ctifolius</i> L.B.Smith) sob influência dos fitorreguladores AIB e ANA. . . . .	375
<b>S</b>	
Sacarose e qualidade de luz na propagação <i>in vitro</i> de plântulas de orquídea. . . . .	383
Segmentos nodais e gemas axilares utilizadas como fonte de explantes na micropropagação de <i>Tapeinochilos ananassae</i> Hassk. . . . .	415
Seleção e Potencial Ornamental de Espécies Nativas de Restingas do município do Rio de Janeiro . . . . .	35
Silenciamento mediado por RNA interferente do gene BE1 que codifica para a Enzima de Ramificação do Amido I (SBE I) em Milho ( <i>Zeamays</i> L.). . . . .	329
Similaridade genética entre indivíduos de palmeira-ráfia ( <i>Rhapis excelsa</i> (Thunberg) Henry ex. Rehder) avaliado por marcadores RAPD . . . . .	299
Sintomas e efeitos de deficiência de macronutrientes em helicônia 'Golden Torch' . . . . .	1626
Substrato com fibra de coco e adubações no cultivo de <i>Crassula capitella</i> . . . . .	1714
Substratos alternativos ao ágar para o cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bifrenaria tyrianthina</i> (Loudon) Rchb. f. (Orchidaceae) . . . . .	780
Substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno na aclimatização de <i>Cattleya</i> (Orchidaceae) . . . . .	1774
Sulfato de adenina e BAP no crescimento <i>in vitro</i> de porta-enxertos de videira. . . . .	807

Superação da dormência em sementes de <i>Cássia fistula</i> L. ....	1503
Superação da dormência em sementes de tamareira-anã ( <i>Phoenix roebelenii</i> O'Brien). ....	1616

## T

Tempo resposta de calos embriogênicos de duas variedades de cana-de-açúcar submetidos a um estresse salino ....	7
Teores de Ca, Mg, P, K, S, Fe, Mn, Zn e B em folhas de <i>Phalaenopsis spp.</i> em resposta à aplicação de doses de calcário em vaso. ....	1710
Teores de clorofila de plantas de <i>Annona glabra</i> L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos. ....	648
Teores de macronutrientes em gérbera em razão da condutividade elétrica sob fertirrigação. ....	1668
Teores de macronutrientes em plantas de helicônia 'Golden Torch' submetidas a estresse nutricional. ....	1627
Testes de desenvolvimento <i>in vitro</i> com helicônia Dwarf Jamaica utilizando agentes solidificantes e BAP. ....	686
Tipos de estaca na indução de enraizamento e brotação de <i>Dendrobium nobile</i> com uso de AIB. ....	1466
Tipos de estacas e substratos no enraizamento de Jambolão ( <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels ). ....	1598
Toxidez causada por óleo de nim em <i>Laelia purpurata</i> (Orquidaceae). ....	179
Toxidez causada por óleo mineral em <i>Laelia purpurata</i> (Orquidaceae). ....	159

## U

Uso de antibióticos no estabelecimento de <i>Heliconia rostrata</i> a partir de gema apical. ....	644
Uso de <i>Aspilia setosa</i> Griseb. no paisagismo e a sua propagação, O. ....	1472
Uso de diferentes fontes de carboidratos em meio MS na germinação de <i>Cattleya labiata</i> (ORCHIDACEAE). ....	922
Uso de diferentes substratos no cultivo da bromélia ornamental <i>Tilandsia cyanea</i> .	1794

Uso de fitorreguladores no enraizamento de estacas de <i>Codiaeum variegatum</i> (L.) A. Juss..	1527
Uso de GA <sub>3</sub> na embebição de sementes de jerivá ( <i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman).	1488
Uso de GA <sub>3</sub> na embebição de sementes de palmeira areca-bambu ( <i>Dypsis lutescens</i> H. Wendl.)	1486
Uso de GA <sub>3</sub> na embebição de sementes de palmeira cariota ( <i>Caryota mitis</i> Lour.)	1477
Uso de GA <sub>3</sub> na embebição de sementes de palmeira fênix ( <i>Phoenix roebelenii</i> O'Brien).	1487
Uso de GA <sub>3</sub> na embebição de sementes de palmeira seafórtia ( <i>Archontophoenix cunninghamii</i> H. Wwndel. & Drude.	1483
Uso de indutores de enraizamento em estacas semilenhosas de Hibisco ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.)	1434
Uso de indutores de enraizamento na produção de mudas por estaquia de cróton ( <i>Codiaeum variegatum</i> Blume).	1417
Uso de reguladores de crescimento na indução de brotações em segmentos nodais de Jambo Amarelo ( <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston).	515
Uso do ácido giberélico na embebição de sementes de palmeira latânia ( <i>Latania commersonil</i> J.F. Gmelin).	1484
Utilização da Praça Dr. Augusto Silva, Lavras - MG, segundo seus freqüentadores.	1306
Utilização da solução "Pulsing" na conservação pós-colheita de <i>Heliconia wagneriana</i> Petersen.	145
Utilização de adubo de liberação lenta na propagação de <i>Cordia superba</i> Cham	1640
Utilização de adubos de liberação lenta na produção de mudas de Cosmea.	1464
Utilização de antioxidantes na micropropagação de bananeira 'Prata -Anã'	1502
Utilização de BAP na organogênese <i>in vitro</i> em dedaleiro.	857
Utilização de espécies ornamentais nativas do Cerrado nos pátios das Escolas Municipais Rurais de Mineiros-Goiás	1327
Utilização de parafina na conservação pós-colheita de estacas de <i>Acalifa wilkesiana</i> . Mull. Arg	1460
Utilização de substratos alternativos ao xaxim para o crescimento de um híbrido de <i>Cattleya Lindley</i> (ORCHIDACEAE)	1675

Utilização de três diferentes fitorreguladores no enraizamento de <i>Allamanda cathartica</i> L. ....	1457
Utilização do PPM (Plant Preservative Mixture) para controle da contaminação visando o estabelecimento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook. ....	621

V

Valorização da biodiversidade urbana em Curitiba. ....	1297
Variação somaclonal em mudas micropropagadas de helicônia, <i>Heliconia bihai</i> cv. <i>Lobster Claw I</i> (HELICONIACEAE). ....	361
Verificação da ocorrência de variação somaclonal em plantas de <i>Carica papaya</i> L. obtidas por meio da embriogênese somática. ....	1267
Viabilidade e germinação <i>in vitro</i> de grãos de pólen de <i>bananeiras Musa balbisiana</i> Cola (BB). ....	282
Vida pós-colheita de crisântemo com o uso da translocação de sacarose e solução Pulsing. ....	144



# Índice de Títulos por Áreas

---

## Botânica e Fisiologia

Aclimação e desenvolvimento <i>in vivo</i> de cana-de-açúcar propagada em sistema de baixo-custo. . . . .	1
Análise da produção de calos em <i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex. Maiden em diferentes concentrações de reguladores de crescimento. . . . .	85
Análise de crescimento do amarílis ( <i>Hippeastrum X hybridum</i> Hort.) cultivado a pleno sol. . . . .	20
Análise do perfil protéico de calos embriogênicos de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum officinarum</i> ) sob estresse salino. . . . .	21
Análise proteômica comparativa durante a maturação de culturas embriogênicas de <i>Araucaria angustifolia</i> . . . . .	12
Anatomia da Epiderme de Brácteas em Genótipos de <i>Heliconia (Heliconiaceae)</i> . . . . .	66
Árvores Nativas e Exóticas Usadas como Ornamentais no Campus do Pici. . . . .	84
Bromélias da Mata Atlântica do Parque Estadual Serra do Conduru no Sul da Bahia e potenciais espécies para cultivo. . . . .	88
Conteúdo endógeno de AIA, ABA, poliaminas e aminoácidos na maturação de embriões somáticos de <i>Ocotea catharinensis</i> . . . . .	5
Correlação entre características da germinação de sementes e o potencial regenerativo de diferentes cultivares de <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. . . . .	26
Crescimento de mandacaru em diferentes substratos em tubetes. . . . .	15
Crescimento e desenvolvimento de gametófitos de avencão em diferentes meios nutritivos. . . . .	13
Dimensões dos estômatos e densidade estomática de folhas de <i>Tabebuia avellanedae</i> Lor. ex Gris. ( <i>Bignoniaceae</i> ) <i>in vitro</i> e <i>ex vitro</i> . . . . .	45
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de <i>Cattleya labiata</i> em diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> . . . . .	36
Determinação de doses de NaCl para a realização de seleção <i>in vitro</i> em calos de cana de açúcar . . . . .	16
Diversidade, Riqueza e Distribuição de Bromélias e Orquídeas epífitas na Mata de Galeria do Rio das Antas, Poços de Caldas – MG. . . . .	89
Efeito da integridade do cotilédone sobre o potencial regenerativo de diferentes variedades de <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. . . . .	78

Efeito do estresse hídrico em tabaco cultivado <i>in vitro</i> . . . . .	53
Efeito do estresse salino em tabaco cultivado <i>in vitro</i> . . . . .	49
Eficiência de reguladores no porte e qualidade de plantas de girassol cultivadas em vaso com diferentes substratos. . . . .	57
Eficiência de soluções enzimáticas e do tempo de incubação na obtenção de protoplastos de bastão-do-imperador . . . . .	31
Flora do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima: Conhecer Para Preservar . . . . .	41
Fracionamento de carboidratos em hastes florais de helicônia após senescência. . . . .	70
Fracionamento de carboidratos em hastes recém colhidas de helicônia cultivar Golden Torch. . . . .	62
Indução da embriogênese somática em cana-de-açúcar. . . . .	6
Indução do florescimento de <i>Hemerocallis hybrida</i> cv. Graziela Barroso após a aplicação de ácido giberélico (GA <sub>3</sub> ). . . . .	11
Influência do fotoperíodo na altura média de plantas de celósia ( <i>Celosia argentea</i> ), no período de verão, no Submédio São Francisco. . . . .	82
Macronutrientes, aspectos nutricionais e bioquímicos no crescimento de brotações de <i>Eucalyptus grandis in vitro</i> . . . . .	14
Parâmetros biométricos e morfológicos de sementes de <i>Tamarindus indica</i> L. . . . .	74
Plantas ornamentais da Amazônia: região do Rio Uatumã, Presidente Figueiredo, AM. . . . .	83
Proposta para classificação de capítulos de <i>Gerbera</i> spp. com base no índice de sobreposição das flores. . . . .	58
Seleção e Potencial Ornamental de Espécies Nativas de Restingas do município do Rio de Janeiro . . . . .	35
Tempo resposta de calos embriogênicos de duas variedades de cana-de-açúcar submetidos a um estresse salino . . . . .	7

## Colheita e Pós-Colheita

Alterações físicas e físico-químicas em <i>Heliconia bihai</i> L. após tratamento com solução de fortificação em sacarose. . . . .	105
Armazenamento de rosa ( <i>Rosa</i> spp.) em câmara fria e diferentes soluções conservantes. . . . .	95
Condicionamento em pós-colheita de <i>Etilingera elatior</i> (Jack) R.M. Smith . . . . .	128
Conservação pós-colheita de <i>Ixora</i> vermelha sob diferentes soluções conservantes e condições de armazenamento. . . . .	123
Conservação pós-colheita de <i>Spathyphyllum walisii</i> Regel com a utilização de solução de "Pulsing". . . . .	143
Controle da ocorrência de danos mecânicos em hastes florais de <i>Heliconia bihai</i> cv. Lobster Claw I (HELICONIACEAE). . . . .	94
Efeito da solução de fortificação com sacarose na alteração de parâmetros físico e físico-químicos em <i>Dendranthema grandiflorum</i> (Ramat) Tzvelev. . . . .	104
Efeito de ácido giberélico (GA) e sacarose em pós-colheita de crisântemo var. 'chá repin'. . . . .	99
Efeito do GA <sub>3</sub> e de diferentes períodos sem hidratação após a colheita na durabilidade comercial de hastes de priprioça ( <i>Cyperus articulatus</i> ). . . . .	119
Efeito do tipo de armazenamento na durabilidade pós-colheita de hastes florais de <i>Heliconia</i> spp. . . . .	136
Efeitos de diferentes tratamentos na pós colheita de Gérbera ( <i>Gérbera jamensonii</i> ) de corte. . . . .	106
Eficiência na absorção de água de rosas variedade Tineke mantidas em diferentes conservantes florais. . . . .	129
Envolvimento das enzimas peroxidase e polifenoloxidase no escurecimento de inflorescências de <i>Heliconia bihai</i> . . . . .	140
Influência do revestimento biodegradável nos sintomas de injúria por frio em inflorescências de <i>Heliconia bihai</i> . . . . .	142
Longevidade floral de <i>H. bihai</i> tratadas com solução de benziladenina. . . . .	141
Longevidade pós-colheita de flores de rosa, tratadas com 1-MCP em câmara fria. . . . .	103
Manejo pós-colheita de <i>Phormium tenax</i> em água e sintomas indicadores de perda de valor comercial. . . . .	132
Pós-colheita de folhagem da falsa murta ( <i>Murraya paniculata</i> ) com a utilização de solução <i>Pulsing</i> de sacarose. . . . .	146

Pós-colheita de rosas: cv. Vegas e Sayonara. ....	111
Potencial ornamental de hastes de priprioca ( <i>Cyperus articulatus</i> ). ....	115
Utilização da solução “Pulsing” na conservação pós-colheita de <i>Heliconia wagneriana</i> Petersen. ....	145
Vida pós-colheita de crisântemo com o uso da translocação de sacarose e solução Pulsing. ....	144

## **Economia e Mercado**

Avaliação da atividade da enzima bromelina em resíduo agroindustrial de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Smith). . . . .	1817
Diagnóstico da produção de rosas em Vitória da Conquista – Bahia. . . . .	1821

## Fitossanidade

Comparação de morangueiro provenientes de mudas de propagação convencional e micropropagadas quanto à ocorrência de doenças e à produção. . . . .	183
Efeito da fitotoxidez de antibióticos no controle de contaminações bacterianas no cultivo <i>in vitro</i> de bastão-do-imperador . . . . .	150
Efeito da luz e da posição dos explantes na micropropagação de Cagaita. . . . .	186
Efeito de agentes desinfestantes em propágulos do abacaxizeiro <i>in vitro</i> . . . . .	167
Efeito de diferentes concentrações de <i>Heterodera glycines</i> em amarílis ( <i>Hippeastrum</i> spp.). . . . .	193
Efeitos de diferentes substâncias naturais na germinação “ <i>in vitro</i> ” de <i>Uromyces transversalis</i> (Thümen) Winter em Gladiolo ( <i>Gladiolus</i> sp.). . . . .	170
Fitonematóides detectados em <i>Passiflora</i> spp. . . . .	174
Fungos endofíticos isolados de <i>Zantedeschia</i> sp . . . . .	158
Germinação e controle da contaminação <i>in vitro</i> de sementes de Pequi ( <i>Caryocar brasiliense</i> Camb.) . . . . .	189
Hipoclorito de sódio na assepsia e resposta na multiplicação <i>in vitro</i> de cana de açúcar. . . . .	164
Identificação de fungo patogênico em plantas de tango ( <i>Solidago canadensis</i> ). . . . .	243
Levantamento de doenças em plantas ornamentais diagnosticadas na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, no período de 2002 a 2006 . . . . .	175
Levantamento de pragas e caracterização de sintomas de infestação em plantas ornamentais no município de Ilha Solteira-SP. . . . .	154
Primeiro relato de <i>Meloidogyne mayaguensis</i> em <i>passiflora</i> silvestre. . . . .	173
Primeiro relato de Podridão do colo em <i>Zantedeschia aethiopica</i> causada por <i>Sclerotium rolfii</i> Em Minas Gerais. . . . .	163
Toxidez causada por óleo de nim em <i>Laelia purpurata</i> (Orquidaceae). . . . .	179
Toxidez causada por óleo mineral em <i>Laelia purpurata</i> (Orquidaceae). . . . .	159

## Genética e Melhoramentos

Adequação de reguladores de crescimento do meio MT para o cultivo de embriões imaturos de tangerineira 'cleópatra' . . . . .	270
Análise de expressão transiente de gene mediada de <i>Agrobacterium</i> em frutos de banana. . . . .	281
BRS estrela do cerrado: híbrido de <i>passiflora</i> para uso como planta ornamental . . .	334
BRS roseflora: híbrido de <i>passiflora</i> para uso em paisagismo . . . . .	340
BRS rubiflora: híbrido de <i>passiflora</i> para uso como planta ornamental . . . . .	337
Caracterização de variedades de <i>Gladiolus sp.</i> por meio de izoenzimas. . . . .	277
Caracterização molecular e morfológica de espécies de Helicônias. . . . .	317
Certificação da pureza genética em <i>Gladiolus sp.</i> por meio de marcadores morfológicos. . . . .	257
Como reduzir o porte de <i>Hemerocallis</i> ? . . . . .	294
Diversidade genética com base em características morfológicas e de marcadores moleculares (RAPD) em <i>passifloras</i> silvestres ornamentais . . . . .	343
Efeito de diferentes concentrações hormonais e antioxidantes sobre a indução de calos em algodão ( <i>G. hirsutum</i> L). . . . .	248
Efeito do BAP e 2IP sobre a indução de calos e regeneração <i>in vitro</i> de algodão ( <i>G. hirsutum</i> L.). . . . .	252
Effect of the GSNO in the Genic Expression in Cells Suspension of Sugar Cane. . .	256
Estudo da embriogênese somática em duas variedades de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum sp.</i> ). . . . .	262
Estudo da fertilização <i>in vivo</i> em bananeiras diplóides e triplóides. . . . .	286
Estudos reprodutivos e citológicos em gérbera visando cruzamentos sexuais. . . . .	305
Germinação de pólen <i>in vitro</i> de bananeiras ornamentais. . . . .	290
Híbridos de abacaxi com potencial ornamental. . . . .	274
Híbridos de <i>passifloras</i> UESC-HD13 confirmados pela análise de RAPD, morfologia e citogenética. . . . .	347
Indução de calos embriogênicos nas variedades RB 72 454 e SP 81 3250 de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum sp.</i> ). . . . .	304

Influência de meios de cultura e suplementações hormonais sobre a indução e desenvolvimento de calos <i>in vitro</i> em variedades de <i>Gossypium hirsutum</i> L. . . .	244
Isolamento e cultivo de micrósporos e pólen de feijão: primeiros resultados. . . . .	309
Novos híbridos de bananeira ornamental. . . . .	325
Otimização da regeneração do amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> L.) <i>in vitro</i> . . . . .	330
Otimização do processo de multiplicação <i>in vitro</i> de violeta africana. . . . .	295
Peso e viabilidade de rizomas de <i>Heliconia</i> spp. . . . .	321
Pré-tratamento a 4 °C no cultivo de micrósporos isolados de soja. . . . .	313
Resposta de calos de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum</i> sp.) a diferentes tempos de exposição ao polietilenoglicol. . . . .	266
Silenciamento mediado por RNA interferente do gene <i>be1</i> que codifica para a Enzima de Ramificação do Amido I (SBE I) em Milho ( <i>Zea mays</i> L.). . . . .	329
Similaridade genética entre indivíduos de palmeira-ráfia ( <i>Rhapis excelsa</i> (Thunberg) Henry ex. Rehder) avaliado por marcadores RAPD . . . . .	299
Viabilidade e germinação <i>in vitro</i> de grãos de pólen de bananeiras <i>Musa balbisiana</i> Cola (BB). . . . .	282



## Micropropagação

Ácido bórico e sulfato de zinco hidratado no crescimento <i>in vitro</i> de duas espécies frutíferas. ....	401
Aclimatização de cultivares de bananeira, influenciada por alterações no ambiente de cultivo <i>in vitro</i> . ....	1050
Aclimatização de <i>Dyckia maritima</i> Baker (Bromeliaceae) em hidropônia. ....	1165
Aclimatização de genótipos de hortelã-japonesa ( <i>Mentha arvensis</i> ). ....	506
Aclimatização de mudas micropropagadas de gerânio ( <i>Pelargonium graveolens</i> L.).	770
Aclimatização de mudas micropropagadas de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.) em diferentes substratos. ....	1177
Aclimatização de <i>Oncidium baueri</i> ( <i>Orchidaceae</i> ) utilizando auxina ....	734
Aclimatização de plantas de porta-enxertos de macieira ( <i>Malus domestica</i> ), provenientes da micropropagação em substratos porosos. ....	376
Aclimatização de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Perrine) ....	557
Ajuste de protocolo para propagação <i>in vitro</i> para os clones 01, 04 e 08 de <i>Orthophytum grossiorum</i> Leme & Paula. ....	545
Ajuste de protocolo para propagação <i>in vitro</i> para os clones 05 e 09 de <i>Orthophytum grossiorum</i> Leme & Paula. ....	549
Alterações anatômicas em plantas de bananeira 'Japira' (AAAB) cultivadas <i>in vitro</i> e durante a aclimatização. ....	1057
Análise da concentração de BAP (Benzylaminopurina) no crescimento <i>in vitro</i> do mangarito ( <i>Xanthosoma mafaffa</i> Schott). ....	600
Análise do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em função do substrato e adubo de liberação controlada. ....	742
Análise Ultra-estrutural de Calos de Anteras de Ingazeiro ....	473
Análise ultra-estrutural de calos de mamoneiro cv. IAC-80. ....	776
Análises isoenzimáticas em somaclones de bananeira Berlim ....	710
Análises morfo-histológicas da embriogênese somática em açazeiro ( <i>Euterpe oleraceae</i> Mart.) ....	845
Anatomia de <i>Dendranthema grandiflora</i> TZVELEV cv. Rage micropropagada sob diferentes condições de luz e sistemas de vedação. ....	362

Anatomia foliar comparada de seis espécies de anonáceas cultivadas <i>in vitro</i> e em casa de vegetação. . . . .	998
Anatomia foliar de cultivares de bananeira, influenciada por mudanças no ambiente de cultivo na fase de enraizamento/alongamento <i>in vitro</i> . . . . .	746
Aspectos da germinação <i>in vitro</i> de sementes de maracujazeiro <i>Passiflora gibertii</i> N. E. Brown. . . . .	561
Aspectos nutricionais do meio e influência da divisão longitudinal da brotação sobre o enraizamento <i>in vitro</i> de cultivares de bananeira . . . . .	884
Assepsia de explantes de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> L.). . . . .	931
Assepsia de rizomas e inoculação de ápices caulinares de <i>Curcuma alismatifolia in vitro</i> . . . . .	570
Avaliação da capacidade morfogenética <i>in vitro</i> de diferentes genótipos de uma progênie de abacaxizeiro . . . . .	1003
Avaliação da fidelidade genética de propágulos micropropagados de abacaxizeiro-ornamental [ <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> (Lindley) Coppins & Leal] utilizando marcadores moleculares tipo RAPD. . . . .	1130
Avaliação de brotações de explantes de crisântemo em função do número de gemas. . . . .	410
Avaliação de diferentes meios nutritivos para a germinação assimbiótica de <i>Cattleya labiata</i> . . . . .	455
Avaliação de métodos de assepsia e tipos de explantes para estabelecimento <i>in vitro</i> de pinhão manso ( <i>Jatropha curcas</i> L.). . . . .	969
Avaliação do crescimento <i>in vitro</i> de <i>Orthophytum mucugense</i> na presença de diferentes concentrações de giberelina. . . . .	792
Avaliação do desenvolvimento e propagação de mudas <i>in vitro</i> de <i>Zantedeschia spp</i> . em recipientes plásticos com filtro e sem filtro inseridos na tampa. . . . .	599
Avaliação do efeito do fungicida sistêmico cerconil sobre a regeneração e micropropagação, visando a eliminação dos fitorreguladores utilizados para clonagem de cana-de-açúcar. . . . .	540
Avaliação do potencial para a produção de brotos de <i>Norantea brasiliensis</i> Choisy (Marsipalaceae) a partir de plantas germinadas e propagadas <i>in vitro</i> . . . . .	464
Brassinosteróide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro . . . . .	1135

Calogênese a partir de segmentos de hipocótilo de mamona cv. BRS 149 Nordestina . . . . .	788
Calogênese de <i>Passiflora gibertii</i> a partir de segmentos cotiledonares. . . . .	565
Calogênese e brotações <i>in vitro</i> de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.) induzidas por diferentes concentrações de citocininas e auxina. . . . .	1200
Calogênese e organogênese <i>in vitro</i> a partir de segmentos nodais de cerejeira ( <i>Amburana acreana</i> (Ducke) A.C. Sm.) da Amazônia Ocidental: Estabelecimento e regeneração de brotos*. . . . .	811
Calogênese em cotilédones de nim utilizando TDZ. . . . .	820
Calogênese em diferentes tipos de explantes de paricá na presença de 2,4-D. . . . .	903
Calogênese em explantes de feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) . . . . .	702
Calogênese em segmentos nodais de ingazeiro – aspectos ultra-estruturais . . . . .	477
Calogênese <i>in vitro</i> de lima ácida ‘taiti’ . . . . .	677
Características anatômicas de plântulas de orquídeas submetidas a diferentes qualidades de luz. . . . .	427
Características anatômicas foliares de brotações de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Sm) propagadas <i>in vitro</i> . . . . .	496
Características estomáticas em folhas formadas <i>in vitro</i> , folhas persistentes e aclimatizadas de bananeira ‘Preciosa’ (AAAB) . . . . .	803
Clonagem e Estudo Funcional do Promotor do Gene DREB de Mamona – <i>Ricinus communis</i> L. . . . .	1073
Comparação de fibras foliares de brotações de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Sm) propagadas pelo método convencional e pelo estiolamento <i>in vitro</i> . . . . .	484
Concentração de sais do meio MS e ambiente de cultivo na indução de calos organogênicos de <i>Passiflora gibertii</i> . . . . .	622
Concentrações de cinetina na indução de brotações <i>in vitro</i> de mangabeira . . . . .	880
Crescimento <i>in vitro</i> de <i>Oncidium baueri</i> (Orchidaceae) em diferentes concentrações de sacarose e macronutrientes . . . . .	729
Crescimento vegetativo e resposta ao estresse hídrico de cafeeiros propagados por embriogênese somática e por sementes. . . . .	435
Cultivo <i>in vitro</i> de segmentos nodais de variedades silvestres de abacaxi. . . . .	657

Cultura de embriões zigóticos e indução de embriogênese somática em <i>Campomanesia guasumifolia</i> Berg (sete-capotes). . . . .	588
Curva de crescimento de calos de maracujazeiro <i>Passiflora gibertii</i> N. E. Brown. . .	553
Desenvolvimento de mudas de <i>Cattleya</i> (Orchidaceae) em diferentes recipientes . .	750
Desenvolvimento e multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Heliconia bihai</i> . . . . .	662
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de brotos micropropagados de <i>Orthophytum mucugense</i> por organogênese direta, em diferentes fontes de carbono. . . . .	575
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de raízes em brotos adventícios de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.) sob diferentes concentrações de AIB e Carvão Ativado. . . . .	1169
Desinfestação de meio de cultura e recipientes por hipoclorito de sódio em micropropagação de bananeira. . . . .	587
Desinfestação de sementes de teca ( <i>Tectona grandis</i> Linn. f.) para germinação sob condições <i>in vitro</i> . . . . .	895
Desinfestação e germinação <i>in vitro</i> de sementes de faveleira ( <i>Cnidoscopus phyllacanthus</i> (M. Arg.) Pax & K. Hoffm). . . . .	1120
Diferentes concentrações de AIB no enraizamento <i>in vitro</i> de <i>Crossandra</i> <i>infundibuliformis</i> . . . . .	397
Efeito da Água de coco na indução de calos organogênicos de <i>Passiflora</i> <i>gibertii</i> (Passifloraceae). . . . .	630
Efeito da assepsia em sementes após a retirada do tegumento sobre a regeneração, contaminação e o desenvolvimento de propágulos de mamoneira ( <i>Ricinus communis</i> L.) cultivados <i>in vitro</i> . . . . .	1192
Efeito da cinetina e picloran no cultivo <i>in vitro</i> de pequiizeiro. . . . .	1114
Efeito da concentração de BAP (Benzylaminopurina) no fator de multiplicação <i>in vitro</i> do mangarito ( <i>Xanthosoma mafaffa</i> Schott). . . . .	642
Efeito da concentração do ANA (Ácido Naftalenoacético) no enraizamento <i>in vitro</i> de brotos de abacaxizeiro ( <i>Ananas comosus</i> ) . . . . .	1008
Efeito da fragmentação do rizoma na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giul. . . . .	1119
Efeito da individualização de nós de segmentos caulinares estiolados de <i>Ananas</i> <i>comosus</i> na proliferação de brotos <i>in vitro</i> . . . . .	1129
Efeito da luz, vedação e carvão ativado na micropropagação de cagaita. . . . .	1186

Efeito da solução NPK na micropropagação <i>in vitro</i> de cana-de-açúcar, objetivando reduzir custos de produção. . . . .	673
Efeito das condições de conservação <i>in vitro</i> no resgate e micropropagação de plantas de abacaxi. . . . .	510
Efeito de ANA e TDZ na calogênese <i>in vitro</i> de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Smith). . . . .	902
Efeito de auxinas no enraizamento <i>in vitro</i> de dedaleiro. . . . .	853
Efeito de carvão ativado e do grafite no crescimento <i>in vitro</i> de <i>Cattleya bicolor</i> Lindl. (Orchidaceae). . . . .	351
Efeito de citocininas, ANA e meio de cultura na indução de calos em anteras de Trepadeira-Jade . . . . .	932
Efeito de concentrações de benzilaminopurina (BAP) e volume do meio de cultura na regeneração de microplantas de <i>Ananas bracteatus</i> Tricolor . . . . .	431
Efeito de concentrações de benzilaminopurina, formulação do meio de cultura e o período de subcultivo na produção de brotações adventícias no abacaxizeiro ornamental . . . . .	990
Efeito de diferentes auxinas e de giberelina na indução de brotos estiolados <i>in vitro</i> de abacaxi Imperial para propagação clonal por segmentos nodais. . .	1036
Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D e carvão ativado na germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos imaturos de Macaúba ( <i>Acrocomia aculeata</i> ). . .	970
Efeito de diferentes concentrações de ácido silícico e do meio de cultura MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera . . . . .	1045
Efeito de diferentes concentrações de AIB na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes. . . . .	873
Efeito de diferentes concentrações de BAP e Cinetina na micropropagação <i>in vitro</i> das variedades RB867515 e RB855156 de cana-de-açúcar ( <i>Saccharum spp</i> ). . . . .	1062
Efeito de diferentes doses de ANA e BAP na multiplicação <i>in vitro</i> de crisântemo ( <i>Dentratheuma grandiflora</i> ). . . . .	584
Efeito de diferentes fontes de citocinina na micropropagação de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes). . . . .	767
Efeito de diferentes fungicidas na descontaminação de segmentos nodais de mangueira ( <i>Mangifera indica</i> L.) . . . . .	1205

Efeito de doses de BAP na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Zantedeschia cv Neroli</i> em recipientes plásticos. . . . .	596
Efeito de meio, BAP e fotoperíodo na micropropagação de antúrio var. Eidibel. . . . .	380
Efeito de reguladores de crescimento e do carvão ativado na organogênese de variedade botânica de mangabeira da região Nordeste * . . . . .	829
Efeito de reguladores de crescimento e meio de cultura na indução de calos em pedúnculos florais de Trepadeira Jade . . . . .	938
Efeito de substratos na formação de mudas de curauá ( <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> L.B. Smith) . . . . .	892
Efeito de zeatina e concentração do meio de cultura MS na multiplicação <i>in vitro</i> de gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> ) . . . . .	1082
Efeito do 2,4 D na indução de calos em explantes de jenipapapeiro ( <i>Genipa americana</i> L.) . . . . .	690
Efeito do AIB e BAP na organogênese <i>in vitro</i> de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> L.) . . . .	1049
Efeito do ANA e AIB na indução de calos em explantes de jenipapapeiro ( <i>Genipa americana</i> L.) . . . . .	698
Efeito do BAP e ANA na micropropagação de caroá [ <i>Neoglaziovia variegata</i> (Arr. Cam.) Mez.] . . . . .	488
Efeito do BAP e ANA no cultivo <i>in vitro</i> de pequi. . . . .	1074
Efeito do BAP e do GA <sub>3</sub> no desenvolvimento <i>in vitro</i> do híbrido <i>Cattleya labiata</i> x <i>C. granulosa</i> e <i>C. persivaliana</i> . . . . .	469
Efeito do BAP na multiplicação de diferentes espécies de helicônias. . . . .	381
Efeito do benomyl e do biocloreto de mercúrio na desinfestação de explantes de palma forrageira ( <i>Opuntia ficus</i> ) . . . . .	974
Efeito do enriquecimento de meio nutritivo por complexos orgânicos e morfogênese <i>in vitro</i> de <i>Cattleya walkeriana</i> Gardner (ORCHIDACEAE). . . . .	612
Efeito do GA <sub>3</sub> e meios de cultura na germinação <i>in vitro</i> de sementes de Ipê-Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ). . . . .	398
Efeito do hormônio BAP em meristemas apicais de duas cultivares de Maracujazeiro-azedo ( <i>Passiflora edulis</i> Sims) em meio MS com diferentes vitaminas. . . . .	1061
Efeito do número de explantes, meio de cultura e fotoperíodo na micropropagação de abacaxi ornamental <i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i> . . . . .	382

Efeito do número de plantas por frasco e de carvão ativado no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera. . . . .	941
Efeito do pH no meio de cultura líquido e sólido em cultivos de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti. . . . .	1149
Efeito do potencial osmótico na germinação e crescimento <i>in vitro</i> de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti visando à conservação <i>in vitro</i> . . . . .	1160
Efeito do silicato de potássio e do meio de cultura MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de Gérbera . . . . .	952
Efeito residual de diferentes fontes de citocinina na rizogênese <i>in vitro</i> de mangabeira ( <i>Hancornia speciosa</i> Gomes). . . . .	773
Efeito residual de diferentes fontes de silício e concentrações de MS na aclimatização de gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> ) cultivadas <i>in vitro</i> . . . . .	1054
Efeito residual do BAP (6- benzilaminopurina) em subcultivos <i>in vitro</i> de <i>Heliconia rostrata</i> Ruiz & Pavón. . . . .	439
Efeitos da luz natural e sacarose na perda de água e anatomia foliar de plantas de bananeira, na fase de enraizamento/alongamento <i>in vitro</i> . . . . .	961
Efeitos das auxinas na germinação <i>in vitro</i> de sementes de porongo ( <i>Lagenaria siceraria</i> (Mol.) Stand.) – Cucurbitaceae. . . . .	1173
Efeitos de fontes de Silício e diferentes meios de cultura na propagação <i>in vitro</i> de orquídeas. . . . .	721
Efeitos do silicato de cálcio e diferentes concentrações do meio de cultura MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera . . . . .	1041
Efeito do silicato de sódio e de diferentes concentrações de MS no desenvolvimento <i>in vitro</i> de gérbera . . . . .	956
Eficiência da cinetina na propagação <i>in vitro</i> de <i>Rosa</i> sp. . . . .	888
Embriogênese somática indireta em explantes foliares de café Conilon. . . . .	451
Enraizamento de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti. . . . .	1144
Enraizamento <i>in vitro</i> de brotações adventícias de variedade botânica de mangabeira do Nordeste. . . . .	715
Enraizamento <i>in vitro</i> de brotações oriundas de plântulas de erva-mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> ) . . . . .	1081
Enraizamento <i>in vitro</i> e aclimação de propágulos de <i>Vanilla planifolia</i> . . . . .	605

Estabelecimento de condições para cultivo e floração de plantas <i>in vitro</i> , visando à sua comercialização direta. . . . .	1108
Estabelecimento de protocolo para cultivo <i>in vitro</i> de <i>Cattleya x mesquिताe</i> autofecundada. . . . .	413
Estabelecimento do cultivo <i>in vitro</i> de <i>Canavalia rosea</i> (Sw.) DC (Fabaceae) . . . . .	669
Estabelecimento <i>in vitro</i> de ápices caulinares de <i>Curcuma alismatifolia</i> . . . . .	1086
Estabelecimento <i>in vitro</i> de boldo-de-jardim ( <i>Plectranthus ornatus</i> , Lamiaceae). . . . .	1136
Estabelecimento <i>in vitro</i> de Caju-de-Árvore-do-Cerrado a partir de segmentos nodais inoculados em diferentes concentrações dos sais MS em ausência e presença de luz. . . . .	1196
Estabelecimento <i>in vitro</i> de helicônia a partir de ápice floral . . . . .	405
Estabelecimento <i>in vitro</i> de <i>heliconia rostrata</i> a partir de embriões zigóticos. . . . .	653
Estabelecimento <i>in vitro</i> de segmentos nodais do híbrido <i>Eucalyptus benthamii</i> Maiden & Cambage x <i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden. . . . .	978
Estabelecimento <i>in vitro</i> e calogênese de <i>Rosa x hybrida</i> cv. Vegas. . . . .	1181
Estimativa da taxa de multiplicação de brotos em seções caulinares de uma nova cultivar de abacaxi, no primeiro ciclo de estiolamento e proliferação de gemas <i>in vitro</i> . . . . .	1037
Estudos do controle da oxidação e da contaminação visando o estabelecimento da cultura <i>in vitro</i> de <i>Mezilaurus navalium</i> (Allemão) Taub. ex Mez (Lauraceae). . . . .	459
Estudos preliminares do desenvolvimento <i>in vitro</i> do híbrido <i>Cattleya labiata</i> x <i>Cattleya granulosa</i> . . . . .	1157
Fontes de nitrogênio no crescimento <i>in vitro</i> de plântulas de orquídea <i>Cattleya loddigesii</i> 'Tipo'. . . . .	391
Formação de calo em explantes foliares de <i>Cattleya schilleriana</i> (ORCHIDACEAE) <i>in vitro</i> . . . . .	1035
Germinação de sementes de <i>Dendrobium phalaenopsis</i> em meio de cultura alternativo. . . . .	502
Germinação e desenvolvimento inicial <i>in vitro</i> de <i>Acanthostachys strobilacea</i> (Bromeliaceae) em diferentes concentrações de sacarose na presença e ausência de luz. . . . .	1089
Germinação <i>in vitro</i> de <i>Discocactus catingicola</i> (Cactaceae). . . . .	569



Germinação <i>in vitro</i> de Pitaya vermelha . . . . .	948
Germinação <i>in vitro</i> de quina ( <i>Strychnos pseudoquina</i> A. St. Hil.), Loganiaceae. . . . .	1190
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de orquídeas ( <i>Dendrobium nobile</i> ). . . . .	409
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de orquídeas nativas do cerrado . . . . .	414
Germinação <i>in vitro</i> de sementes e micropropagação de goiabeira, variedade Paluma. . . . .	360
Glicina e inositol no cultivo <i>in vitro</i> de duas frutíferas de clima temperado. . . . .	738
Indução da Embriogênese Somática em <i>Butia eriospatha</i> Mart. ex Drude (Arecaceae). . . . .	652
Indução da embriogênese somática em dendezeiro ( <i>Elaeis guineensis</i> Jacq) a partir de estruturas foliares e potencial de indução utilizando discos apicais de plantas jovens . . . . .	837
Indução da embriogênese somática em pupunheira ( <i>Bactris gasipaes</i> H.B.K) a partir de embriões zigóticos imaturos . . . . .	849
Indução de brotações em <i>Melocactus glaucescens</i> Buining & Brederoo e <i>Melocactus paucispinus</i> G. Heimen & R. Paul (Cactaceae). . . . .	1112
Indução de brotações <i>in vitro</i> de <i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> . . . . .	913
Indução de brotações <i>in vitro</i> em segmentos nodais de araticum mirim ( <i>Rollinia emarginata</i> Schltdl.) . . . . .	511
Indução de Calogênese em <i>Eucalyptus urograndis</i> cultivado <i>in vitro</i> . . . . .	1012
Indução de calogênese <i>in vitro</i> em explantes de pinhão manso ( <i>Jatropha curcas</i> L). . . . .	960
Indução de calos em cotilédones de nim utilizando diferentes concentrações de 2,4-D e BAP . . . . .	824
Indução de calos em embriões de mangabeira . . . . .	877
Indução de calos em explantes de <i>Neoregelia</i> sp. cultivados em diversos meios de cultura. . . . .	991
Indução de calos em explantes foliares de cagaiteira com 2,4-D e BAP em meio líquido . . . . .	1131
Indução de calos em ovários de Trepadeira-Jade . . . . .	935
Indução de calos em segmentos foliares de dedaleiro com a utilização de BAP e ANA. . . . .	861

Indução de calos em segmentos nodais de barbatimão . . . . .	927
Indução de Calos em Sempre-Viva ( <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giulietti) utilizando diferentes tipos de explantes e concentrações de BAP. . . . .	443
Indução de calos embriogênicos em <i>Heliconia rostrata</i> . . . . .	1028
Indução de calos <i>in vitro</i> em diferentes explantes de paricá. . . . .	908
Indução de calos <i>in vitro</i> em diferentes explantes de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Perrine) .	1140
Indução de calos organogênicos em diferentes explantes de <i>Passiflora gibertii</i> . . . . .	634
Indução de culturas embriogênicas de <i>Acca sellowiana</i> Berg (Myrtaceae). . . . .	620
Indução de embriogênese somática em abacaxizeiro-ornamental. . . . .	992
Indução de organogênese em <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giul. (Eriocaulaceae) – uma espécie ornamental ameaçada da Chapada Diamantina, Bahia. . . . .	1099
Influência da composição do meio de cultura na pré-aclimatização e aclimatização de propágulos de <i>Agave attenuata</i> Salmy-Dyck. . . . .	450
Influência da condição nutricional do meio de cultura sobre o metabolismo mixotrófico de plântulas de <i>Agave attenuata</i> Salmy-Dyck. . . . .	449
Influência da idade e do tipo de explante na organogênese direta de <i>Orthophytum mucugense</i> Wand. e Conceição, submetido a diferentes concentrações de ANA na presença de BAP. . . . .	1023
Influência da orientação do explante na organogênese direta de <i>Syngonanthus mucugensis</i> Giul. . . . .	1094
Influência das vitaminas na propagação <i>in vitro</i> de <i>Cattleya</i> (Orchidaceae) . . . . .	918
Influência de diferentes concentrações de ANA na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes. . . . .	763
Influência de diferentes tipos de citocininas na organogênese direta de <i>Orthophytum mucugense</i> . . . . .	574
Influência de explantes e reguladores de crescimento na micropropagação de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per.). . . . .	1153
Influência de métodos de desinfestação e tipos de explantes no estabelecimento <i>in vitro</i> de acessos de vetiver [ <i>Chrysopogon zizanioides</i> (L.) Roberty]. . . . .	536
Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação <i>in vitro</i> de manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) cultivar Genovese . . . . .	532

Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação <i>in vitro</i> de genótipos de hortelã-japonesa ( <i>Mentha arvensis</i> L.). . . . .	592
Influência do ácido giberélico na germinação <i>in vitro</i> de sementes de mamona ( <i>Ricinus communis</i> L. cv. BRS 149-Nordestina) . . . . .	784
Influência do BAP na multiplicação <i>in vitro</i> e aclimatização de <i>Melissa officinalis</i> L. . . . .	492
Influência do carvão ativado no crescimento inicial e na aclimatização de plântulas de <i>Caularthron bicornutum</i> (ORCHIDACEAE) germinadas <i>in vitro</i> . . . . .	682
Influência do GA <sub>3</sub> na germinação <i>ex vitro</i> e <i>in vitro</i> de mamoneira ( <i>Ricinus communis</i> L. ). . . . .	643
Influência do tipo e posição do explante no desenvolvimento de calos de Pinhão-manso. . . . .	796
Luminosidade e interação de reguladores de crescimento na micropropagação de gerânio ( <i>Pelargonium graveolens</i> L ) . . . . .	528
Luz natural e sistemas de vedação na propagação <i>in vitro</i> de <i>Dendranthema grandiflora</i> TZVELEV cv. Rage. . . . .	371
Luz natural no cultivo <i>in vitro</i> de <i>Musa</i> spp.: uma alternativa a utilização de lâmpadas fluorescentes na fase de enraizamento. . . . .	1066
Meios de cultura e BAP na micropropagação de amoreira-preta cv. Brazos. . . . .	638
Meios de cultura e BAP na organogênese direta em barbatimão . . . . .	754
Meios de cultura e reguladores de crescimento na micropropagação de amoreira-preta. . . . .	833
Meios de cultura, cinetina e GA <sub>3</sub> na multiplicação <i>in vitro</i> de amoreira-preta cv. Cherokee. . . . .	1124
Metabolismo do nitrogênio durante a pré-aclimatização e aclimatização de plântulas de <i>Agave attenuata</i> Salmy-Dyck. . . . .	448
Micropropagação de <i>Aechmea fasciata</i> (Lindl.) Baker. . . . .	1128
Micropropagação de Gerbera através de capítulos florais. . . . .	1031
Micropropagação de lavanda cultivar Lavandin ( <i>Lavandula x intermedia Emericx Loiseleur</i> ). . . . .	716
Micropropagação do abacaxizeiro 'Imperial', em função do acréscimo de água de coco e BAP no meio de cultivo. . . . .	1070
Micropropagação fotoautotrófica <i>in vitro</i> de cana-de-açúcar em diferentes concentrações de sacarose. . . . .	601

Micropropagação <i>in vitro</i> da pupunheira ( <i>Bactris gasipaes</i> K.)*	1079
Modificações na anatomia foliar de plantas de bananeira, induzidas durante o processo de micropropagação.	965
Multiplicação de sequóia ( <i>Sequoia sempervirens</i> L.) em meio de cultura esterilizado com hipoclorito de sódio.	356
Multiplicação e alongamento do híbrido <i>Eucalyptus benthamii</i> Maiden & Cambage x <i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden.	982
Multiplicação e alongamento <i>in vitro</i> de <i>Eucalyptus benthamii</i> .	1104
Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Arundina bambusifolia</i> .	419
Multiplicação <i>in vitro</i> de bastão-do-imperador em diferentes concentrações de nitrato de amônia e uréia	706
Multiplicação <i>in vitro</i> de duas frutíferas de clima temperado sob influência do carvão ativado e do BAP.	608
Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Genipa americana</i> L.: Efeito da orientação do explante no meio de cultura	423
Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Oxalis hedysaroides</i> .	396
Multiplicação <i>in vitro</i> de Pinhão-manso sob diferentes concentrações de BAP (6-Benzilaminopurina).	799
Multiplicação <i>in vitro</i> do maracujá-do-sono	944
Novo sistema para micropropagação de <i>Baccharis trimera</i> tolerante ao cobre: conversão do ápice radicular em ápice vegetativo	1080
Observação ultra-estrutural de calos de ovários de Ingazeiro	481
Organogênese direta de <i>Orthophytum mucugense</i> Wand. e Conceição a partir de plântulas em diferentes idades, submetidas a diferentes concentrações de ANA na presença de BAP.	579
Organogênese direta <i>in vitro</i> de explantes foliares de <i>Physalis angulata</i> L. - uma espécie medicinal	519
Organogênese e regeneração de brotos adventícios <i>in vitro</i> de sisal ( <i>Agave sisalana</i> Per).	1182
Organogênese em patchouli ( <i>Pogostemon cablin</i> Benth.).	694
Organogênese <i>in vitro</i> do híbrido de orquídea <i>Brassavola flagellaris</i> x <i>Cattleya harrisoniana</i> a partir de segmentos internodais.	986

Organogênese indireta e micropropagação de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> . . . . .	.907
Otimização da micropropagação de bromélias ornamentais em sistema biofábrica. . .	.725
Parâmetros para a produção e conversão de sementes sintéticas de orquídeas e avaliação de utilização na conservação <i>in vitro</i> . . . . .	.841
Perda de água de tecidos foliares de <i>Annona glabra</i> L. submetidos a diferentes ambientes de cultivo <i>in vitro</i> . . . . .	.523
Posição do explante na micropropagação de <i>Hyptis marrubioides</i> Epl. . . . .	.1015
Preparo de lâminas foliares de Pinhão-manso: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. . . . .	.406
Produção de batata semente livre de vírus. . . . .	.411
Produção de biomassa em cultura de células vegetais de <i>Ageratum conyzoides</i> L. Sieber. . . . .	.1113
Produção de mudas de <i>Etilingera elatior</i> através da cultura de tecidos vegetais <i>in vitro</i> . . . . .	.993
Produção <i>in vitro</i> de <i>Baccharis myriocephala</i> DC: Efeitos de auxinas e citocininas. . .	.898
Propagação “ <i>in vitro</i> ” de <i>Curcuma zedoaria</i> . . . . .	.1019
propagação <i>in vitro</i> de brotos estiolados de curauá utilizando ANA, GA e KIN. . . . .	.501
Propagação <i>in vitro</i> de <i>Dendranthema grandiflora</i> cv. Rage submetida a alterações espectrais: características anatômicas e fisiológicas. . . . .	.367
Propagação <i>in vitro</i> de orquídeas brasileiras utilizando espuma de poliuretano em substituição ao ágar . . . . .	.733
Propagação <i>in vitro</i> de Tucumã do Amazonas ( <i>Astrocaryum aculeatum</i> Meyer, Arecaceae). . . . .	.583
Propagação <i>in vitro</i> do anador ( <i>Justicia gendarussa</i> Burm. F.) a partir de gemas axilares. . . . .	.617
Qualidade de luz e GA <sub>3</sub> no crescimento <i>in vitro</i> de <i>Cattleya loddigesii</i> ‘Tipo’*. . . . .	.387
Regeneração de explantes de <i>Cattleya x mesquitae</i> a partir do estiolamento de segmentos caulinares . . . . .	.412
Relação entre o conteúdo relativo de água, densidade estomática e formação de cera epicuticular em folhas de plantas micropropagadas de bananeira . . . . .	.1145
Relação entre o tempo de enraizamento <i>in vitro</i> e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. . . . .	.1090

Resposta da cv. Caipira ( <i>Musa spp.</i> , grupo AAA) a diferentes doses de BAP nas fases de estabelecimento e multiplicação da micropropagação. . . . .	.865
Resposta da cv. Tropical ( <i>Musa spp.</i> , grupo AAAB) a diferentes doses de BAP nas fases de estabelecimento e multiplicação da micropropagação. . . . .	.869
Resposta de explantes de <i>Epidendrum ibacuense</i> (Orchidaceae) a diferentes concentrações e tempo de exposição ao hipoclorito de sódio e a diferentes antioxidantes . . . . .	.816
Resposta fotossintética de plantas de <i>Annona glabra</i> L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos. . . . .	.665
Resposta organogenética <i>in vitro</i> de quiôidô ( <i>Ocimum gratissimum</i> L.) em função de concentrações de BAP. . . . .	.626
Rizogênese <i>in vitro</i> de curauá ( <i>Ananas erectifolius</i> L.B.Smith) sob influência dos fitorreguladores AIB e ANA. . . . .	.375
Sacarose e qualidade de luz na propagação <i>in vitro</i> de plântulas de orquídea. . . . .	.383
Segmentos nodais e gemas axilares utilizadas como fonte de explantes na micropropagação de <i>Tapeinochilos ananassae</i> Hassk. . . . .	.415
Substratos alternativos ao ágar para o cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bifrenaria tyrianthina</i> (Loudon) Rchb. f. (Orchidaceae) . . . . .	.780
Sulfato de adenina e BAP no crescimento <i>in vitro</i> de porta-enxertos de videira. . . . .	.807
Teores de clorofila de plantas de <i>Annona glabra</i> L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos. . . . .	.648
Testes de desenvolvimento <i>in vitro</i> com helicônia Dwarf Jamaica utilizando agentes solidificantes e BAP. . . . .	.686
Uso de antibióticos no estabelecimento de <i>Heliconia rostrata</i> a partir de gema apical. . . . .	.644
Uso de diferentes fontes de carboidratos em meio MS na germinação de <i>Cattleya labiata</i> (ORCHIDACEAE). . . . .	.922
Uso de reguladores de crescimento na indução de brotações em segmentos nodais de Jambo Amarelo ( <i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston). . . . .	.515
Utilização de BAP na organogênese <i>in vitro</i> em dedaleiro. . . . .	.857
Utilização do PPM (Plant Preservative Mixture) para controle da contaminação visando o estabelecimento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook. . . . .	.621
Variação somaclonal em mudas micropropagadas de helicônia, <i>Heliconia bihai</i> cv. Lobster Claw I (HELICONIACEAE). . . . .	.361

## Outras Aplicações da Cultura de Células, Tecidos e Orgãos

Aclimatização de mudas micropropagadas de patchouli. . . . .	1248
Avaliação da contaminação por fungos em fragmentos de tecidos interno e externo de segmentos nodais de cultivares de <i>Mangifera indica</i> L. . . . .	1288
Avaliação dos níveis de BAP na multiplicação <i>in vitro</i> do mamoeiro. . . . .	1226
BAP e 2,4-D na diferenciação de calos em anteras de <i>Coffea arabica</i> . . . . .	1208
Calogênese <i>in vitro</i> em diferentes tipos de explantes de nim indiano na presença de BAP. . . . .	1258
Características básicas de calos embriogênicos formados em tecidos somáticos de Angiospermas . . . . .	1286
Controle de polifenóis em folhas jovens de Mangueira ( <i>Mangifera indica</i> L.) cultivadas <i>in vitro</i> . . . . .	1243
Efeito da glutamina na indução de embriogênese somática a partir de inflorescências masculinas em bananeiras triplóides ( <i>Musa sp</i> ). . . . .	1239
Efeito de diferentes concentrações de água de coco e carvão ativado no cultivo <i>in vitro</i> de pinhão-manso. . . . .	1263
Efeito de vários tipos de antioxidantes sobre a oxidação polifenólica de tecidos de algodão ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.) cultivados <i>in vitro</i> . . . . .	1310
Efeito do manitol na conservação <i>in vitro</i> de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui . . . . .	1251
Efeitos de diferentes carboidratos no desenvolvimento de calos de <i>Ginkgo biloba</i> L. . . . .	1254
Eficiência de solução enzimática no isolamento de protoplastos de folhas de Pequizeiro cultivadas “ <i>in vitro</i> ” . . . . .	1281
Embriogênese somática em caroá . . . . .	1230
Embriogênese Somática indireta e respostas morfogenéticas <i>in vitro</i> de algodão herbáceo ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.). . . . .	1207
Estabelecimento <i>in vitro</i> e indução de calos em lichia ( <i>Litchi chinensis</i> Sonn). . . . .	1235
Estudo comparativo da indução de calogênese em três genótipos de algodão herbáceo ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.) - CNPA 8H, CNPA 96117 e CNPA 981004. . . . .	1206
Etileno e Nitrato de prata na indução e regeneração de embriões em anteras de <i>Coffea arabica</i> L. . . . .	1216

Germinação de grãos de pólen de nêspereira e ameixeira utilizando Nitrato de cálcio e Ácido bórico em diferentes níveis de pH. . . . .	1273
Germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de pinhão-manso ( <i>Jatropha curcas</i> L.) . .	1268
Germinação <i>in vitro</i> de Maracujá-de-Papoco ( <i>Passiflora</i> sp.) . . . . .	1247
Germinação <i>in vitro</i> de pólen de <i>Portulaca</i> sp – testes preliminares. . . . .	1259
Índices de recuperação de microenxertos de diferentes espécies e variedades de citros. . . . .	1287
Indução de calos em anteras de <i>Coffea arabica</i> em função dos reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ. . . . .	1212
Obtenção de matrizes assépticas de pau-rosa ( <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke) através da germinação <i>in vitro</i> de sementes . . . . .	1220
Organogênese <i>in vitro</i> de batata ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) cultivar Atlantic visando à transformação genética. . . . .	1244
Período de germinação de pólen de pessegueiro, ameixeira, nêspereira e citros . .	1277
Poliploidização <i>in vitro</i> de <i>Lycopersicon esculentum</i> e monitoramento por citometria de fluxo. . . . .	1272
Verificação da ocorrência de variação somaclonal em plantas de <i>Carica papaya</i> L. obtidas por meio da embriogênese somática. . . . .	1267



## Outros

Área de produção de flores de corte no Estado de Minas Gerais . . . . .	1303
Aspectos paisagísticos e de utilização da Praça Dr. Augusto Silva, Lavras – MG, segundo a opinião de seus usuários e freqüentadores. . . . .	1311
Atividade antioxidante de extratos de luteína proveniente de flores de <i>Tagetes patula</i> L. e <i>Calendula officinalis</i> L. . . . .	1302
Desenvolvimento de bulbos de <i>Hippeastrum X hybridum</i> Hort cv Ferrari com o uso de diferentes doses de Stimulate Mo. . . . .	1292
Influência da cor e do tamanho de vasos plásticos na evaporação de água e temperatura do substrato. . . . .	1291
Produção de flores de <i>Hippeastrum hybridum</i> cv Ferrari em diferentes tipos de substratos. . . . .	1289
Produtores de plantas ornamentais do estado de Minas Gerais . . . . .	1298
Utilização da Praça Dr. Augusto Silva, Lavras - MG, segundo seus freqüentadores. . . . .	1306
Valorização da biodiversidade urbana em Curitiba. . . . .	1297

## Paisagismo

Arborização urbana em regiões de diferentes padrões construtivos no município de Jataí, Estado de Goiás. ....	1333
Caracterização física e germinação de sementes de grama das espécies Bermudas ( <i>Cynodum dactylum</i> (L.) Pers.), Esmeralda ( <i>Zoysia japonica</i> Steud.), São Carlos ( <i>Axoponus compressus</i> Beauv.) e Japonesa ( <i>Zoysia tenuifolia</i> Trin.). ....	1355
Caracterização morfológica e fertilidade em <i>Ensete</i> sp. ....	1350
Concepts pays et paysage dans les sens paysager de l'île de Santa Catarina : son émergence et développement, Les ....	1346
Escolha de espécies arbóreas floríferas pelos moradores de dois bairros de Americana/SP. ....	1323
Experiência transdisciplinar no ensino de Paisagismo, Uma. ....	1316
Hibridações interespecíficas em <i>passifloras</i> para utilização como planta ornamental . ....	1373
Le centre d'intérêt dans la perception du paysage des voyageurs étrangers du XIX ème siècle passés par l'île de Santa Catarina pendant leurs voyage autour du monde. ....	1337
Levantamento preliminar das principais espécies de palmeiras e perfil das empresas comercializadoras em Goiânia, Goiás. ....	1374
Paisagismo como uma atividade transdisciplinar fomentando a educação ambiental, O. ....	1315
Pequizeiro-anão: alternativa para o paisagismo ....	1369
Perception du paysage panoramique de l'île de Santa Catarina au XIXème siècle comme fait favorisant du sens de beauté dans la caractérisation de ses paysages, La. ....	1342
Planejamento paisagístico do prédio de cães e gatos (Hospital Veterinário) da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal. ....	1321
Potencial da pitaya-do-cerrado como planta ornamental ....	1365
Praça Dr. Augusto Silva, Lavras-MG: uma visão de usos, costumes e regulamentos nas décadas de 1910 e 1920, A. ....	1361
Produção de mudas arbóreas no estado de Minas Gerais ....	1359
Remodelação da paisagem do entorno do Restaurante Universitário da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal. ....	1322

Remodelação do entorno do condomínio Edifício Itamaracá, município de Jaboticabal, SP. ....	1332
Remodelação do jardim do entorno do Edifício Sívio Starling Brandão na Universidade Federal de Viçosa - UFV, MG. ....	1360
Revitalização da Praça do Maçom, município de Jaboticabal, SP. ....	1320
Utilização de espécies ornamentais nativas do Cerrado nos pátios das Escolas Municipais Rurais de Mineiros-Goiás ....	1327

## Produção de Metabólicos Secundários *in Vitro*

Efeito da luz e diferentes concentrações de sais do meio MS na regeneração <i>in vitro</i> de <i>Catharanthus roseus</i> . . . . .	1378
Estabelecimento <i>in vitro</i> de culturas de raízes de <i>Capraria biflora</i> L. a partir de explantes foliares . . . . .	1383
Indução de calos friáveis em segmentos nodais de <i>Lophantera lactescens</i> Ducke. .	1392
Influência da sacarose no crescimento de calos e nos teores de fenóis e taninos totais em <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville – Fabaceae. .	1384
Influencia de diferentes concentrações de MS no teor e composição química do óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. . . . .	1379
Introdução <i>in vitro</i> de <i>Lophantera lactescens</i> Ducke (Malpighiaceae). . . . .	1388

## Sementes e Propagação

Ácido Indolbutírico e tempo de imersão no enraizamento de estacas semi-lenhosas e herbáceas de Amoreira-preta. . . . .	1497
Aclimatização da orquídea <i>Oncidium ceboletta</i> proveniente de mudas propagadas <i>in vitro</i> . . . . .	1608
Aspectos da germinação <i>in vitro</i> do barbatimão . . . . .	1508
Avaliação da qualidade de sementes de <i>Eugenia pleurantha</i> (Myrtaceae) pelos testes de germinação e tetrazólio. . . . .	1433
Avaliação de diferentes tipos de substratos no enraizamento de crisântemo ( <i>Dendranthema grandiflora</i> ) cv . White Polaris . . . . .	1470
Avaliação do uso de ácido salicílico em sementes de calêndula ( <i>Calendula officinalis</i> L.) sob diferentes estresses. . . . .	1395
BAP e substratos na propagação vegetativa de <i>Nymphaea x marliacea</i> "Chromatella". . . . .	1504
Comportamento físico-fisiológico de sementes de <i>Dyckia goehringii</i> (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas . . . . .	1569
Composição do substrato no enraizamento de estacas de brinco-de-princesa . . . . .	1465
Crescimento <i>in vitro</i> de <i>Oncidium ceboletta</i> em diferentes concentrações de sacarose e solidificantes. . . . .	1604
Crescimento <i>Vriesea flammea</i> L. B. Smith em diferentes substratos. . . . .	1545
Desenvolvimento <i>in vitro</i> de orquídea nativa do Mato Grosso em diferentes concentrações de citocinina. . . . .	1603
Desinfestação de sementes de Ipê-Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ) para estabelecimento <i>in vitro</i> . . . . .	1542
Desinfestação e germinação <i>in vitro</i> de sementes de tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> L.). . . . .	1581
Diferentes substratos para germinação de sementes de palmeira real australiana ( <i>Archontophoenix cunninghamii</i> H. Wendl. & Drude ). . . . .	1407
Doses de Ácido Indolbutírico, tamanhos de estacas e diferentes substratos no enraizamento de estacas de amoreira-preta sob nebulização intermitente. . . . .	1489
Efeito da sacarose associada com diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> na taxa de germinação <i>in vitro</i> de sementes de nim . . . . .	1523

Efeito da temperatura e da escarificação mecânica na germinação de sementes de <i>Copernicia prunifera</i> (Arecaceae). . . . .	1425
Efeito da temperatura e do armazenamento temporário na germinação de sementes de <i>Archontophoenix alexandrae</i> (Arecaceae). . . . .	1429
Efeito da temperatura e do estágio de maturação dos frutos na germinação de sementes de <i>Roystonea regia</i> (Kunth) O. F. Cook (Arecaceae) . . . . .	1452
Efeito da temperatura na germinação de sementes de espécies de <i>Merremia</i> spp. e <i>Ipomoea</i> spp. . . . .	1444
Efeito de bioestimulante vegetal no cultivo e regeneração <i>in vitro</i> de embriões de mamona ( <i>Ricinus communis</i> L.). . . . .	1529
Efeito de concentrações de hormônio e do tipo de estaca na propagação vegetativa de espírradeira ( <i>Nerium oleander</i> L.). . . . .	1612
Efeito do ácido indolbutírico e de estações do ano no enraizamento de estacas de <i>Cordia leucocephala</i> Moric. . . . .	1512
Efeito do armazenamento temporário na germinação de sementes de <i>Ptychosperma macarthurii</i> (H. Wendl. ex. H.J. Veitch) H. Wendl. ex Hook.f. . .	1403
Eficiência de enraizamento de estacas apicais de Tango, submetidas a diferentes substratos . . . . .	1549
Estabelecimento <i>in vitro</i> de sementes de pau-rosa ( <i>aniba rosaeodora</i> ducke) visando à obtenção de plântulas assépticas . . . . .	1440
Fatores associados à superação da dormência e indução da germinação de sementes de Lavanda ( <i>Lavandula angustifolia</i> Miller “Provence Blue”). . . . .	1478
Garfagem de mesa de roseira em diferentes substratos. . . . .	1421
Germinação de <i>Calea hispida</i> (DC.) Baker – uma espécie nativa com potencial ornamental. . . . .	1471
Germinação de sementes de <i>Archontophoenix cunninghamii</i> H. Wendl. & Drude em diferentes períodos de imersão em água destilada. . . . .	1412
Germinação de sementes de gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> Bollus) em temperaturas controladas e condições naturais no Submédio São Francisco. . . . .	1573
Germinação de sementes de guanandi ( <i>Calophyllum brasiliense</i> Camb. <i>Clusiaceae</i> ) . . . . .	1558
Germinação de sementes de Ipê-Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ) em diferentes substratos. . . . .	1397
Germinação de sementes de <i>Tagetes erecta</i> . . . . .	1594

Germinação de sementes de <i>Trimezia juncifolia</i> Benth & Hook (Iridaceae) em diferentes substratos e condições armazenamento . . . . .	1561
Germinação <i>in vitro</i> de de sementes de canela- de-ema ( <i>Vellozia squamata</i> Pohl). .	1533
Germinação <i>in vitro</i> de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> L.) . . . . .	1513
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de <i>Aechmea</i> sp. . . . .	1585
Germinação <i>in vitro</i> de sementes de nim utilizando diferentes concentrações de GA <sub>3</sub> . . . . .	1515
Germinação <i>in vitro</i> de <i>Waltheria ferruginea</i> A. St.-Hil. . . . .	1485
<i>in vitro</i> germination of <i>Podophyllum hexandrum</i> seeds. . . . .	1514
Indução de Brotações em <i>Eucalyptus Urograndis</i> . . . . .	1538
Influência das concentrações de MS, GA <sub>3</sub> e carvão ativado na germinação de sementes de Ipê Branco ( <i>Tabebuia roseo-alba</i> ). . . . .	1400
Influência de diferentes métodos de desinfestação, concentrações de sacarose e BAP na propagação do Jerivá ( <i>Syagrus romanzoffiana</i> cham. glassm.) através do cultivo “ <i>in vitro</i> ” de embriões. . . . .	1435
Influência do local de origem e da temperatura na germinação de sementes de tamareira-anã ( <i>Phoenix roebelenii</i> O’ Brien). . . . .	1448
Morfologia de diásporos e de plântulas de <i>Dypsis lastelliana</i> (Baill.) Beentje & J. Dransf. . . . .	1589
Morfologia de plântulas de doze espécies lenhosas do Cerrado sentido restrito. . .	1620
Morfologia dos diásporos e da plântula de <i>Caryota urens</i> L. . . . .	1456
Número de nós e concentrações de AIB influenciando na indução de enraizamento e brotação de <i>Dendrobium nobile</i> . . . . .	1519
Produção de mudas de vinca em substratos com resíduos da casca de coco verde . . . . .	1416
Propagação de cerejeira ornamental ( <i>Prunus serrulata</i> ) por diferentes tipos de enxertias sobre porta-enxerto de pessegueiro ( <i>Prunus persica</i> Batsch (L.) cv. Okinawa) associado a diversos métodos de forçamento. . . . .	1534
Propagação de Maracujá-de-Papoco ( <i>Passiflora Sp.</i> ) por Estaquia. . . . .	1501
Propagação e desenvolvimento de grama-preta em diferentes substratos. . . . .	1554

Propagação por estaquia das plantas ornamentais lantana e tapete-ínglês em diferentes substratos. . . . .	1550
Propagação por estaquia em Orquídea <i>Vanilla chamissonis</i> Klotzsch. . . . .	1590
Propagação por sementes de <i>Verbena rigida</i> Spreng. – uma planta ornamental do sul do Brasil. . . . .	1493
Propagação vegetativa de <i>Ruscus hypoglossus</i> L. através de divisão de rizoma. . .	1574
Propagação vegetativa de <i>Sansevieria trifasciata</i> Herb. . . . .	1577
Qualidade fisiológica de sementes de <i>Dyckia goehringii</i> Gross & Rauh (Bromeliaceae) em função do estágio de maturação dos frutos . . . . .	1565
Superação da dormência em sementes de <i>Cássia fistula</i> L. . . . .	1503
Superação da dormência em sementes de tamareira-anã ( <i>Phoenix roebelenii</i> O'Brien). . . . .	1616
Tipos de estaca na indução de enraizamento e brotação de <i>Dendrobium nobile</i> com uso de AIB. . . . .	1466
Tipos de estacas e substratos no enraizamento de Jambolão ( <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels). . . . .	1598
Uso de <i>Aspilia setosa</i> Griseb. no paisagismo e a sua propagação, O. . . . .	1472
Uso de fitorreguladores no enraizamento de estacas de <i>Codiaeum variegatum</i> (L.) A. Juss.. . . . .	1527
Uso de GA3 na embebição de sementes de jerivá ( <i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman). . . . .	1488
Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira areca-bambu ( <i>Dypsis lutescens</i> H. Wendl.) . . . . .	1486
Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira cariota ( <i>Caryota mitis</i> Lour.) .	1477
Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira fênix ( <i>Phoenix roebelenii</i> O'Brien). . . . .	1487
Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira seafórtia ( <i>Archontophoenix cunninghamii</i> H. Wwndel. & Drude. . . . .	1483
Uso de indutores de enraizamento em estacas semilenhosas de Hibisco ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.) . . . . .	1434
Uso de indutores de enraizamento na produção de mudas por estaquia de cróton ( <i>Codiaeum variegatum</i> Blume). . . . .	1417



Uso do ácido giberélico na embebição de sementes de palmeira latânia ( <i>Latania commersonil</i> J.F. Gmelin). . . . .	1484
Utilização de adubos de liberação lenta na produção de mudas de <i>Cosmea</i> . . . . .	1464
Utilização de antioxidantes na micropropagação de bananeira 'Prata -Anã' . . . . .	1502
Utilização de parafina na conservação pós-colheita de estacas de <i>Acalifa</i> <i>wilkesiana</i> . Mull. Arg . . . . .	1460
Utilização de três diferentes fitorreguladores no enraizamento de <i>Allamanda</i> <i>cathartica</i> L. . . . .	1457

## Solos, Nutrição e Adubação

Aclimatização de híbrido de orquídea ( <i>Cattleya labiata</i> x <i>Cattleya granulosa</i> ) em substratos de origem industrial e vegetal. . . . .	1653
Acúmulo de cálcio em crisântemo ( <i>Dendrathera grandiflorum</i> T., salmon reagan) no período do inverno. . . . .	1660
Análise de crescimento do crisântemo cultivado em vaso sob diferentes soluções nutritivas . . . . .	1632
Avaliação da qualidade pós-produção em cultivares de gérbera de vaso conduzidos com dois níveis de condutividade elétrica. . . . .	1648
Avaliação de meios nutritivos na micropropagação de <i>Laelia purpurata</i> . . . . .	1697
Avaliação do crescimento da raiz na cultura da gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> , var. cherry) cultivada em vaso submetida a diferentes níveis de condutividade elétrica. . . . .	1647
Avaliação do índice relativo de clorofila na cultura da gérbera ( <i>Gerbera jamesonii</i> , var. salmon) cultivada em vaso submetido a diferentes níveis de condutividade elétrica por fertirrigação. . . . .	1652
Caracterização físico-química de solos do Cerrado com ocorrência de espécies terrestres da família Bromeliaceae . . . . .	1722
Concentração de fósforo em crisântemo ( <i>Dendrathera grandiflorum</i> T., salmon reagan) no período do verão. . . . .	1657
Condutividade elétrica e pH do substrato em cultivares de gérbera de vaso avaliado com duas metodologias. . . . .	1636
Crescimento da gérbera e produção de fitomassa seca em função de níveis de condutividade elétrica. . . . .	1664
Crescimento de variedades pendentes de <i>Zigocactus Truncatus</i> sob diferentes doses de adubações . . . . .	1701
Descrição dos sintomas de deficiência de N, P, K, Ca, S, Fe e B em plantas de copo-de-leite. . . . .	1689
Desenvolvimento vegetativo em vaso de <i>Zigocactus truncatus</i> semi-erectos sob diferentes doses de adubações. . . . .	1705
Determinação de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em soluções extraídas com diferentes metodologias em duas cultivares de gérbera fertirrigadas. . . . .	1718
Efeito da temperatura na germinação de sementes de <i>Camptosema grandiflorum</i> Benth. . . . .	1672

Efeito de diferentes substratos e aplicações de manipueira no desenvolvimento de gerânio. . . . .	1696
Efeito de soluções nutritivas sobre o crescimento e desenvolvimento do crisântemo cultivado em vaso . . . . .	1621
Efeito do silicato de potássio no desenvolvimento e produção de copo-de-leite. . . . .	1688
Influência da deficiência de macronutrientes na durabilidade pós-colheita de <i>Heliconia psittacorum</i> x <i>H. spathocircinata</i> cultivar Golden Torch. . . . .	1625
Influencia de adubações mineral e orgânica na pigmentação de folhas de <i>Heliconia psittacorum</i> L.f. . . . .	1693
Influência de soluções nutritivas na produção de matéria seca e inflorescências de crisântemo cultivado em vaso . . . . .	1628
Intensidade de cor verde e nitrogênio em cultivares de gérbera fertirrigados com soluções nutritivas. . . . .	1643
Ordem de limitação de nutrientes em <i>Heliconia</i> “Golden Torch”, sob diferentes adubações. . . . .	1676
Resposta de <i>Epidendrum ibaguense</i> a doses e intervalos de aplicação de fertilizante mineral . . . . .	1684
Resposta de <i>Laelia purpurata</i> a diferentes doses e fertilizantes minerais e orgânicos. . . . .	1680
Sintomas e efeitos de deficiência de macronutrientes em helicônia ‘Golden Torch’ . . . . .	1626
Substrato com fibra de coco e adubações no cultivo de <i>Crassula capitella</i> . . . . .	1714
Teores de Ca, Mg, P, K, S, Fe, Mn, Zn e B em folhas de <i>Phalaenopsis</i> spp. em resposta à aplicação de doses de calcário em vaso. . . . .	1710
Teores de macronutrientes em gérbera em razão da condutividade elétrica sob fertirrigação. . . . .	1668
Teores de macronutrientes em plantas de helicônia ‘Golden Torch’ submetidas a estresse nutricional. . . . .	1627
Utilização de adubo de liberação lenta na propagação de <i>Cordia superba</i> Cham . . . . .	1640
Utilização de substratos alternativos ao xaxim para o crescimento de um híbrido de <i>Cattleya</i> Lindley (ORCHIDACEAE) . . . . .	1675

## Tecnologias de Produção

Aclimação de <i>Nidularium rubens</i> Mez, uma bromélia nativa de Mata Atlântica: estudos de substratos. . . . .	1727
Adensamento e produtividade de antúrio em sistema hidropônico com substrato. . .	1810
Avaliação do crescimento e produção de antúrio ( <i>Anthurium andraeanum</i> Lind.) variedade Apalai sob diferentes cores de telas de sombreamento. . . . .	1795
Características organolépticas de variedades de pimenta com potencial ornamental. . . . .	1804
Caracterização de hastes de alpínia sob cultivo protegido em função do espaçamento e da adubação em região litorânea do Estado do Ceará . . . . .	1743
Comparações anuais de crescimento entre espécies nativas e exóticas, em condições de viveiros. . . . .	1757
Crescimento de <i>Epidendrum ibaguensis</i> e <i>Laelia purpurata</i> em diferentes substratos . . . . .	1813
Crescimento de rainha-do-abismo sob diferentes níveis de sombreamento . . . . .	1782
Cultivo de <i>Dendrobium nobile</i> Lindl. (Orchidaceae) em substratos alternativos ao Xaxim . . . . .	1790
Cultivo de pimentas ornamentais comestíveis em vaso. . . . .	1805
Cultivo <i>in vitro</i> de orquídea sob luz natural com diferentes espectros luminosos. . .	1737
Desenvolvimento de antúrio em sistema hidropônico com substrato. . . . .	1812
Desenvolvimento de <i>Heliconia psittacorum</i> L.f. em vaso, sob diferentes modos de adubação orgânica e mineral . . . . .	1799
Desenvolvimento de seis espécies arbóreas, cultivadas em embalagens de 100 litros de polipropileno branco, durante três anos. . . . .	1754
Desenvolvimento e florescimento de <i>Merremia</i> spp. e <i>Ipomoea</i> spp. em vasos sob sombreamento artificial. . . . .	1761
Efeito da aplicação de daminozide em roseiras para vaso cv. Button's Boys e Yellow Doll. . . . .	1803
Efeito da luz natural em meio de cultura líquido e sólido na propagação <i>in vitro</i> de abacaxi cv. Imperial. . . . .	1736

Efeito da pulverização com ácido giberélico nas características das hastes florais de roseira “Hebe Camargo”. . . . .	1765
Efeito de diferentes níveis de sombreamento em <i>Heliconia psittacorum</i> var <i>sassy</i> e <i>H. psittacorum</i> x <i>H. spathocircinata</i> var. Golden Torch. . . . .	1808
Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mudas de areca-de-lucuba, <i>Dypsis madagascariensis</i> (Becc.) Beentfe & J. Dransf. . . . .	1786
Efeito de níveis de sombreamento sobre o desenvolvimento de <i>Dyckia goehringii</i> Gross & Rauh (Bromeliaceae) em ambiente protegido. . . . .	1723
Efeito do silício na aclimatização de plantas de crisântemo. . . . .	1807
Efeito do substrato na aclimatização de caroá [ <i>Neoglaziovia variegata</i> (Arr. Cam.) Mez.]. . . . .	1750
Efeito do tempo de enraizamento e condições ambientais na aclimatização de mudas micropropagadas de minirosa ( <i>Rosa chinensis</i> ‘Minima’) . . . . .	1730
Germinação de <i>Tibouchina stenocarpa</i> (DC.) Cogn. (Melastomataceae) em função da temperatura e do substrato. . . . .	1766
Indução floral em bromélia ornamental <i>Guzmania dissitiflora</i> . . . . .	1747
Indução floral em bromélia ornamental <i>Tilandsia cyanea</i> . . . . .	1748
Indução floral em bromélia ornamental <i>Vriesea</i> cv. ‘Charlotte’ . . . . .	1749
Indução floral em <i>Vriesia inflata</i> Wanra. (Bromeliaceae) utilizando carbureto. . . . .	1729
Influência da temperatura e do substrato na germinação de <i>Melocactus Bahiensis</i> (Cactaceae) . . . . .	1770
Influência de níveis de sombreamento no comprimento dos escapos florais de <i>Hippeastrum x hybridum</i> Herb. ‘Orange Souvering’. . . . .	1809
Micropropagação fotoautotrófica de abacaxizeiro. . . . .	1738
Potencial de produção de <i>Limonium sinuatum</i> na Serra Catarinense. . . . .	1778
Precocidade em antúrio cultivado em sistema hidropônico com substrato. . . . .	1811
Produção de alpínia sob cultivo protegido em função do espaçamento e da adubação em região litorânea do Estado do Ceará . . . . .	1739
Produção de frutos de pimentas ornamentais comestíveis em vasos. . . . .	1806
Produção de orquídeas <i>in vitro</i> sob luz natural. . . . .	1735

Propagação de <i>Sinningia schiffneri</i> Fritsch utilizando substratos alternativos ao xaxim. ....	1728
Substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno na aclimatização de <i>Cattleya</i> (Orchidaceae) .....	1774
Uso de diferentes substratos no cultivo da bromélia ornamental <i>Tilandsia cyanea</i> . .	1794

## Aclimação e desenvolvimento *in vivo* de cana-de-açúcar propagada em sistema de baixo-custo.

Rivas, Rebeca<sup>1</sup>; Alves, Gilberto Dias<sup>1</sup>; Dias, André Luís de França<sup>1</sup>; Silva, Karime Soares da<sup>2</sup>; Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n – Santo Amaro – Recife/PE CEP 50100-010 fone (81) 3416.4000, email: [rebecarivas@gmail.com](mailto:rebecarivas@gmail.com), [alvesgd@icb.upe.br](mailto:alvesgd@icb.upe.br), [andreluisfd@hotmail.com](mailto:andreluisfd@hotmail.com); <sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Agronomia, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos - Recife/PE CEP 52171-900 Fone (81) 3320.6011, email: [karyagronomia@hotmail.com](mailto:karyagronomia@hotmail.com); <sup>3</sup>Pesquisadora da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) – Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Biologia Molecular, Av. Gen. San. Martin, 1371 – Bonji, CEP 50761-000 – Recife/PE Caixa Postal: 1022, fone (81)2122.7200, email: [laureenhk@yahoo.com](mailto:laureenhk@yahoo.com).

### INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar é de grande importância para a cadeia produtiva e comercial. Ela é responsável por 65% da produção do açúcar mundial, além de ser utilizada na alimentação de bovino e na produção de álcool (Cidade *et al.*, 2006).

A aclimação é um fator limitante do processo de micropropagação. Grande parte das plantas não resiste às condições ambientes, pois *in vitro* os seus estômatos não são funcionais, permitindo uma perda d'água acelerada (Grattapaglia e Machado, 1998).

Existem poucos artigos que abordam o processo de aclimação e desenvolvimento *in vivo*, seus problemas e suas soluções (Grattapaglia e Machado, 1998).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento *in vivo* de cana-de-açúcar (cv. RB 932520) proveniente da propagação *in vitro* em sistema de baixo-custo.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Biologia Molecular da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) e no telado do Instituto de Ciências Biológicas da UPE. Foram utilizadas plantas de cana-de-açúcar (cv. RB932520) provenientes do cultivo *in vitro* convencional (meio de cultura convencional para micropropagação de cana-de-açúcar) e do cultivo de baixo custo (substituição dos fitorreguladores por fungicida sistêmico). Na tabela 1 abaixo, estão descrito as condições de cultivo que originaram as plantas utilizadas neste experimento.

Tabela 1. Descrição da composição do meio de micropropagação que originaram as plantas que foram avaliadas em casa-de-vegetação. Formulação básica de MS acrescida de fitorregulador ou fungicida Cerconil.

Tratamentos	Composição
0	Ausência de fitorregulador e fungicida
1	Cerconil 0,2 mg.L <sup>-1</sup>
2	Cerconil 0,4 mg.L <sup>-1</sup>
3	Cerconil 0,8 mg.L <sup>-1</sup>
4	Cerconil 1,0 mg.L <sup>-1</sup>
5	BAP 0,2 mg.L <sup>-1</sup> e KIN 0,1 mg.L <sup>-1</sup>

Em seguida, os propágulos foram transferidos para o meio de enraizamento (sais e vitaminas de MS (Murashigue & Skoog, 1962), sacarose 30g.L<sup>-1</sup>, inositol 0,1g.L<sup>-1</sup> e ANA 1mg.L<sup>-1</sup>). Após 45 dias, as tampas para vedação dos frascos foram substituídas por papéis de filtro, utilizando liga de borracha para o fechamento. Em seguida, os frascos foram levados à casa-de-vegetação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco.

Passados três dias, foram selecionados dez propágulos de cada um dos seis tratamentos (total de 60 propágulos), que foram plantados em vasos, contendo terra vegetal e substrato para hortaliça. Os propágulos, de cada tratamento, foram colocados em vasos (dois propágulos/vaso). O experimento foi montado com um total de 30 vasos (cinco/tratamento). Estes foram identificados conforme o tratamento e dispostos de forma inteiramente casualizada em uma bancada da casa-de-vegetação. Cada vaso foi agitado e envolvido, por inteiro, com um saco plástico, contendo um pequeno orifício. Este orifício era aumentado conforme o tempo e a necessidade da planta para promover a aclimação. Após três dias os sacos plásticos foram totalmente removidos. Durante todo o período de avaliação as plantas foram regadas diariamente.

A avaliação do material envolveu os parâmetros: o nível de enraizamento (atribuído nota de 0 a 5) e o crescimento (em centímetros) das plantas *in vivo*. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade com o auxílio do programa ASSISTAT Versão 7.4 beta (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a tabela 2, os propágulos provenientes do tratamento 5 (meio padrão de cana) obtiveram menor desenvolvimento de raiz, sendo estatisticamente diferentes dos demais tratamentos aos 15, aos 30 e aos 45 dias de cultivo. Este resultado pode ser explicado pelo fato de, no processo de aclimação, o BAP não induzir raiz em cana-de-açúcar (cv. RB932520). Este efeito também pode ser explicado pelo baixo desenvolvimento dos propágulos no tratamento 5 comparado aos demais tratamentos. Em concordância, Silva *et al.* (2002) observaram que o aumento das concentrações de BAP inibia o enraizamento em abacaxizeiro. Já os tratamentos com Cerconil não se diferenciaram estatisticamente entre si aos 15 dias de cultivo, mas aos 30 e aos 45 dias diferenciaram estatisticamente entre si o tratamento 1 (plantas que foram cultivadas *in vitro* com Cerconil 0,2 mg.L<sup>-1</sup>) e 4 (com Cerconil 1,0 mg.L<sup>-1</sup>).

Tabela 2. Nível de enraizamento dos propágulos de cana-de-açúcar da cultivar RB932520, proveniente de um experimento envolvendo doses diferentes do fungicida sistêmico Cerconil.

Tratamentos	15 dias	30 dias	45 dias
0	1.55 A <sup>1</sup>	1.65 B	1.74 C
1	1.71 A	1.97 A	2.10 A
2	1.60 A	1.89 AB	2.01 AB
3	1.54 A	1.82 AB	2.05 AB
4	1.49 A	1.66 B	1.80 BC
5	0.70 B	0.80 C	0.85 D

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Após 45 dias de enraizamento, os frascos vedados com papel de filtro foram transferidos da sala de cultivo para a casa-de-vegetação (Figura 1), facilitando a adaptação da cultivar ao meio ambiente. Após três dias, as plantas selecionadas foram plantadas em vasos envolvidos com sacos plásticos, contendo um pequeno orifício. A utilização de sacos plásticos teve como objetivo criar uma câmara úmida (fator importante para a sobrevivência da planta). A cada dia, o orifício era aumentado e, após quatro dias do plantio, apresentou 100% de aclimação. O sucesso da aclimação desta cultivar se deve ao papel de filtro, que proporcionou uma adaptação mais rápida dos estômatos, impedindo a perda excessiva de água.





Figura 1. Frascos vedados com papel de filtro, contendo propágulos provenientes de seis tratamentos diferentes envolvendo a substituição dos fitorreguladores pelo fungicida cerconil na casa-de-vegetação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco.

No desenvolvimento *in vivo* de cana-de-açúcar, os indivíduos provenientes do tratamento 5 apresentaram o menor desenvolvimento (Tabela 3) quando comparado aos demais, fato que pode ser explicado pelo pouco desenvolvimento do sistema radicular. Aos 15 dias de desenvolvimento os indivíduos provenientes do tratamento 5 foi significamente semelhante às plantas do tratamento 4. Já aos 30 e aos 45 dias, foram significamente semelhantes às plantas dos tratamentos 3 e 4. E aos 60 dias (Figura 2) de desenvolvimento, não houve diferença estatística das médias do comprimento de cana-de-açúcar com relação a todos os tratamentos. Com base em que o genoma das plantas é igual, essa diferença no desenvolvimento entre os tratamentos se dá porque houve alterações no sistema fisiológico delas, devido ao sistema de propagado.

Tabela 3. Média do comprimento em centímetros de cana-de-açúcar (cv. RB932520) proveniente de um experimento envolvendo doses diferentes do fungicida sistêmico Cerconil.

Tratamentos	Inicial	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
0	5.0	11.32 A <sup>1</sup>	18.52 A	21.27 A	24.20 A
1	5.5	10.92 A	17.63 A	21.26 A	23.96 A
2	6.0	10.59 A	18.84 A	22.44 A	20.02 A
3	6.5	10.51 A	16.20 AB	19.47 A	23.55 A
4	6.5	9.69 AB	14.29 AB	18.85 AB	22.46 A
5	3.5	6.60 B	11.67 B	16.13 B	20.22 A

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.



Figura 2. Desenvolvimento *in vivo* de cana-de-açúcar (cv. RB932520) proveniente de micropropagação *in vitro* em sistema de baixo-custo ao final da avaliação do telado.

Colombo *et al.* (2004), utilizando duas espécies de orquídeas (*Cattleya loddigesii* e *Laelia lundii*), provenientes de sistema de propagação, substituindo o fitorregulador pelo fungicida Clorotalonil, observou que, para a espécie *Cattleya loddigesii* a uma dose de 0,2 g.L<sup>-1</sup> de clorotalonil, apresentou 98% de pegamento e para a espécie *Laelia lundii* a uma dose de 0,1 g.L<sup>-1</sup> de clorotalonil apresentou 86% de pegamento.

#### CONCLUSÃO

A cana-de-açúcar (cv. RB932520) proveniente da micropropagação *in vitro* em sistemas de baixo-custo obteve 100% de aclimação. O desenvolvimento *in vivo* foi menor no tratamento 5. Após 60 dias, não apresentou diferença estatística no seu comprimento.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COLOMBO, L. A. *et al.* Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de suas espécies de orquídeas brasileiras. **Acta Scientiarum**, v. 074/03, 2004.

CIDADE, D. *et al.* Morfogênese *in vitro* de variedades brasileiras de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** - aceite para publicação (in press), 2006.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA-CNPQ, v. 1, p. 183-260. 1998.

MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.

SILVA, G. C. *et al.* Produtos e sub-produtos da cana-de-açúcar: o PET/agronomia/UFRPE e o agronegócio numa ação de extensão. In: **XI Encontro Nacional dos Grupos PET – ENAPET**. Florianópolis, 2006.

Palavras-chave:

*Saccharum* spp., enraizamento, aclimação, casa-de-vegetação

<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Agradecimento: FACEPE, IPA e UPE.

## **Conteúdo endógeno de AIA, ABA, poliaminas e aminoácidos na maturação de embriões somáticos de *Ocotea catharinensis*.**

Dias, Leonardo Lucas Carnevali<sup>1</sup>; Santa-Catarina, Claudete<sup>2</sup>; Silveira, Vanildo<sup>3</sup>; Floh, Eny lochevet Segal<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Doutorando do programa de Pós Graduação Inter-Unidades em Biotecnologia (USP); Instituto de Biociências; Departamento de Botânica; Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL); Rua do Matão, 277 – Butantã – São Paulo/SP; e-mail: [leodias@usp.br](mailto:leodias@usp.br); <sup>2</sup> Pós Doutoranda (USP) Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL) e-mail: [claudete@usp.br](mailto:claudete@usp.br); <sup>3</sup> Professor Associado – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF); Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB); Laboratório de Biotecnologia (LBT); Avenida Alberto Lamego, 2000; Parque California; CEP 28013-602 – Campos dos Goytacazes-RJ Fone (22) 27261420; e-mail: [vanildo@uenf.br](mailto:vanildo@uenf.br); <sup>4</sup> Professora Associada (USP); Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL); e-mail: [enyfloh@usp.br](mailto:enyfloh@usp.br)

A embriogênese somática é o processo onde células isoladas ou um pequeno grupo de células somáticas, dão origem a embriões somáticos, num processo morfogenético que se aproxima da seqüência de eventos que ocorrem na embriogênese zigótica. A fase de maturação é uma etapa fundamental deste processo, na qual os embriões somáticos apresentam alterações morfológicas e bioquímicas, incluindo o acúmulo de substâncias de reserva e aquisição da tolerância a desidratação. Alterações no perfil de aminoácidos e de ABA, AIA e poliaminas podem ser constatados durante esta etapa. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de PEG e ABA ao meio de maturação no crescimento e níveis endógenos de AIA, ABA, poliaminas e aminoácidos em embriões somáticos de *O. catharinensis*. Foram utilizados embriões somáticos mantidos por embriogênese repetitiva, subcultivados em períodos de 25 dias. Foram testados os seguintes tratamentos: A) controle; B) 100 µM de ABA; C) 9% de PEG; D) 100 µM de ABA + 9% de PEG. Após 4 semanas de cultivo o crescimento dos embriões somáticos foi avaliado, e foram obtidas amostras para a determinação do conteúdo de AIA e ABA e os perfis de PAs e aminoácidos. Observou-se que: a) A suplementação do meio de maturação com PEG 9% e a combinação PEG 9% + ABA (100 µM) promoveram uma redução no crescimento em matéria fresca e no número de embriões somáticos, quando comparado com o controle e o tratamento contendo ABA (100 µM) isoladamente. b) Os diferentes tratamentos de maturação dos embriões somáticos afetaram significativamente os níveis endógenos de ABA. Assim, a combinação de PEG+ABA resultou no maior acúmulo endógeno de ABA quando comparado com estes compostos adicionados isoladamente, e com o tratamento controle. Contrariamente aos níveis de ABA, o conteúdo endógeno de AIA não variou nos diferentes tratamentos de maturação. c) A suplementação ao meio de cultura com PEG+ABA resultou no maior acúmulo de PAs totais (livres + conjugadas) e na menor relação Put.(Spd+Spm)<sup>-1</sup>. d) A suplementação com PEG (9%) resultou no maior conteúdo endógeno de aminoácidos livres totais, seguido pela combinação PEG+ABA. Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a adição de ABA e PEG são fundamentais para o processo de maturação, onde as variações no metabolismo de PAs, aminoácidos e ABA puderam ser identificadas, e resultaram na maturação adequada dos embriões somáticos de *O. catharinensis*.

### **PALAVRAS-CHAVES:**

Embriogênese somática; *Ocotea catharinensis*; maturação; aspectos bioquímicos.

## Indução da embriogênese somática em cana-de-açúcar.

Amanda Ferreira Macedo<sup>1,2</sup>; Claudete Santa-Catarina<sup>2</sup>; Eny Iochet Segal Floh<sup>2</sup>; Vanildo Silveira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (USP). E-mail: [amandafm\\_bio@yahoo.com.br](mailto:amandafm_bio@yahoo.com.br); <sup>2</sup>IB/USP, Depto. de Botânica, Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL), CP. 11461, CEP 05.422-970, São Paulo-SP, Brasil. Fone: (11) 3091-8062 - <sup>3</sup>CBB/UENF, Laboratório de Biotecnologia (LBT), Av. Alberto Lamego, 2000. CEP 28.013-602, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil. Fone: (22) 2726-1420. E-mail: [vanildo@uenf.br](mailto:vanildo@uenf.br).

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) é uma planta cultivada principalmente em regiões tropicais e apresenta significativa importância para a economia mundial, setor que o Brasil ocupa posição de destaque. As técnicas de cultivo *in vitro*, como a embriogênese somática, e de transformação genética em cana-de-açúcar apresentam um grande potencial de aplicação em programas de melhoramento genético desta espécie. A indução de calos embriogênicos é uma etapa determinante na embriogênese somática de cana-de-açúcar, influenciando diretamente na capacidade de obtenção de embriões somáticos e na regeneração de plantas. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo eficiente de indução de calos embriogênicos de cana-de-açúcar. Como explantes foram utilizados discos de 2 mm de espessura, obtidos a partir do palmito (folhas jovens enroladas) de plantas da cultivar (SP87-365, Copersucar), com 30 cm de altura após a germinação. Os explantes foram inoculados individualmente em tubos contendo meio cultura de indução MS suplementado com 0 (zero); 10, 20, 30 ou 40  $\mu$ M de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético). Após 20 dias foi possível verificar a indução de calos somente nos tratamentos suplementados com 2,4-D. A maior porcentagem de indução de calos 25,0% foi observada no tratamento com 10  $\mu$ M de 2,4-D, com a presença de dois tipos morfológicos de calos com distinto potencial morfogênico: 1) calo embriogênico, com característica nodular, compacto e facilmente destacável da estrutura original e, 2) calo não-embriogênico, com característica mucilaginosa e translúcido. Nos demais tratamentos com 2,4-D observaram-se apenas induções de calos não-embriogênicos nas porcentagens de 14,3%, 18,2%, 17,6% para 20  $\mu$ M, 30  $\mu$ M e 40  $\mu$ M de 2,4-D, respectivamente. Esses resultados indicam que o uso de 2,4-D foi essencial para a indução de calos em cana-de-açúcar, sendo que o uso de 10  $\mu$ M de 2,4-D resultou na obtenção de calos embriogênicos. Os resultados obtidos, além de importantes para os estudos básicos, são fundamentais no desenvolvimento de estratégias de utilização da embriogênese somática como ferramenta na regeneração de plantas geneticamente modificadas. (FAPESP, CNPq)

### PALAVRAS-CHAVES

Cana-de-açúcar; embriogênese somática; biotecnologia; cultivo *in vitro*.



## Tempo resposta de calos embriogênicos de duas variedades de cana-de-açúcar submetidos a um estresse salino

Gomes, Isabele Aragão<sup>1</sup>; Marques, Maria Tereza França<sup>1</sup>; Dantas, Cibelle Vanucia Santana<sup>2</sup> & Macedo, Cristiane Elizabeth Costa<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudantes do curso de Ciência Biológicas UFRN, ([isabele\\_ag@yahoo.com.br](mailto:isabele_ag@yahoo.com.br)), <sup>2</sup>Bolsista Pibic CNPq, estudante do curso de Ciência Biológicas na UFRN ([cibelley\\_rn@hotmail.com](mailto:cibelley_rn@hotmail.com)); <sup>3</sup>Prof. Dra. do Departamento de Biologia Celular e Genética da UFRN Campos Universitário, Lagoa Nova, s/n, Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética, CEP 59072970, natal, RN, fone (84) 32153425;([cirtianemacedo@ufrnet.br](mailto:cirtianemacedo@ufrnet.br)).

### INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos fatores abióticos que interfere no ambiente e no desenvolvimento de algumas plantas que não possuem adaptações para esse estresse. O excesso de sal afeta diferentes propriedades físicas e químicas dos solos e está presente nas regiões de clima semi-áridos do Brasil, sendo considerado como um dos grandes fatores de influência no alto custo de produção de diferentes culturas, como é o caso da cana-de-açúcar, uma das culturas mais importantes para a economia do Brasil. Isso ocorre por que as altas concentrações de sais induzem um estresse iônico e osmótico nas plantas, fazendo com que ocorra uma queda na produtividade (Martins, 2005). Uma das formas de amenizar o problema seria a recuperação dos solos salinos, entretanto essa técnica é onerosa e demorada se tornando inviável, sobretudo para os pequenos e médios agricultores. A busca de soluções para esse problema tem-se intensificado, e um dos meios encontrados é através de variantes somaclonais (mutantes) obtidos por técnicas de cultura de tecido vegetal *in vitro* associados a uma pressão de seleção. Tais técnicas vem sendo largamente utilizadas no melhoramento de diferentes espécies face a salinidade (Trivedia et al., 1991; Hien et al., 2003). Entretanto para se realizar a seleção *in vitro* é necessário não só estabelecer a dose resposta face ao agente estressor como o tempo de exposição que o material biológico, neste caso calos, massas de células formadas *in vitro*, devem ser expostos ao tal agente. Com isso, o objetivo deste trabalho foi determinar o tempo resposta a exposição de calos embriogênicos de cana-de-açúcar ao cloreto de sódio (NaCl), agente estressor utilizado par simular o estresse salino.

### METODOLOGIA

Calos embriogênicos das variedades RB 72454 e SP 813250 com idade entre 2 e 4 meses foram selecionados e inoculados em meio de regeneração MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com sacarose, inositol, solidificado com fitagel na ausência (controle) e na presença de NaCl (100mM) para induzir estresse salino. Os calos permaneceram na presença de NaCl durante três tempos de exposição: 5 (T1), 10 (T2) e 15 dias(T3). Logo em seguida, os calos foram subcultivados no mesmo meio para regeneração sem adição de sal e, após 21 dias, foi analisado o aspecto dos calos (tipo e coloração) e computados em percentual (%): os regenerados ou a taxa de conversão de calos em brotações, o número médio de brotações por calos e a taxa de crescimento relativa dos calos. A taxa de crescimento relativa doa calos, em relação ao controle, foi calculada utilizando-se a seguinte formula:  $X = (T_1 \times 100 / T_0) - 100$ , onde  $X$  é taxa de crescimento relativa (em relação ao controle);  $T_0$  é o diâmetro do calos medido no inicio do experimento (antes da imposição do estresse) e  $T_1$  é o diâmetro do calos medido 21 dias após o tempo de exposição ao fator estressante.

## RESULTADOS

Com relação à coloração translúcida ou amarelada, os calos com 5 dias de estresse em ambas as variedades não apresentaram coloração translúcida, e para a variedade RB 72454 as % de calos translúcidos em 10 e 15 dias de exposição ou não ao NaCl foram maiores na presença de sal (Gráfico 1).

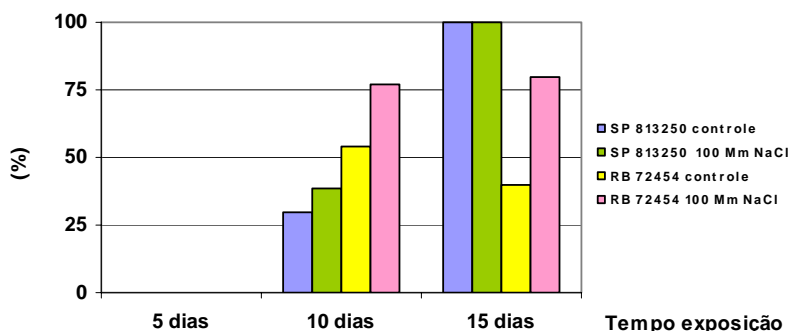


Gráfico 1: Taxa de calos translúcidos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

Com relação ao aspecto dos calos, observa-se que os mesmos apresentaram um bom desenvolvimento expresso pela taxa de calos friáveis tanto na ausência como na presença de NaCl em todos os tempos de exposição ou não (controle) ao referido sal (Gráfico 2). Entretanto com 10 dias a % de calos friáveis da variedade SP 813250 foi menor no controle quando comparada a taxa de calos friáveis em presença de 100mM de NaCl e a mesma resposta foi observada com 15 dias para a variedade RB 72454.

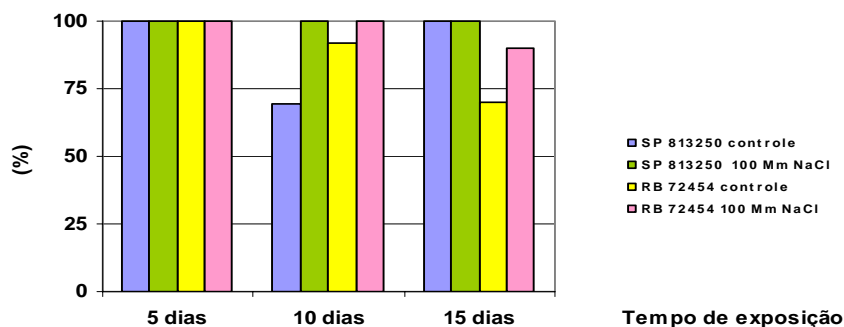


Gráfico 2: Taxa de calos friáveis das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

Analisando a capacidade de regeneração dos calos em brotações após o estresse, observa-se que aqueles estressados durante 10 dias apresentaram uma maior taxa de conversão em brotações em presença de sal em relação ao controle nas duas variedades e que a mesma resposta foi observada com 5 dias para a variedade SP 813250 (Gráfico 3). Observou-se uma diminuição na taxa de regeneração dos calos expostos ao sal durante 15 dias de estresse quando comparada a exposição de 10 dias. Tal redução foi altamente significativa nos calos provenientes da variedade RB 72454. Tais resultados mostram que a variedade SP 813250 é menos afetada pelo sal independente do tempo de exposição ao estresse e que aparentemente existe um tempo resposta (5 e 10 dias) onde a presença do sal deve estimular a regeneração de brotos.

A correlação entre a taxa de regeneração de calos e as taxas de coloração e do aspecto dos mesmos (Gráficos 1 e 2) sugere que provavelmente em cana-de-açúcar calos friáveis e translúcidos submetidos ao estresse salino (100mM de NaCl)

durante 10 dias de exposição possuem uma maior capacidade de se converter em brotos.

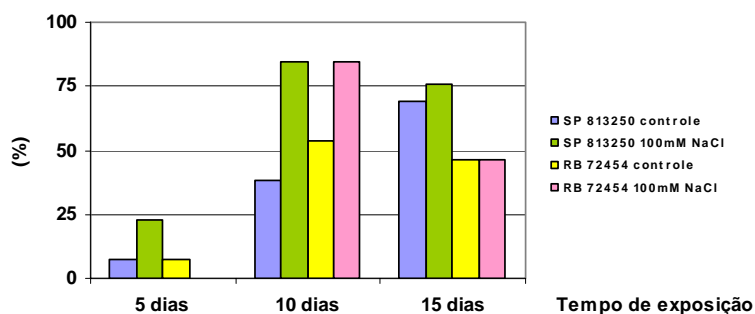


Gráfico 3: Taxa de regeneração de calos que formaram brotos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

A adição de sal ao meio de cultura durante 10 e 15 dias não afeta e provavelmente estimule ligeiramente a formação de brotos por calos, pois nas variedades SP 813250 e RB 72454 obteve-se uma maior formação de brotos nos calos que tinham sido submetidos ao estresse (Gráfico 4). Entretanto, os calos da variedade RB 72454, como já discutido anteriormente (Gráfico 3), os calos apresentaram-se mais sensível ao sal quando estressados por um período de 5 dias visto que não houve conversão em brotos (Gráfico 4).

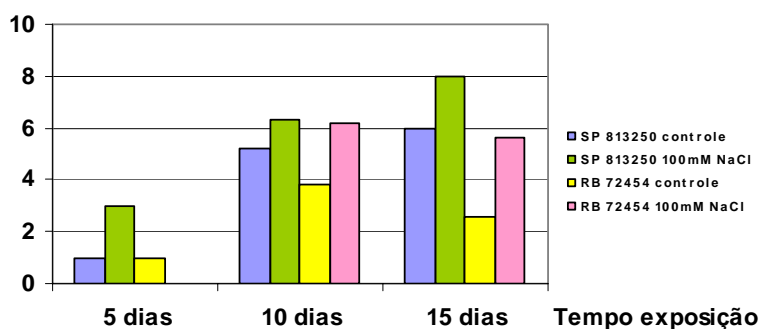


Gráfico 4: Número médio de brotos formados por calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

A taxa de crescimento é um dos principais parâmetros para a análise de calos submetidos a estresse abiótico, pois os processos de crescimento são particularmente sensíveis aos efeitos dos sais e da pressão osmótica, de forma que a taxa de crescimento e a produção de biomassa são bons critérios para a avaliação do grau de estresse e da capacidade de superá-lo. (Larcher, 2000).

Nesse trabalho foi possível observar que o NaCl estimulou ligeiramente (10 dias de exposição) e não interferiu (15 dias de exposição) no crescimento de calos da variedade SP 813250, embora o crescimento do controle tenha sido maior, mesmo assim superou a taxa de crescimento daqueles submetidos a 5 e 10 dias de estresse. Os calos da variedade RB72454, expostos ao NaCl durante 15 dias, apresentaram uma taxa de crescimento superior em relação aos outros tempos em presença de sal. Os calos, de ambas as variedades, que foram estressados por 5 dias não se desenvolveram em nenhuma das concentrações testadas (controle e 100mM). (gráfico 5).

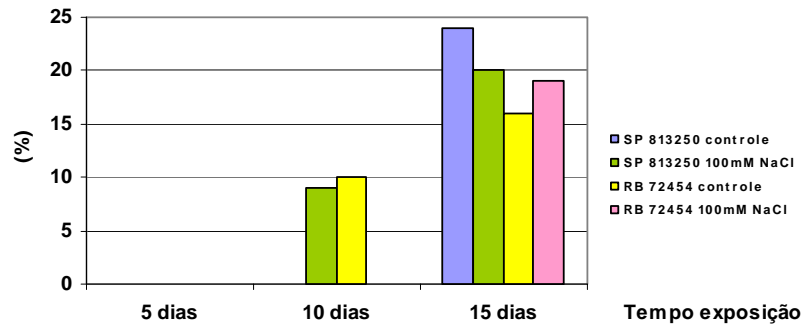


Gráfico 5: Taxa de crescimento dos calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar nos três tempo de exposição (5; 10 e 15 dias) ao NaCl (100mM) e na ausência (controle) do sal.

## CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos, conclui-se que 15 dias é o melhor tempo de exposição ao sal para se realizar a seleção *in vitro* de calos embriogênicos de cana-de-açúcar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

HIEN,D.T., JACOBS, M., ANGENON, G., HERMANS, C., THU, T.T., SON, L.V &ROOSENS, N.H. Proline accumulation and  $\Delta$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in the rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. **Plant Science**, v.165. p.1059-1068. 2003

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. SP :Rima arte e textos. P.418-433. 2000.

MARTINS, C.P., Estudos comparativos de abacaxizeiros submetidos aos estresses salinos ou hidrônicos cultivados *in vitro* e hidropônia.Natal. RN. 2005.

MURASHIGE,T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**. V.15. p. 473-497. 1962.

TRIVEDIA, S., GALIBAB, G., SANKHLAO, N. & ERDAIA, L. Responses to osmotic and NaCl stress of wheat varieties differing in drought and salt tolerance in cell cultures. **Plant Science** v.73. p.227-232. 1991.

## PALAVRAS-CHAVES:

*Saccharum officinarum*; cana-de-açúcar; Tempo resposta; estresse salino; embriogênese somática.

## <sup>1</sup> AGRADECIMENTOS

<sup>1</sup> Usina Estivas; CNPq; FINEP; DBG-UFRN



## **Indução do florescimento de *Hemerocallis hybrida* cv. Graziela Barroso após a aplicação de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>).**

Ottmann, Michelle Melissa Althaus<sup>1</sup>; Koehler, Henrique Soares<sup>2</sup>; Zuffellato-Ribas, Katia Christina<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Engenheira Florestal, Mestre em Agronomia, Av. Benjamin Lins 750, CEP 80420-100, Curitiba, Paraná, email: michellealthaus@hotmail.com; <sup>2</sup> Prof. Dr., Depto. Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 80035-05 Curitiba, Paraná, <sup>3</sup> Profa. Dra., Depto. Botânica, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970 Curitiba (PR), email: kazu@ufpr.br.

A floricultura no Brasil tem crescido significativamente, especialmente em Santa Catarina. Atualmente a especialização é o caminho mais seguido por produtores que estão crescendo, destacando-se a produção de *Hemerocallis*. *Hemerocallis* são plantas herbáceas, perenes, muito utilizadas no paisagismo, cultivadas a pleno sol que florescem apenas na primavera, fato que dificulta de certa forma a sua comercialização em outros períodos do ano. De todos os reguladores vegetais que têm sido aplicados em plantas sob condições não indutivas, as giberelinas (GAs) têm demonstrado causar efetiva formação de flores numa grande variedade de espécies. O objetivo do presente trabalho foi estudar a indução do florescimento em *Hemerocallis hybrida* cultivar Graziela Barroso, pela aplicação de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), em três estações: verão, outono e inverno do ano de 2005, de forma a aprimorar seus requisitos para comercialização. Foram utilizadas três concentrações de ácido giberélico: 0 mgL<sup>-1</sup>; 15 mgL<sup>-1</sup> e 30 mgL<sup>-1</sup>, com pulverizações semanais, iniciadas uma semana após as instalações. Semanalmente também foram retiradas 30 plantas para análises das variáveis a serem testadas, totalizando 10 coletas por estação, onde foram avaliados: número de hastes florais emitidas, comprimento das hastes florais emitidas, número de botões florais, massa seca total e área foliar. Foram utilizadas 300 mudas por estação, plantadas em vasos de polipropileno, com volume de 2,8 litros, preenchidos com substrato (NPK 10:10:10; esterco de ave; solo e casca de arroz carbonizada) na proporção 1:8:80:100. Estas mudas foram mantidas em estufa em Joinville, Santa Catarina com irrigação manual por 70 dias em cada estação. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado com fatorial 3X10 (três concentrações de GA<sub>3</sub>, e 10 aplicações de GA<sub>3</sub>). Nas três estações estudadas não houve resposta significativa das variáveis número de hastes florais, comprimento de haste floral e número de botões florais emitidos, aos tratamentos com ácido giberélico. Enquanto que para as variáveis de crescimento, massa seca total e área foliar houve interação estatística entre os fatores estudados. Na estação verão, o melhor resultado para esta variável foi encontrado para plantas testadas com 30 mgL<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> na aplicação nove. Na estação outono apenas a variável área foliar mostrou interação estatística entre os fatores estudados, também indicando que os melhores valores foram encontrados em plantas tratadas com 30 mgL<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, na aplicação nove. Na estação inverno não houve resultados com interações estatísticas significativas. Nas condições dos experimentos realizados não se recomenda a aplicação do regulador vegetal ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), com o intuito de induzir o florescimento da espécie *Hemerocallis hybrida* cv. Graziela Barroso e embora os melhores resultados para as variáveis de crescimento, massa seca total e área foliar tenham sido encontrados em plantas tratadas com ácido giberélico a 30 mgL<sup>-1</sup> em termos práticos recomenda-se uma análise de custo-benefício da utilização do mesmo para implementar a produção da espécie em questão.

**Palavras-chave:** *Hemerocallis hybrida* cv. Graziela Barroso, floração, giberelina, estufa.

## **Análise proteômica comparativa durante a maturação de culturas embriogênicas de *Araucaria angustifolia*.**

Andrade, Julia Bolanho da Rosa<sup>1,2</sup>; Dias, Leonardo Lucas Carnevalli<sup>2</sup>; Balbuena, Tiago Santana<sup>2</sup>; Santa-Catarina, Claudete<sup>2</sup>; Floh, Eny lochevet Segal<sup>2</sup>; Silveira, Vanildo<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Iniciação Científica – FAPESP. E-mail : [juliabolanho@yahoo.com.br](mailto:juliabolanho@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL), Depto. de Botânica, IB/USP. CP. 11461, CEP 05.422-970, São Paulo-SP, Brasil. Fone: (11) 3091-8062; <sup>3</sup>Laboratório de Biotecnologia (LBT), CBB/UENF, Av. Alberto Lamego, 2000. CEP 28.013-602, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil. Fone: (22) 2726-1420. E-mail: [vanildo@uenf.br](mailto:vanildo@uenf.br).

A evolução morfogênica dos embriões, durante a embriogênese em plantas, é acompanhada por uma intensa síntese de proteínas LEAs (proteínas da embriogênese tardia) e proteínas de reserva que possuem papel fundamental durante a fase de maturação. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ABA e dos agentes osmóticos, polietilenoglicol (PEG) e maltose, na expressão diferencial de proteínas durante a maturação de culturas embriogênicas de *A. angustifolia*. Culturas embriogênicas de *A. angustifolia* foram submetidas a cinco tratamentos de maturação: 1) Controle, meio de cultura BM; 2) ABA, meio BM suplementado com ABA (200 µM); 3) PEG, meio BM suplementado com PEG (9%); 4) Maltose, meio BM suplementado com maltose (9%) e; 5) APM, meio BM suplementado com ABA (200 µM), PEG (9%) e maltose (9%). Após 60 dias de cultivo as proteínas totais foram extraídas com tampão uréia:tiouréia (7M:2M), seguido de precipitação em 10% ácido tricloroacético (TCA)/acetona. Alíquotas de 120 µg de proteínas foram isofocalizadas em tiras de gel IPG (gradiente imobilizado de pH) de 11 cm e faixa de pH 4-7, sendo posteriormente submetidas à separação eletroforética em gel de poliácridamida SDS-PAGE 12%. As proteínas foram visualizadas pela coloração com prata e os géis analisados através do programa Image Master 2-D Platinum<sup>®</sup>. O tratamento PEG resultou na expressão de maior número de proteínas (420 polipeptídeos), enquanto a adição de ABA apresentou 164 polipeptídeos. Os demais tratamentos: Controle, Maltose e APM apresentaram, respectivamente, 347, 322 e 273 polipeptídeos. Todos os tratamentos apresentaram predominância de proteínas com peso molecular entre 30 kDa e 60 kDa. O tratamento suplementado com Maltose apresentou maior porcentagem de polipeptídeos de alto peso molecular (31,4%) quando comparado com os demais tratamentos. A identificação das proteínas expressas diferencialmente pode contribuir para a compreensão do desenvolvimento embrionário, além de auxiliar na otimização dos protocolos de maturação das culturas embriogênicas em *A. angustifolia*. (FAPESP, CNPq)

### **PALAVRAS-CHAVES :**

*Araucaria angustifolia*, proteômica, eletroforese bidimensional, embriogênese somática, ácido abscísico.

## **Crescimento e desenvolvimento de gametófitos de avencão em diferentes meios nutritivos.**

Correia, Diva<sup>1</sup>; Morais, João Paulo Saraiva<sup>2</sup>; Sousa, Alan Bernard Oliveira de<sup>3</sup>; Marques, Kássio Cavalcante<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1870, email: [dcorreia@cnpat.embrapa.br](mailto:dcorreia@cnpat.embrapa.br); <sup>2</sup>Assistente da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), fone (85) 3299-1880, email: [saraiva@cnpat.embrapa.br](mailto:saraiva@cnpat.embrapa.br); <sup>3</sup>Estagiário da Universidade Federal do Ceará - UFC - Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880 email: [alan2b@gmail.com](mailto:alan2b@gmail.com); <sup>4</sup>Estagiário da Universidade Vale do Acaraú - UVA - Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [kassiocmarques@yahoo.com.br](mailto:kassiocmarques@yahoo.com.br);

As folhagens de corte e de vaso representam 6% da área total cultivada de flores e plantas ornamentais no Brasil. A pteridófito *Rumohra adiantiformis* (avencão) é originária da América do Sul e se destaca entre as plantas ornamentais como uma das folhagens mais utilizada em composição de arranjos. O estudo objetivou avaliar o crescimento e desenvolvimento de avencão em diferentes meios nutritivos. O experimento foi conduzido na Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, Ceará. Esporos de avencão germinaram e desenvolveram gametófitos em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) durante 5 meses de cultivo, em ambiente à temperatura de  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e radiação ativa fotossintética de  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Aglomerados de gametófitos foram inoculados em cinco meios de cultura diferentes: JADS (CORREIA et al., 1995), MS, MS diluído a 75%, a 50% e a 25% e mantidos durante 60 dias de cultivo, para a sua multiplicação. Posteriormente, instalou-se um experimento no qual se utilizou, como fonte de explantes, material vegetal (explantes-padrão com aproximadamente 2,2 mg de massa seca) oriundo de cada meio nutritivo, usando o delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 3 repetições, 10 frascos por repetição e 5 explantes por frasco. As condições de crescimento foram similares às da germinação dos esporos e desenvolvimento de gametófitos. Após 60 dias, avaliaram-se a massa fresca, massa seca, porcentagem de massa seca, taxa de crescimento relativo. O material vegetal foi submetido à análise de nutrientes minerais. Gametófitos crescidos em MS diluído a 25% apresentaram os menores valores para massa fresca, massa seca, taxa de crescimento relativo e a maior porcentagem de massa seca, diferenciando estatisticamente dos demais tratamentos, apresentando, também, vigor ótimo e crescimento em aglomerados homogêneos muito diferenciados. Culturas crescidas em MS e MS diluído a 75% apresentaram os maiores valores para todas as variáveis analisadas, exceto para porcentagem de massa seca. Estas culturas também apresentaram crescimento em aglomerados homogêneos muito compactos, pouco diferenciados e com vigor bom. Aqueles crescidos em meio nutritivo JADS destacaram-se por apresentar a menor porcentagem de massa seca, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Estes apresentaram crescimento intenso em aglomerados homogêneos pouco compactos, mais diferenciados e com vigor ótimo. Os teores de nutrientes minerais nos tecidos vegetais variaram em função do meio nutritivo. Os teores de K, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn e Na foram maiores no meio JADS, enquanto o de N foi o menor, em comparação com os demais tratamentos. Desta forma, pelos resultados das variáveis físicas e pelos teores de nutrientes minerais, sugere-se que o melhor meio nutritivo para o crescimento e desenvolvimento de gametófitos de avencão é o JADS.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Rumohra adiantiformis*; folhagem, cultura *in vitro*, nutrição mineral *in vitro*.

## Macronutrientes, aspectos nutricionais e bioquímicos no crescimento de brotações de *Eucalyptus grandis* in vitro.

Correia, Diva<sup>1</sup>; Gonçalves, Antônio Natal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1870, email: [dcorreia@cnpat.embrapa.br](mailto:dcorreia@cnpat.embrapa.br);

<sup>2</sup>Professor da Universidade de São Paulo (USP – ESALQ - Departamento de Ciências Florestais), Caixa Postal 09, CEP 13418-900, Piracicaba, São Paulo, fone (19) 3436-8647, email: [natalgon@esalq.usp.br](mailto:natalgon@esalq.usp.br).

Os objetivos deste estudo foram avaliar o equilíbrio iônico dos meios de cultura, o crescimento, aspectos nutricionais e bioquímicos em brotações de *Eucalyptus grandis* cultivadas em meio líquido suplementado com nitrogênio (17,3; 26,0; 39,0 e 58,5 mmol L<sup>-1</sup>), fósforo (2,0; 3,0; 4,5 e 6,75 mmol L<sup>-1</sup>), potássio (7,5; 11,0; 16,5 e 24,75 mmol L<sup>-1</sup>), cálcio (3,3; 5,0; 7,5 e 11,25 mmol L<sup>-1</sup>); magnésio (2,0; 3,0; 4,5 e 6,75 mmol L<sup>-1</sup>) e enxofre (2,29; 3,29; 4,79 e 7,04 mmol L<sup>-1</sup>). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente aleatorizado com 19 tratamentos. As massas fresca e seca, porcentagem de massa seca, taxa de crescimento relativo, pH dos meios de cultura foram avaliados semanalmente durante 21 dias de cultivo e os teores de nutrientes minerais, carboidratos não-estruturais solúveis totais, proteínas solúveis totais e prolina foram avaliados aos 21 dias de cultivo. O equilíbrio iônico dos meios de cultura mostrou alterações em função do macronutriente e da concentração utilizada. Fósforo e cálcio foram os nutrientes que mais influenciaram as estimativas da especiação iônica. A morfogênese das brotações foi afetada pelo macronutriente e concentração utilizada. Concentrações a partir de 39,0 mmol L<sup>-1</sup> de nitrogênio, 4,5 mmol L<sup>-1</sup> de fósforo, 16,5 mmol L<sup>-1</sup> de potássio, 7,5 mmol L<sup>-1</sup> de cálcio, 6,75 mmol L<sup>-1</sup> de magnésio e 4,79 mmol L<sup>-1</sup> de enxofre mostraram-se excessivas. O meio de cultura JADS (CORREIA et al., 1995) contendo, em mmol L<sup>-1</sup>, 26,0 (N), 3,0 (P), 11,0 (K), 5,0 (Ca), 3,0 (Mg) e 3,0 (S) apresentou crescimento ótimo das brotações, mas não o crescimento máximo. As massas fresca e seca apresentaram incrementos ao longo do período de cultivo e maiores taxas de crescimento relativo durante os primeiros 7 dias de cultivo. Variações das concentrações dos macronutrientes em meios de cultura promoveram respostas diferenciadas para teores de macronutrientes e de micronutrientes na massa seca de brotações. Teores de carboidratos não-estruturais solúveis totais, proteínas solúveis totais e prolina da massa fresca das brotações variaram em função do macronutriente e concentração utilizada, aos 21 dias de cultivo.

### PALAVRAS-CHAVES

*Eucalyptus grandis*; nutrição mineral in vitro; carboidratos não-estruturais solúveis totais; proteínas solúveis totais; prolina.

## Crescimento de mandacaru em diferentes substratos em tubetes.

Correia, Diva<sup>1</sup>; Silva, Ingrid Cavalcante<sup>2</sup>, Marques, Kássio Cavalcante<sup>3</sup>; Morais, João Paulo Saraiva<sup>4</sup>; Coelho, Paulo Jorge Araújo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1870, email: [dcorreia@cnpat.embrapa.br](mailto:dcorreia@cnpat.embrapa.br); <sup>2</sup>Estagiária da Universidade Federal do Ceará - UFC - Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880 email: [ingridbioufc@gmail.com](mailto:ingridbioufc@gmail.com); <sup>3</sup>Estagiário da Universidade Vale do Acaraú - UVA - Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [kassiocmarques@yahoo.com.br](mailto:kassiocmarques@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Assistente da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), fone (85) 3299-1880, email: [saraiva@cnpat.embrapa.br](mailto:saraiva@cnpat.embrapa.br).

O *Cereus jamacaru*, conhecido como mandacaru, é uma cactácea que ocorre principalmente na Região Nordeste do Brasil, sendo utilizado como planta ornamental e forrageira nas regiões semi-áridas. Seu espesso caule colunar, com tonalidade que varia de verde a azulada torna essa espécie bastante atrativa para o mercado de plantas ornamentais. A exploração comercial de forma sustentável do mandacaru, assim como de outras cactáceas, depende em grande parte do seu conhecimento biológico e do uso de técnicas adequadas de propagação. O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento de plantas de mandacaru em diferentes substratos. Plantas obtidas a partir da germinação de sementes, com 90 dias de idade, e altura entre 2,5 e 4,0 cm, foram transplantadas para tubetes de polipropileno de 288 cm<sup>3</sup> contendo diferentes substratos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 4 tratamentos, 5 repetições e 10 tubetes com 1 planta cada, por parcela. Os tratamentos foram constituídos de: S<sub>1</sub> - casca de arroz triturada e carbonizada, pó da casca (mesocarpo) do coco verde e vermicomposto (5:3:2 v/v); S<sub>2</sub> - casca de arroz triturada e carbonizada, vermiculita fina e vermicomposto (5:3:2 v/v); S<sub>3</sub> - pó da casca do coco verde e vermicomposto (7:3 v/v) e S<sub>4</sub> - substrato comercial Hortimix<sup>®</sup>. Os substratos foram submetidos às análises física e físico/química antes da instalação do experimento. Aos 90 dias, foram avaliadas as variáveis: altura da parte aérea, diâmetro do colo da planta, diâmetro da maior região do caule, massas fresca e seca da parte aérea e das raízes, comprimento da maior raiz, facilidade de remoção da muda do tubete e agregação das raízes ao substrato. O material vegetal foi submetido à análise de nutrientes minerais. Para todas as variáveis analisadas, exceto facilidade de remoção da muda do tubete, o substrato composto por casca de arroz triturada e carbonizada, vermiculita fina e vermicomposto (S<sub>2</sub>) foi estatisticamente superior aos demais tratamentos. Quanto ao resultado das análises física e físico/química, este substrato destaca-se dos demais por apresentar a menor condutividade elétrica, menor concentração de Na, maior relação C/N e relação NO<sub>3</sub><sup>1-</sup>:NH<sub>4</sub><sup>1+</sup> igual a 2:1. Plantas crescidas no substrato S<sub>2</sub> apresentaram teores de nutrientes minerais diferenciados dos demais tratamentos. Conclui-se, assim, que a formulação do substrato S<sub>2</sub> apresenta características físicas e físico/químicas adequadas para o crescimento adequado de mudas de mandacaru com qualidade em tubetes, em 90 dias após o transplante. Isto representa redução de tempo, espaço e custo no sistema de produção de mudas de mandacaru, bem como uma alternativa de aproveitamento de resíduos agroindustriais à formulação de substratos.

### PALAVRAS-CHAVES

*Cereus jamacaru*, cactus, floricultura, produção comercial, componentes de substratos.



# DETERMINAÇÃO DE DOSES DE NaCl PARA A REALIZAÇÃO DE SELEÇÃO *IN VITRO* EM CALOS DE CANA DE AÇÚCAR

Marques, Maria Tereza Franco<sup>1</sup>; Gomes, Isabele Aragão<sup>1</sup>; Dantas, Cibelle Vanucia Santana<sup>2</sup> & Cristiane Elizabeth Costa de Macedo<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudantes do curso de Ciências Biológicas Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, fone (84) 32311427([mariaterezamarques@hotmail.com](mailto:mariaterezamarques@hotmail.com)), <sup>2</sup>Bolsista Pibic CNPQ, estudante do curso de Ciências Biológicas na UFRN; <sup>3</sup>Prof. Dra. do Departamento de Biologia Celular e Genética da UFRN Campos Universitário, Lagoa Nova, s/n, Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética, CEP 59072970, natal, RN, fone (84) 32153425;([cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br)).

## INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é um dos principais produtos produzidos no nordeste brasileiro. Atualmente esta planta tem sido atingida por diferentes fatores de estresse, dentre eles a salinidade a qual têm prejudicado a sua produtividade. Programas de melhoramento genético desta espécie visando uma maior resistência à salinidade são necessários para se aumentar à produtividade desta cultura e possibilitar sua introdução em áreas salinizadas que estão sendo constantemente abandonadas.

Variantes somaclonais (mutantes) fonte de variabilidade genética obtida *in vitro* associados a uma pressão de seleção vem sendo largamente utilizados visando o melhoramento de diferentes espécies face à salinidade (Dutta Gupta et al, 1995; Lutts, 1995; Almansouri & Kinet, 2004). Entretanto antes de se realizar uma seleção *in vitro* é necessário conhecer o grau de resistência da espécie estudada face ao fator de estresse determinando-se as doses do agente estressor a serem adicionados ao meio de cultura. Neste caso, pode-se estudar a resposta ao nível celular, utilizando-se assim calos que são massas de células formadas *in vitro*, e ao nível da planta completa.

Neste contexto, o objetivo, pois deste trabalho foi determinar a dose resposta ao cloreto de sódio (NaCl), agente estressor utilizado para simular o estresse salino, de calos embriogênicos de duas variedades ( SP813250 e RB72454), de cana-de-açúcar selecionando a variedade mais resistente pela ausência ou menor intensidade dos sintomas causados pelo sal.

## METODOLOGIA

Calos embriogênicos das variedades RB72454 e SP813250 com idade entre 2 e 4 meses foram selecionados e inoculados em meio de regeneração MS ( Murashige & Skoog, 1962) suplementado com sacarose, inositol, solidificado com fitigel na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM) para induzir estresse salino.

Os calos permaneceram na presença de NaCl durante 15 dias. Seguida a exposição ao estresse os calos foram subcultivados no mesmo meio para regeneração sem adição de sal. Após 21 dias o primeiro subcultivo em meio de regeneração foi analisado o aspecto dos calos (tipo e coloração) e computados: o número de calos regenerados ou a taxa de conversão de calos em brotações (%), o número médio de brotações por calos e a taxa de crescimento relativa dos calos. A taxa de crescimento relativa (em relação ao controle) dos calos foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:  $X = (T1 \times 100 / T0) - 100$ , onde X é taxa de crescimento relativa (em relação ao controle) T0 é o diâmetro dos calos medido no início do experimento (antes da imposição do estresse) e T1 é o diâmetro dos calos medido 21 dias após o tempo de exposição ao fator estressante.

## RESULTADOS

Decorrido 15 dias após o estresse foi observado características qualitativas como tipo de calo e coloração e quantitativas como número de calos regenerados, número de brotações por calos e taxa de crescimento dos calos das duas variedades estudadas. Observou-se que em ambas variedades a maioria dos calos é do tipo friável e de coloração translúcidos. Porém, todos os calos provenientes da variedade SP813250 e independente da dose apresentaram-se friáveis e de coloração translúcidos, enquanto que na RB72454 as taxas de calos friáveis e coloração translúcida variaram entre 60 e 100% e 40 e 100% respectivamente (Gráficos 1 e 2). Dentre o aspecto geral dos calos, os friáveis e translúcidos foram os que apresentaram diferença significativa quando comparados aos compactos e amarelados. De acordo com Torres (1998), calos friáveis e translúcidos têm uma maior capacidade regenerativa.

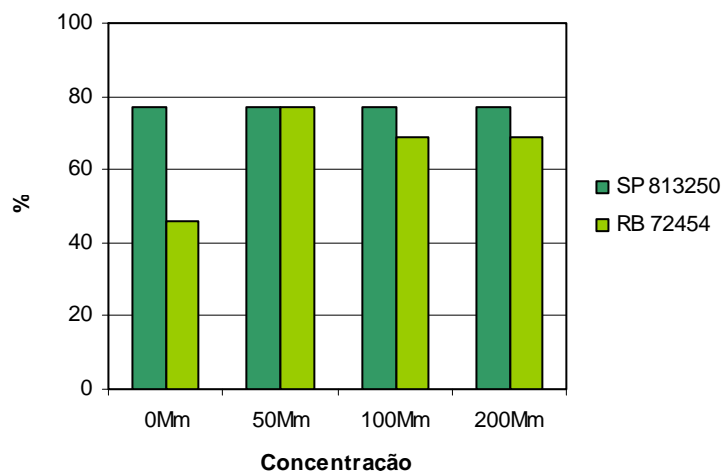


Gráfico 1: Taxa de calos friáveis das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

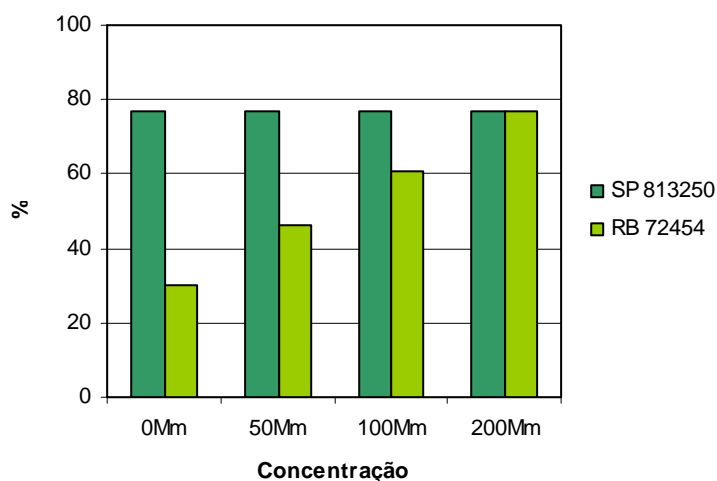


Gráfico 2: Taxa de calos translúcidos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

A adição de NaCl ao meio de cultura não afetou nem o crescimento nem a regeneração *in vitro*. A variedade SP 813250 obteve um melhor desempenho em todas as

concentrações de NaCl utilizadas, nas doses mais elevadas (exceto 100mM), os calos cresceram e regeneraram de forma significativa (Gráficos 3 e 4).

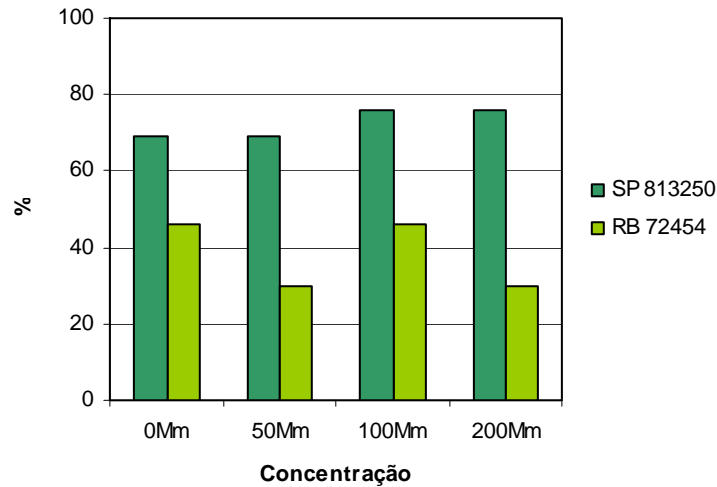


Gráfico 3: Taxa de regeneração de calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

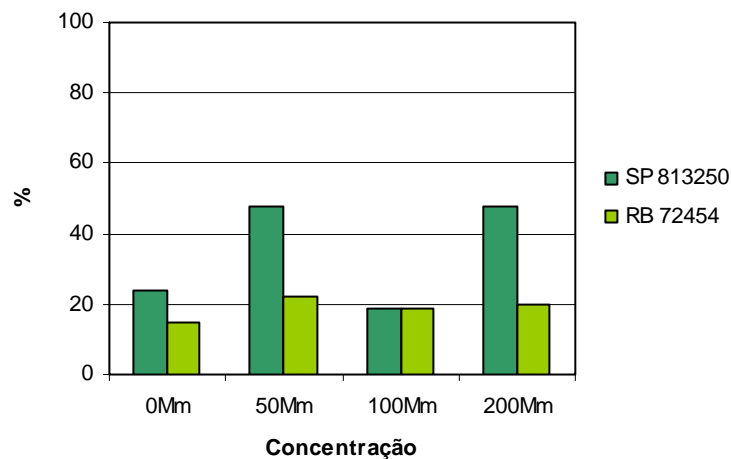


Gráfico 4: taxa de crescimento de calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

Observou-se que os calos mesmo em altas concentrações de sal mantiveram a capacidade regenerativa, a variedade SP813250 novamente se sobressaiu em relação à variedade RB72454, exceto na concentração de 50mM (Gráfico 5).



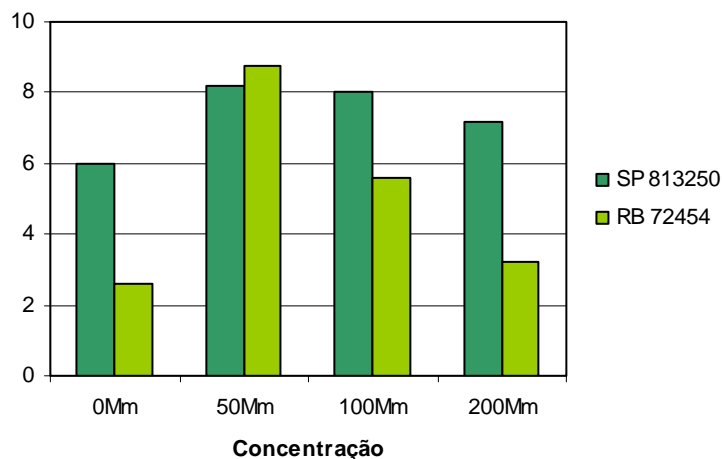


Gráfico 5: Número médio de brotações formados por calos das variedades SP 813250 e RB 72454 de cana-de-açúcar na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100 e 200mM).

## CONCLUSÃO

As doses de NaCl eleitas para serem usadas na seleção *in vitro* de calos de cana-de-açúcar são: 100 e 200 mM.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARAÚJO, J.B., GHEYI, H.R., AZEVEDO, N.C., Tolerância da bananeira à salinidade em fase inicial de desenvolvimento. Brasília. DF.1995

HEUER, B. Influence of application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants. **Plant science**, v.165. p. 693-699. 2003

MARTINS, C.P., Estudos comparativos de abacaxizeiros submetidos aos estresses salinos ou hídricos nos cultivos *in vitro* e hidroponia. Natal. RN. 2005

MURASHIGE, T., SKOOG, F., A revised médium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Compenhagem, v.15. 1962

## PALAVRAS-CHAVE

*Saccharum Officinarum*; Cultura *In vitro*; Dose resposta; Cloreto de Sódio(NaCl).

. Agradecimento<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Usina Estivas; Cnpq; Finep; DBG-UFRN

## **Análise de crescimento do amarílis (*Hippeastrum X hybridum* Hort.) cultivado a pleno sol.**

Mateus, Caroline de Moura D'Andréa<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Vilas Boas, Roberto Lyra<sup>3</sup>; Gonçalves, Fabiano Silva<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP – FCA), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, e-mail: [caroline\\_mateus@hotmail.com](mailto:caroline_mateus@hotmail.com); <sup>2</sup>Professora Doutora - Departamento de Produção Vegetal (UNESP – FCAV), e-mail: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup>Professor Livre-Docente, Departamento de Ciência do Solo (UNESP/FCA), Campus de Botucatu, Fazenda Lageado, Rua José Barbosa de Barros, nº 1780, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, SP, fone (14) 3811-7100, e-mail: [rlvboas@fca.unesp.br](mailto:rlvboas@fca.unesp.br); <sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Fazenda Terra Viva, Rodovia SP 107 km27, CEP 13825-000, Holambra, SP, fone (19) 3802-9016, e-mail: [fabiano@terraviva.agr.br](mailto:fabiano@terraviva.agr.br).

O *Hippeastrum X hybridum* Hort., também conhecido como amarílis, açucena ou flor-da-imperatriz, pertence à família Amaryllidaceae. Integra um grupo de herbáceas bulbosas, com inflorescências terminais constituídas por poucas flores brancas, róseas e em algumas variedades também vermelhas. Geralmente são cultivados em vasos, mas podem ser plantados a pleno sol como bordadura ou em conjuntos. Sua multiplicação é por bulbos, importante produto florícola no mercado mundial. A produção brasileira de bulbos de amarílis, estimada em mais de 3 milhões anuais, concentra-se na região de Holambra, no Estado de São Paulo, basicamente dedicado à exportação para a Holanda. Os diferenciais de produtividade e qualidade das plantas consistem no manejo dos fatores de produção, importantes para a intensa competição existente na floricultura. Para tanto é necessário que se conheça o comportamento da planta durante todo o seu ciclo. O presente trabalho teve como objetivo acompanhar o crescimento do amarílis (*Hippeastrum X hybridum* Hort. cv. Orange), sob cultivo em solo a pleno sol, nas condições encontradas em Santo Antônio de Posse – SP (altitude entre 560 e 732 m, latitude 22°42'24"S e longitude 47°59'50"W), caracterizando o ciclo, a fim de obter subsídios aos estudos dos fatores de produção, buscando aumentar a eficiência da produção de bulbos dessa espécie. O plantio foi realizado em março de 2006, em área total de 2 hectares, com a densidade de 40 mudas / metro. O preparo das mudas foi feito pelo método de escamas duplas (*twin scaling*), sendo plantadas com 5 a 10 cm de altura. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições de 10 plantas e os tratamentos consistiram de avaliações mensais, durante 14 meses. Foram avaliados os seguintes parâmetros, durante todo o ciclo (março / 2006 a abril / 2007): diâmetro do bulbo, área foliar, massa fresca e massa seca da planta (bulbo, folhas e total). Foi realizada a análise de regressão a fim de verificar o comportamento das variáveis ao longo dos meses. Verificou-se aumento gradual no diâmetro do bulbo durante todo o ciclo, iniciando com 1,20 cm, chegando à metade do ciclo com 3,40 cm e finalizando (abril/07) com 9,15 cm, em média. A área foliar alcançada ao final do experimento foi, em média, de 3.065 cm<sup>2</sup>, para uma média de 9 a 11 folhas por planta. A massa fresca total ao final do ciclo foi, em média, de 1.076 g, dos quais 60% foram de massa fresca de folha e o restante, aproximadamente 310 g, foram obtidos pelo bulbo da forma como é comercializado (bulbo + prato + raízes). A massa seca apresentou comportamento semelhante à massa fresca, sendo a participação do bulbo, na massa seca total, em média, de 55% (45 g).

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Hippeastrum X hybridum* Hort.; Amaryllidaceae; Amarílis; crescimento; bulbo.

## **Análise do perfil protéico de calos embriogênicos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) sob estresse salino.**

DANTAS, Cibelle Vanúcia Santana<sup>1</sup>; GOMES, Isabele Aragão<sup>2</sup>; MARQUES, Maria Tereza França<sup>2</sup>; MACEDO, Cristiane Elizabeth Costa<sup>3</sup> & UCHÔA, Adriana F.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista Pibic CNPQ, estudante do curso de Ciência Biológicas na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Campos Universitário, Lagoa Nova, s/n, Centro de Biociências-Departamento de Biologia Celular e Genética, fone (84) 32153425; CEP 59072970, Natal, RN, ([cibelley\\_rn@hotmail.com](mailto:cibelley_rn@hotmail.com)); <sup>2</sup>Estudantes do curso de Ciência Biológicas UFRN; <sup>3</sup>Profas. Dras. do Departamento de Biologia Celular e Genética da UFRN.

### **INTRODUÇÃO**

O estado do Rio Grande do Norte, situado na região Nordeste (NE) do país é um dos grandes produtores de cana-de-açúcar no Brasil, entretanto tal região possui quase 92% de seu território inserido em clima semi-árido onde a forte escassez pluviométrica provoca no solo já pobre e deficiente em água um aumento de salinização. Esta salinização excessiva do solo ocorre em muitas regiões áridas e semi-áridas do mundo inibindo o crescimento e a produtividade das plantas. Desta forma a cana-de-açúcar são constantemente submetidas ao estresse salino, reduzindo assim a produtividade agrícola.

As plantas expostas à salinidade estão sempre alterando seu metabolismo e ativando diferentes mecanismos de resistência para se adaptar e conviver com este tipo de estresse ambiental. Uma das estratégias de sobrevivência em ambientes salinos é o ajustamento osmótico, seja através do acúmulo e/ou da compartimentalização de solutos orgânicos e inorgânicos. Basicamente, esse mecanismo envolve dois processos: absorção de íons do sistema radicular seguido pelo acúmulo dos mesmos dentro dos vacúolos e síntese de solutos orgânicos que são acumulados no citosol.

Dentre os solutos mais conhecidos destacam-se além da prolina (Yoshida *et al.*, 1997), proteínas solúveis (Niu *et al.*, 1997); carboidratos (Garcia *et al.*, 1997) e poliaminas (Turano *et al.*, 1997), todos esses com a finalidade de proteger os tecidos vegetais do estresse osmótico. Neste sentido, diferentes pesquisas têm sido realizadas na tentativa de melhor conhecer os mecanismos de toxidez e resistência a esse fator de estresse.

Estudos bioquímicos, relacionados a proteínas que provavelmente possam estar implicadas em mecanismos de tolerância a salinidade, são de grande interesse dentro dos programas de melhoramento genético, pois com o auxílio de técnicas moleculares, pode-se localizar o ou os genes responsáveis que conferem a resistência a salinidade e posteriormente introduzi-los dentro de plantas sensíveis.

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi dosar as proteínas totais e analisar o perfil protéico de calos embriogênicos expostos ao cloreto de sódio (NaCl), agente estressante utilizado para simular o estresse salino.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

Extração de proteínas dos calos de cana-de-açúcar

Explantos de cana-de-açúcar da variedade SP 813250 foram cultivados por 90 dias em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de hormônio 2,4-D para a formação de calos. Após este período os calos foram transferidos para o mesmo meio contendo concentrações crescentes de NaCl (0; 50; 100 e 200 mM) para induzir um estresse salino e mantidos neste meio por 15 dias. Em seguida, os calos foram retirados do meio de cultivo, lavados, secos em papel toalha e pesados. Cerca de 600 mg de cada calo foram submetidos a rápido

congelamento e pulverização em nitrogênio líquido, a farinha de calos foi obtida com o auxílio de um almofariz e pistilo. A farinha de cada calo foi transferida para um tubo de centrifuga (Fálcón de 14 mL) ao qual foram adicionados 4 mL de tampão Tris-HCl 25 mM pH 7,6. Os extratos foram incubados em banho de gelo por 2 horas. Após este período o extrato bruto foi centrifugado a 21.000 x g por 10 min a 4 °C. O sedimentado (precipitado) foi descartado e o sobrenadante coletado para a determinação da quantidade de proteína solúvel total e análise por eletroforese em gel de poliacrilamida do perfil protéico.

Determinação de proteínas.

As determinações de proteínas solúveis totais dos calos foram feitas segundo o método de Bradford (1976), utilizando-se como padrão albumina sérica bovina (BSA).

Eletroforese em gel de poliacrilamida.

As proteínas foram submetidas à precipitação por 30 min com TCA (ácido tricloroacético) a 100 % na proporção de 9:1. Após este período, as proteínas precipitadas foram obtidas por centrifugação a 21.500 x g por 15 min a 12° C. O precipitado foi lavado três vezes com acetona gelada e centrifugado com descrito acima. A análise do perfil eletroforético das proteínas dos calos submetidos a diferentes concentrações de NaCl foi realizada segundo metodologia de Laemmli (1970), por eletroforese em gel de poliacrilamida (12 %) na presença de SDS. A eletroforese foi processada a voltagem constante de 50 V no gel de aplicação e 100 V no gel de separação. Após a corrida o gel foi revelado segundo o método descrito por Shevchenko (1996) com modificações, usando-se nitrato de prata.

## RESULTADOS E DISCUSÃO

A adição de NaCl ao meio de cultura afetou a concentração de proteínas solúveis totais nos calos embriogênicos de cana-de-açúcar submetidos ao estresse salino, apresentando uma diminuição ou queda de 35,1 % da proteína solúvel total na presença de 50 mM de NaCl, seguida de uma restauração da concentração a 100 mM, e um aumento de 29,5 % na dose mais elevada (200 mM de NaCl) quando comparada a concentração de proteínas do controle na ausência do sal (Figura 1). Provavelmente a dose de 50 mM de NaCl tenha induzido uma redução na síntese e/ou um aumento na degradação de proteínas solúveis totais e as doses mais elevadas (100 e 200 mM) uma resposta inversa ou um “turnover” de proteínas envolvidas no ajustamento osmótico dos calos. Tais hipóteses corroboram com os resultados obtidos do perfil protéico em gel de poliacrilamida onde se pode observar uma redução de algumas bandas de proteínas com massa molecular entre 30 e 35 kDa nos extratos dos calos cultivados em meio contendo 50 mM de NaCl, já nos calos cultivados em meio contendo 100 e 200 mM de NaCl é possível observar a intensificação de algumas bandas de alta massa molecular, variando entre 100 e 130 kDa, indicadas na figura por setas (Figura 2).

O estresse hídrico ou salino provoca o ajustamento osmótico que proporciona à planta um abaixamento do potencial osmótico, mediante um aumento líquido nos solutos intracelular. Esse ajustamento pode auxiliar a planta a manter o turgor, sustentando, dessa maneira a alongação celular e expansão de regiões de crescimento com o desenvolvimento do déficit (Premachandra *et al.*, 1992). Segundo Sancho *et al.*, 1996, as plantas respondem ao estresse salino desenvolvendo mecanismos de tolerância como o acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos, requeridos para manter o turgor necessário ao crescimento. O NaCl provoca diminuição da síntese de proteína e aumenta a hidrólise protéica em grande grupo de plantas, sendo a hidrólise considerada o efeito primário do sal. O decréscimo no conteúdo de proteína pode refletir retardamento na síntese protéica ou aceleração na sua degradação, levando ao aumento na quantidade de aminoácidos livres ou à inibição da incorporação destes aminoácidos nas proteínas.

Os calos embriogênicos de cana-de-açúcar da variedade SP 813250 submetidos a estresse salino com concentrações entre 50 e 200 mM de NaCl apresentaram uma alteração tanto na concentração, quanto no perfil de proteínas. Estes dados sugerem que na presença de NaCl nestas concentrações pode estar ocorrendo um ajuste do metabolismo celular dos calos. Com degradação de proteínas e conseqüente liberação de aminoácidos livres que podem atuar neste ajustamento osmótico e também servir como fonte de nitrogênio para a síntese de novas proteínas envolvidas neste ajuste.

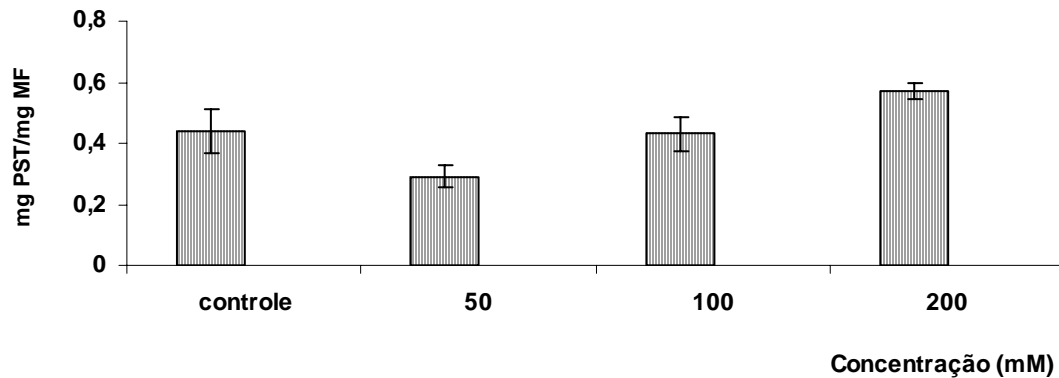


Figura 1 – Concentração de proteínas solúveis totais (PST) em calos de cana-de-açúcar da variedade SP 813250 submetidos a diferentes concentrações de NaCl (Controle = 0; 50; 100 e 200mM) durante quinze dias.

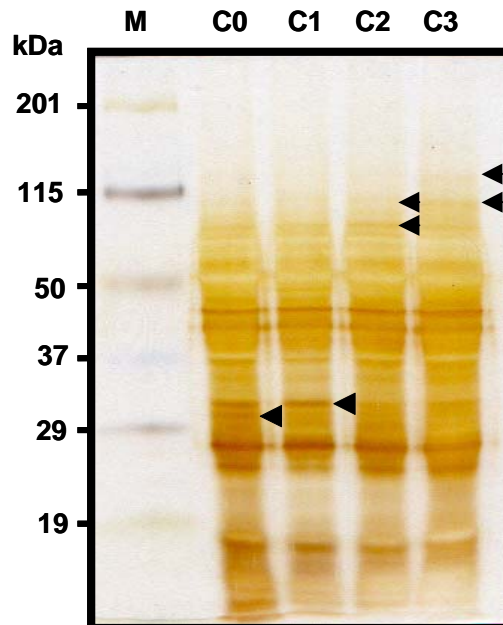


Figura 2 – Perfil eletroforético de proteínas totais em SDS-PAGE de calos de cana-de-açúcar da variedade SP 813250 submetidos a diferentes concentrações de NaCl (Controle = 0; 50; 100 e 200mM) durante quinze dias. As setas indicam bandas protéicas intensificadas com as

concentrações de 100 e 200 mM e as cabeças de setas indicam as proteínas que apresentaram redução com as concentrações de 100 e 200 mM de NaCl.

## CONCLUSÃO

As doses de NaCl adicionadas ao meio de cultura dos calos embriogênicos de cana-de-açúcar da variedade SP813250 afetaram a concentração de proteínas e o perfil protéico. A concentração de 50mM de NaCl promoveu uma redução na concentração de proteínas solúveis totais e alterações no padrão de proteínas, quando comparada ao tratamento controle. Nas concentrações de 100 e 200 mM de NaCl ocorreu um aumento na concentração de proteínas solúveis totais e uma alteração no perfil protéico dos extratos dos calos, com o surgimento de bandas com massa molecular entre 100 e 130 kDa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bradford, M. M. A., 1976. rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
- Garcia, A. B.; Engler, J. A.; Iyer, S.; Gerat, S.T.; Montagu, M.V. & Caplan, A. B., 1997. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. *Plant Physiology*, 115:159-169.
- Laemmli U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Murashige T. & Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.
- Niu, D. K.; Wang, M. G. & Wang, Y. F., 1997. Plant cellular osmotica. *Acta Biotheoretica*, 45:161-169.
- Premachandra, G. S., Saneoka, H. & Ogata, S., 1991. Cell membrane stability and leaf water relations as affected by potassium nutrition of water stressed maize. *Journal of Experimental Botany*, 42 : 739-745.
- Sancho, M. A.; Forchetti, S. M.; Pliego, F.; Valpuesta, V.; Quesada, M. A., 1996. Peroxidase activity and isoenzymes in the culture medium of NaCl adapted tomato suspension cells. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v.44, p.161-167,.
- Shevchenko, A.; Wilm, A.; Vorm, O. & Mann, M., 1996. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver-stained polyacrylamide gels. *Anal. Chem.*; 68 (5) 850 - 858.
- Turano, F. J.; Kramer, G. F. & Wang, C. Y., 1997. The effect of methionine, ethylene and polyamine catabolic intermediates on polyamine accumulation in detached soybean leaves. *Physiologia Plantarum*, 101:510-518.
- Yoshida, Y.; Kyiosue, T.; Nakashima, K.; Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K., 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant and Cell Physiology*, 38:1095-1102.

## PALAVRAS CHAVE:

*Saccharum officinarum*, perfil protéico, ajuste osmótico e estresse salino.

## <sup>1</sup>AGRADECIMENTOS

---

<sup>1</sup> A Usina Estivas, CNPq, LBMG-DBG-UFRN, DBQ-UFRN e FINEP.

## Correlação entre características da germinação de sementes e o potencial regenerativo de diferentes cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Silva, Karime Soares da<sup>1</sup>; Dias, André Luís de França<sup>2</sup>; Rivas, Rebeca<sup>2</sup>; Montarroyos, Pedro Augusto Veras<sup>1</sup>; Maia, M. M. D.<sup>1</sup>; Costa, Antonio Félix da<sup>3</sup>; Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE telefone: (81)33206003 e-mails: karyagronomia@hotmail.com; [pedro\\_montarroyos@hotmail.com](mailto:pedro_montarroyos@hotmail.com) e mascena2000@yahoo.com.br <sup>2</sup> Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50100-010, fone (81) 3416-4000, e-mails: andreluisfd@hotmail.com; rebecarivas@gmail.com; <sup>3</sup> Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Lab. de Genoma e de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Gal. San Martin 1371, Bonji, Recife/PE. Telefone (81)21227372 e-mails: [felix@ipa.br](mailto:felix@ipa.br), [laureenkido@ipa.br](mailto:laureenkido@ipa.br);

### INTRODUÇÃO

O caupi é uma leguminosa comestível com excelente capacidade de fixação de nitrogênio e com alto valor protéico. O feijão-caupi, feijão-de-corda ou feijão-macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma excelente fonte de proteínas (23-25% em média) e apresenta todos os aminoácidos essenciais, carboidratos (62%, em média), vitaminas e minerais além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixas quantidade de gordura (teor de óleo de 2%, em média) e não conter colesterol (<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/importancia.htm>). Originária da África adaptou-se muito bem às diferentes condições edafoclimáticas do Brasil. Destaca-se no norte e nordeste brasileiro como uma das principais culturas de subsistência especialmente para as áreas do sertão, do semi-árido e da Amazônia (ARAÚJO, J.P.P. 1988).

A utilização de técnicas alternativas de melhoramento (transformação genética ou a mutagênese induzida) poderia auxiliar os programas de melhoramento dessa cultura (B, ALUÍZIO 2005). No entanto, esta espécie é considerada recalcitrante com relação à regeneração em condições de cultivo *in vitro*. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial regenerativo de diferentes cultivares de *V. unguiculata* e correlacionar o potencial regenerativo com as características de germinação das sementes.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Genoma e Cultura de Tecidos Vegetais da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA). Foram utilizadas as seguintes cultivares de *V. unguiculata* IPA 206, TE 96 290 G12, TE 97 304 12G, IPA 207, TE 97 304 G4 e TE 96 290 6G. As sementes foram inicialmente desinfestadas (10 sementes de cada cultivar), em álcool 70% (três minutos) e em solução de hipoclorito de sódio 5% (10 minutos). Em seguida, as sementes foram lavadas em água destilada (autoclavada) duas vezes (cinco minutos) e incubadas em solução de antibiótico por 24 horas (cefalexina 500mg/100ml).

Após 24h, as sementes foram transferidas sob condições assépticas para placas de Petri (cinco sementes/placa) contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril. Durante cinco dias as placas ficaram em sala de crescimento, em uma temperatura constante de 27°C, com fotoperíodo de 16 horas/luz, onde foi avaliada a germinação, como mostra a tabela 1. Após esse período, em condições assépticas e com a ajuda de um jogo de pinças foram isolados os cotilédones e os eixos embrionários. Os explantes foram colocados em meio de cultura para induzir regeneração (MR): Sais e vitaminas de MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de tiamina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Ác. nicotínico 0,5 mg L<sup>-1</sup>, BAP 2 mg L<sup>-1</sup>, sacarose 30g L<sup>-1</sup>, Agar 9g L<sup>-1</sup> com o pH ajustado para 5,9 antes da autoclavagem. Os frascos utilizados continham 35 ml de meio em frasco de 250ml de capacidade. Em cada frasco foram colocados dois eixos embrionários e quatro cotilédones (a parte interna do cotilédone voltada para o meio de cultura). Foram usados 10 eixos embrionários e 20 cotilédones por cultivar. Esse material foi colocado em sala de crescimento e avaliado semanalmente, observou se estágios de desenvolvimento tais como:



emissão de liberação de folhas primárias e emissão de raiz, para a cultivar TE 96 290 6G, foram utilizados eixos embrionários em desenvolvimento mas que não conseguiram emitir as folhas primárias fora do tegumento. Os dados estão descritos na tabela 1. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Foram utilizados 120 cotilédones e 60 eixos embrionários em todo o experimento. Nessa primeira fase do experimento foram avaliados índices de necrosamento e o início de regeneração. Após essa fase, os explantes desenvolvidos foram inoculados novamente em meio MR e passaram 15 dias em sala de crescimento. Após esse tempo os explantes foram colocados em meio para desenvolvimento dos ápices caulinares (MD): Sais e vitaminas de MS acrescido de tiamina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Ác. nicotínico 0,5 mg L<sup>-1</sup>, BAP um mg L<sup>-1</sup>, ANA 0,2 mg L<sup>-1</sup>, sacarose 30g L<sup>-1</sup>, Agar 9g L<sup>-1</sup> com o pH foi ajustado para 5,9 antes da autoclavagem. Os frascos utilizados, com capacidade para 250 ml, continham 35 ml de meio MD.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sob condições assépticas, foram desinfestadas 20 sementes de *V. unguiculata* colocadas em placas de petri contendo papel filtro estéril umedecido com água destilada estéril e após oito dias foram observados alguns indicadores da germinação nas variedades (figura1), como mostra a tabela abaixo:

Tabela1: indicadores de germinação em diferentes cultivares de *V. unguiculata*.

Variedade	Índice de germinação (%)	Comprimento médio de raízes laterais (cm)	Percentagem de liberação do tegumento	Percentagem de liberação das folhas primárias	Comprimento médio da raiz pivotante (cm)
IPA 206	80	6,35	40	36	5,97
TE 96 290 12G	80	2,9	28	40	3,72
TE 97 304 G12	92	8,95	44	28	6,65
IPA 207	100	10,56	52	52	8,35
TE 96 290 6G	60	0,00	0,0	8	1,5
TE 97 304 G4	85	7,41	44	40	7,12

Pode-se observar que as cultivares IPA 206 e IPA 207 apresentaram maior vigor em relação às cultivares estudadas e os resultados obtidos confirmam o seu valor para pesquisas em cultivo *in vitro*.

Foi observada uma diferença na germinação das sementes das diferentes cultivares de *V. unguiculata*. A cultivar que apresentou melhor desenvolvimento foi a cultivar IPA 206 tanto em desenvolvimento de organogênese quanto em ápices caulinares (Figura 2 e 4), embora a TE 97 304 G12 tenha apresentado melhor potencial organogênico, os seus explantes apresentam alto índice de necrosamento, com pouco desenvolvimento. Após a transferência dos explantes (cotilédones e eixos embrionários) para meio de regeneração, foi observado que os explantes que apresentaram potencial regenerativo desenvolveram coloração esverdeada. Foi observado, também, que os eixos embrionários formam mais calo que os cotilédones (figura 3). Nas cultivares que apresentaram potencial regenerativo, foi observado que a taxa de regeneração é mais alta em cotilédones, com a exceção da cv TE 96 290 12G, que apresentou regeneração apenas em cotilédones. Os explantes que não se

mostraram viáveis à regeneração, necrosaram. Os explantes inoculados em meio MD acrescido com ANA desenvolveram-se e atualmente estão na fase de alongamento caulinar para posteriormente serem aclimatados.

Vinte e um dias após a inoculação foi observado que, embora fosse dado o mesmo tratamento para as diferentes variedades, houve um desenvolvimento significativo dos eixos embrionários em relação aos seus respectivos cotilédones. Foi observada que as variedades IPA 206, IPA 207 e TE 97 304 G12 obtiveram índice de desenvolvimento de 100,00%, em relação ao desenvolvimento de explantes e formação de calos, enquanto que os respectivos cotilédones apresentaram uma média de 33,33% de desenvolvimento. Os cotilédones das variedades TE 97 304 12G, IPA 206 e IPA 207 apresentaram potencial regenerativo.



Figura 1. Aspecto da germinação das diferentes cultivares de *V unguiculata* Cultivar: 1 IPA 206, 2- TE 96 290 12G, 3- TE 97 304 G12, 4- IPA 207, 5- TE 96 290 6G, 6- TE 97 304 G4, oito dias após a germinação.



Figura 2. Aspecto de cotilédone da cv. IPA 206 apresentando organogênese.

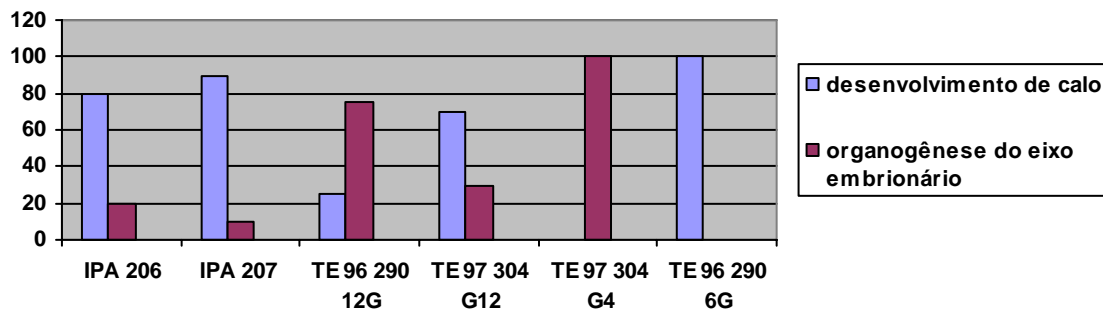


Figura 3: Comparação do índice de desenvolvimento de eixo embrionário de *V. unguiculata* após 21 dias de cultivo *in vitro*.



Figura 4. IPA 206 em meio MD para alongamento de ápices caulinares e posterior aclimação em telado.

## CONCLUSÃO

As cultivares testadas apresentam diferenças no potencial organogênico e de formação de calo devido, provavelmente, a diferenças genotípicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J.P.P. **O caupi no Brasil**. 1 ed. Brasília – DF: IITA/EMBRAPA.1988. 722p.

B, ALUÍZIO. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: ed. UFV. 2005. 969p.

EMBRAPA cultivo de feijão caupi disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/importancia.htm>. Acesso em 6 de maio de 2007

MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.

## PALAVRAS-CHAVE

Feijão-caupi, organogênese, *in vitro*.

---

<sup>i</sup> Agradecimentos: IPA, UFRPE.

## **Eficiência de soluções enzimáticas e do tempo de incubação na obtenção de protoplastos de bastão-do-imperador**

Silva Júnior, Jessé Marques<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; <sup>3</sup>Silva, Luciano Coutinho; Martinotto, Cristiano<sup>4</sup>; Castro, Evaristo Mauro<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal (UFLA) Bolsista CAPES, e-mail: jesseagronomo@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br) <sup>3</sup> Graduando em Agronomia (UFLA) bolsista de Iniciação Científica; <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal (UFLA).

### **INTRODUÇÃO**

A espécie *Etligera elatior* (Jack) R. M. Smith, conhecida popularmente como bastão-do-imperador, foi descrita pela primeira vez em 1792 por Paul Dietrich Giseke. Havia contradição em relação, recebendo várias denominações: *Alpinia*, *Phaeomorpha*, *Nicolaia*, e *Elettaria*. Em 1980, Rosemary Margaret Smith engloba a espécie no gênero *Etligera*. Poulsen (2006) identificou cerca de 70 espécies muitas ainda não descritas, que estão distribuídas desde a Índia até as Ilhas do Pacífico.

A produção de flores e plantas ornamentais no Nordeste concentra-se principalmente, nos estados de Pernambuco, Bahia, Ceará e Alagoas, destacando o cultivo do bastão-do-imperador com destaque para a elevada geração de emprego por área cultivada, contribuindo para ocupação da mão-de-obra local e gerando renda.

Uma alternativa para a micropropagação de plantas elite é a utilização de sistemas celulares desprovidos de parede celular, ou protoplastos, que em condições bem estabelecidas de cultura de tecidos, mantém a totipotencialidade celular, reconstituindo suas paredes, dividindo-se, formando colônias, calos e regenerando plantas por embriogênese ou organogênese (Barros & Carneiro, 1998). A fusão de protoplastos é uma técnica eficiente que permite a obtenção de híbridos somáticos e cíbridos, auxiliando em programas de melhoramento genético de espécies ornamentais.

O objetivo deste trabalho foi a otimização de incubação e concentração de soluções enzimáticas na obtenção de protoplastos buscando auxiliar em hibridações futuras.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se como explantes folhas de plântulas obtidas *in vitro*.

As folhas foram excisadas das plântulas e imediatamente submetidas a cortes paralelos a nervura central, desprezando-se a extremidade das folhas, com a finalidade de se obter apenas a região do mesófilo. Efetuados os cortes, as folhas cortadas foram incubadas em solução CPW 13M (Frearson et al., 1973) pH 5,8, durante uma hora, para plasmolisar as células. Para o isolamento de protoplastos, as folhas foram transferidas para 4 diferentes combinações enzimáticas diluídas em CPW 13M após o ajuste do pH 5,6: Solução "A" = 1% de celulase "onozuca" R-10 (Yakult Honsha), 0,2% de macerozyme R-10 (Yakult Honsha); Solução "B" = 3% celulase "onozuca" R-10, 1% de macerozyme R-10; Solução "C" = 2% celulase *Aspergillus niger* (Fluka) e 1% pectinase *Aspergillus niger* (Fluka); Solução "D" = 3% celulase *Aspergillus niger* e 1,5% pectinase *Aspergillus niger*. Em todas as soluções enzimáticas foram acrescentados 5mM de MES e apenas nas soluções "A" e "B" foram acrescentadas 0,1% e 1% da enzima driselase, respectivamente. Aproximadamente 1g de folha foi colocado por placa de isolamento (15 x 58 mm) juntamente com 15 mL das soluções enzimáticas na ausência de luz e em agitação de 40 rpm à temperatura de 25°C, e o isolamento de protoplastos foi monitorado a cada hora para verificar a eficiência de cada solução enzimática.

Após a fase de incubação, a suspensão obtida (protoplastos isolados e tecidos não digeridos) foi filtrada, utilizando peneira de nylon 64µm (Wilson Sieves, Nottingham, UK) e centrifugações a 700 rpm por 5 minutos. O precipitado foi ressuspenso em CPW 9M e

transferido para novo tubo de centrifuga, sendo o volume completado com CPW 21S e, então, centrifugado (700 rpm; 5 minutos). O rendimento foi determinado utilizando-se um hemacitômetro (Hausser Scientific, USA), sob microscópio ótico.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 3 repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de isolamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seqüência utilizada no isolamento de protoplastos de bastão-do-imperador (Figura 1).

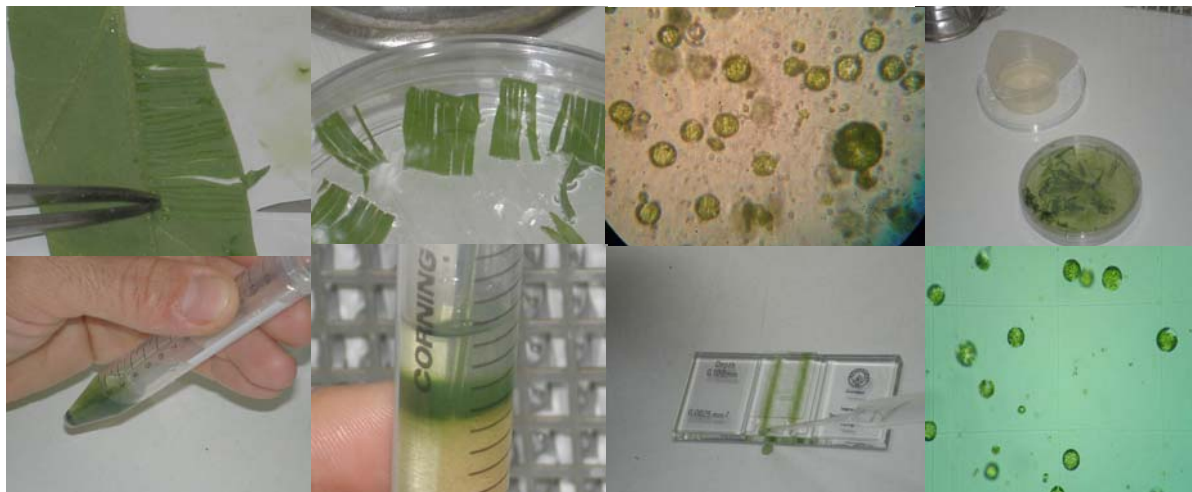
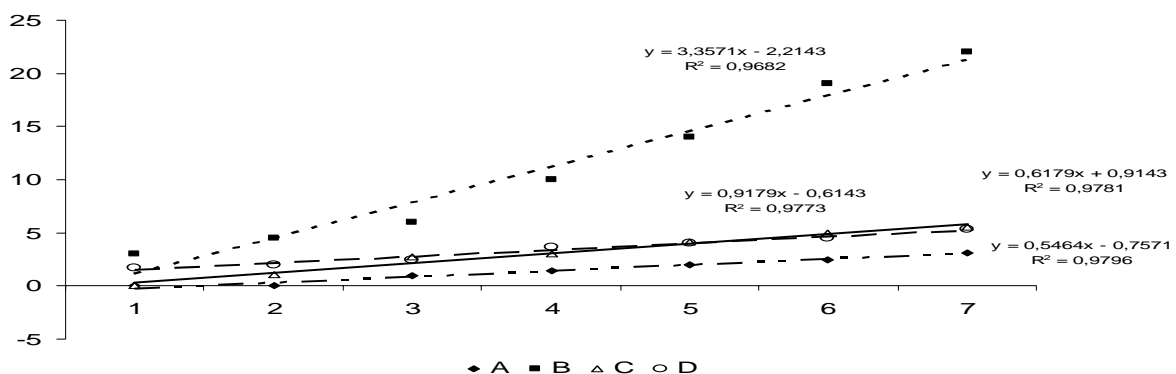


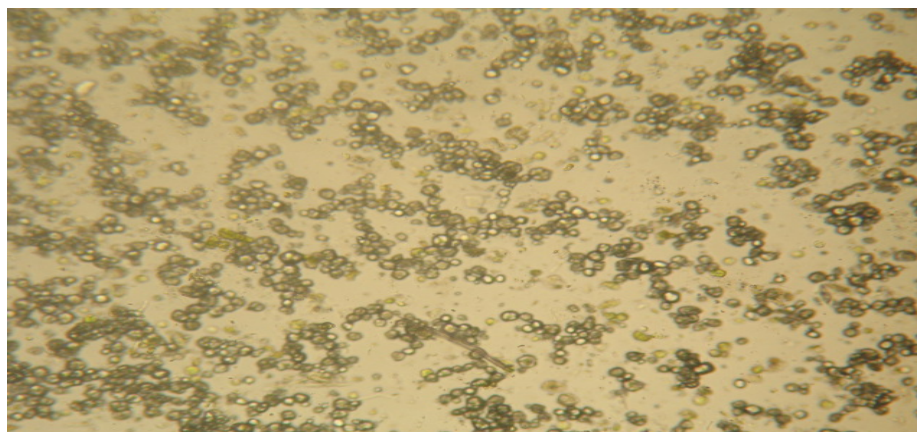
Figura 1. Seqüência para isolamento de protoplastos de bastão-do-imperador: A) corte transversal da folha paralela à nervura central; B) pré-plasmólise das células em CPW 13M; C) visualização de protoplasto com restos celulares não digeridos; D) placa de isolamento pronta para filtragem em peneira 64µm; E) pellet filtrado e ressuspendido em CPW 9 M; F) gradiente de sacarose e detalhe da banda de protoplastos; G) câmara de Neubauer com a alíquota de protoplastos e H) protoplastos filtrados e em processo de contagem.

A composição enzimática e o tempo de incubação influenciaram no rendimento de protoplastos/ g de matéria fresca de bastão-do-imperador, como observado na Figura 2. A solução "B" é uma variação mais concentrada da solução "A" por isso obteve um maior rendimento de protoplastos durante as sete horas de incubação. Na primeira hora observada, houve intensa presença de células individualizadas em processo de protoplastização observados na solução "A" (Figura 3).



**Figura 2.** Eficiência das soluções enzimáticas em relação ao tempo de incubação do tecido no isolamento de protoplastos de bastão-do-imperador (*Etiligera elatior* Jach R. M. Smith).





**Figura 3.** Células individualizadas e em intenso processo de protoplastização, apresentado na primeira hora de incubação na solução “A”.

Os resultados do experimento mostram quatro contrastantes soluções enzimáticas representadas na Tabela 1. Observa-se que a solução “B” com  $22 \times 10^5$  protoplastos/g de matéria fresca foi a que obteve maior rendimento, seguida pela solução “A” com  $15 \times 10^5$  protoplastos/g de matéria fresca. Resultados semelhantes encontrados por Benedito et al. (2000), trabalhando com isolamento de protoplastos de citros utilizando a mesma solução “A” obteve  $12 \times 10^5$  e  $25 \times 10^5$  protoplastos /500 g de matéria fresca de calos das variedades de cítrus “Bahia cabula” e “orvalho de mel”, respectivamente, confirmando a eficiência da solução testada neste trabalho.

Trabalhos realizados por Ochatt et al. (1987) utilizando a solução “A” no isolamento de protoplastos de cerejeira (*Prunus avium* x *Pseudocerasus*) que é uma espécie lenhosa, obtiveram uma eficiência de  $0.6 \times 10^7$  a  $1.5 \times 10^8$  protoplastos/g de peso fresco, eficiência essa que a mesma solução não obteve no presente trabalho. Costa et al. (2002), utilizando a solução enzimática “A” obteve um rendimento de até  $23,68 \times 10^6$  protoplastos/500g de calos em “ruby blood”, variedade de cítrus.

**Tabela 1.** Efeito das composições enzimáticas no isolamento de protoplastos de *Etiligera elatior* ao final de sete horas de incubação.

Tratamento	Fórmula enzimática		Rendimento de células de protoplastos por g/MF (Matéria Fresca)
	Cellulase	Pectinase	
Sol. “A”	Onozuca R-10 <sup>A</sup> 1%	Macerozyme R-10 <sup>A</sup> 0,2%	$15,0 \times 10^5$
Sol. “B”	Onozuca R-10 <sup>A</sup> 3%	Macerozyme R-10 <sup>A</sup> 1%	$22,0 \times 10^5$
Sol. “C”	<i>Aspergillus niger</i> <sup>B</sup> 2%	<i>Aspergillus niger</i> <sup>B</sup> 1%	$9,2 \times 10^5$
Sol. “D”	<i>Aspergillus niger</i> <sup>B</sup> 3%	<i>Aspergillus niger</i> <sup>B</sup> 1,5%	$10,5 \times 10^5$

**A:** Yakult Honsha Co., Ltd., Japan

**B:** Fluka

\*Foram acrescentadas as soluções “A” e “B” 0,1% e 1% da enzima driselase, respectivamente.

A utilização de combinações enzimáticas compostas por cellulase e pectinase de *Aspergillus niger* representadas nas soluções “C” e “D”, ainda não foram bem estudadas no

isolamento de protoplastos vegetais, não há nenhuma literatura sobre o uso deste fungo em formulações de enzimas. Por se tratar de resultados difíceis de comparação, as quantidades de protoplastos/g de tecido está dentro de médias de isolamento comparadas a enzimas comumente utilizadas em processos de degradação de parede celular.

Vale ressaltar que se trata de um trabalho inédito já que existe pouca ou nenhuma literatura a respeito de cultivo *in vitro* de protoplastos de *Etilingera* e. Jack R. M. Smith, sendo necessárias mais pesquisas sobre a respectiva espécie com relação a outros tipos de soluções enzimáticas, no sentido de aumentar a eficiência de protoplastos isolados e assim, aumentando as potencialidades para programas de melhoramento genético desta planta, nos aspectos relacionados com a sua resistência a patógenos bem como a variação da coloração de suas brácteas.

## CONCLUSÃO

A solução enzimática composta de 3% de cellulase onozuca R-10, 1% de macerozyme R-10 e 1% de driselase com 7 horas de incubação é a mais adequada para isolamento de protoplastos de bastão-do-imperador

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, L. M. G. & CARNEIRO, V. T. C. Eletroporação de protoplastos. In. BRASILEIRO, A. C. M. & CARNEIRO, V. T. C. **Manual de transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CENARGEM, p.37-47, 1998.

BENEDITO, V.A.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; MENDES, B.M.J. Calogênese, embriogênese somática e isolamento de protoplastos de laranja-doce. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.1, p.33-38, 2000.

COSTA M<sup>a</sup>. A. P. C.; FILHO, F. A. A. M. & MENDES, B. M. J. Isolamento e eficiência de plaqueamento de protoplastos de citros. **Rev. Bras. Frutic.** v.24 n.2 Jaboticabal ago. 2002

DA SILVA, A. L. C. Cultura de tecidos de plantas. Disponível em: <http://br.geocities.com/alccoelho/calogenese.html>. Acesso em: 02 abr. 2007.

FREARSON, E. M.; POWER, J. B & COCKING, E. C. The isolament, culture, and regeneration of *Petunia* leaf protoplasts. **Developmental Biology**, San Diego, v.33, p.130-137, 1973

OCHATT, S.J.; COCKING, E.C.; POWER, J.B. Isolation, culture and plant regeneration of colt cherry (*Prunus avium* x *pseudocerasus*) protoplasts. **Plant Science**, Amsterdam, v.50,p.139-143, 1987.

POULSEN, ONE. D.. *Etilingera* of Borneo. Natural history publications (Borneo) 263 p.. 2006.

## PALAVRAS-CHAVES

*Etilingera elatior*, Zingiberaceae; cultivo *in vitro*; enzimas.



## Seleção e Potencial Ornamental de Espécies Nativas de Restingas do município do Rio de Janeiro

Sato, A<sup>1</sup>; Arruda, R.C.O<sup>1</sup>; Cordeiro, S.Z<sup>2</sup>., Soares, J.V.<sup>3</sup>; Aguilar, J.P.L<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Prof. da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Escola de Ciências Biológicas, Dep. Botânica . Av. Pasteur 458, Urca, Rio de Janeiro, RJ- CEP: 22290-240, fone (21): 22445760.

<sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio de Janeiro, CCS- IBCCF, Bloco G, sala G2-050, Cidade Universitária , Ilha do Fundão, RJ CEP: 21941-590, fone (21) 25626643, email: sandrazorat@hotmail.com, <sup>3</sup>Graduanda em Ciências Biológicas – UNIRIO, Email: [jaquevalverde@yahoo.com.br](mailto:jaquevalverde@yahoo.com.br), <sup>4</sup>Meristem Biotecnologia Vegetal, Email: meristem@iprj.uerj.br.

Ao longo de aproximadamente 9000 km do litoral brasileiro se estendem planícies arenosas de diversas larguras e que incluem ecossistemas peculiares englobando lagos, lagoas, áreas inundáveis e vegetações com diferentes aspectos. Sobre esses depósitos arenosos desenvolveu-se uma vegetação muito particular e que recebe o nome de Restinga. Em função de sua beleza e peculiaridades, os estudos desenvolvidos com a vegetação das restingas, parte integrante do bioma mata atlântica, vêm sendo realizados desde 1903, por pesquisadores das mais diversas áreas (zoologia, botânica, ecologia, geologia).

As plantas que ocupam essas áreas são afetadas pela salinidade do mar, ventos intensos, ataque de herbívoros. A deficiência de nutrientes é uma característica típica do ambiente arenoso e limitante ao desenvolvimento das plantas da restinga, já que a areia é incapaz de retê-los. Altas temperaturas e falta d'água são outros problemas que as plantas têm de enfrentar já que o lençol freático, nesses locais, varia constantemente. Pode-se perceber que as plantas das restingas são altamente especializadas, e apesar dos vários fatores limitantes, é alto, o número de espécies. Na restinga, as plantas podem se organizar em faixas ou zonas, desde as mais rasteiras até as lenhosas. No primeiro caso, distribui-se as espécies tolerantes a alta salinidade, pois são eventualmente lavadas pela água do mar. A essa faixa, podem se seguir as moitas formadas por palmeiras guriri, cactos, bromélias, orquídeas, pitangueiras, etc., separadas por areia. Em função de sua beleza, plantas de restinga têm sido utilizadas em projetos paisagísticos, proposta muito adequada à edificações e praças de cidades litorâneas. Este projeto tem como objetivo apresentar a potencialidade ornamental e beleza peculiar dessas espécies que muitas vezes passam despercebidas, sendo substituídas, em áreas litorâneas por espécies oriundas de outros biomas ou países.

A metodologia baseia-se inicialmente no levantamento qualitativo: nome vulgar, certificação taxonômica, atributos ornamentais (floração, folhagem) além de estudos da fenologia, com observações e coletas mensais; e, após seleção de espécies, o estabelecimento da cultura in vitro destas plantas. Este trabalho apresenta resultados preliminares, iniciado na restinga de APA de Grumari. As espécies vegetais foram classificadas em arbóreas, arbustivas, herbáceas e lianas. Entre os grupos apresentados como ornamentais, os de maior número de espécie pertencem à família Bromeliaceae (5 espécies); com predomínio de herbáceas (37,8%) e sub-arbustivas (34,3%), cactáceas e lianas. Floração foi a característica mais marcante (61,5%) seguido pela folhagem (44,7%) e frutificação (13,7%).

Palavras chave: potencial ornamental, valorização, conservação, plantas restinga.

## Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya labiata* em diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

Silva, Karime Soares da<sup>1</sup>; Dias, André Luís de França<sup>2</sup>; Rivas, Rebeca<sup>2</sup>; Pedro Augusto Veras Montarroyos<sup>1</sup>; Maia, M. M. D.<sup>1</sup> Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, S/N Dois Irmãos, Recife/PE telefone: (81)33206003 e-mails: karyagronomia@hotmail.com; [pedro\\_montarroyos@hotmail.com](mailto:pedro_montarroyos@hotmail.com) mascenadiniz@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50.100-010, fone (81) 3416-4000, e-mails: andreluisfd@hotmail.com; rebecarivas@gmail.com; <sup>3</sup> Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Lab. Genoma e Cultura de Tecidos Vegetais, Avenida Gal. San Martin 1371, Bonji, Recife/PE Telefone (81)21227372, e-mail: laureenkido@ipa.br.

### INTRODUÇÃO

A família das orchidaceae é, provavelmente, a maior família das angiospermas. Foram descritas, até a atualidade, mais de 20 mil espécies naturais, nas suas 2 subfamílias, 2 divisões, 5 tribos, 2 séries, 2 subséries, 85 subtribos e mais de 2500 gêneros. As orquídeas vegetam em diversos ecossistemas como: campo, agreste, florestas, cerrados, áreas de praias e até mesmo em margens de desertos. Porém a maioria das espécies é encontrada nas áreas tropicais. O Brasil é um dos países mais ricos em orquídeas com cerca de 2500 espécies, comparável somente à Colômbia com 3000 espécies e ao Equador com 2580 espécies. No Brasil há vários gêneros que se destacam por sua beleza e exuberância. Dentre estas, as *Cattleyas* são um dos gêneros mais comuns e apreciados no Brasil. A família das orchidaceae tem um metabolismo lento, dificultando a produção em massa. Sendo assim, a utilização de técnicas de cultivo *in vitro* pode auxiliar a propagação de materiais com valor comercial. Este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya labiata* em diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>).

### METODOLOGIA.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genoma e Cultura de Tecidos Vegetais da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA). A orquídea utilizada foi a *Cattleya labiata*, nativa do Brasil. Foram utilizadas plantas de orquídeas provenientes do cultivo *in vitro* convencional, como mostra a figura 1. Para avaliar o efeito do ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) sobre o desenvolvimento *in vitro*, foram utilizados meios de cultura com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> e um meio de cultura controle (sem fitorregulador). As plantas foram colocadas em cinco meios de cultura diferentes, com a composição básica (vitaminas, macro e micronutrientes) de MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com: Piridoxina 1 mgL<sup>-1</sup> Tiamina 1 mgL<sup>-1</sup> Ác. Nicotínico 1 mgL<sup>-1</sup> sacarose 30 gL<sup>-1</sup> Phytigel 2,4 g L<sup>-1</sup>. O pH foi ajustado pra 5,9 antes da autoclavagem. As diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> testadas estão descritas na tabela 1. Os meios de cultura foram distribuídos em frascos (20 ml/frasco, com capacidade para 250 ml). Em câmara de fluxo laminar, com ajuda de um jogo de pinças foram inoculados 2 plantas de *C. labiata* por frasco, foram usados 10 frascos por tratamento. Utilizou se 100 plantas em todo o experimento. Utilizaram-se plantas com tamanhos entre 2,0cm + - 0,5cm em todo o experimento. Após a inoculação, foi passado filme plástico ao redor das tampas como prevenção a contaminação. Os frascos foram posteriormente mantidos em sala de crescimento com temperatura de 27° C com fotoperíodo de 16 horas/luz, como mostram as nas figuras 2 e 3, e avaliados a cada 21 dias. Durante o período do experimento foram avaliadas as seguintes características: Número de raízes emitidas/planta e número de brotações emitidas/planta. O experimento foi montado com delineamento inteiramente casualizado.

Tabela 1. Descrição da composição do meio de micropropagação das plantas que foram avaliadas no laboratório de Cultura de Tecidos do IPA.

tratamento	Composição
Meio 1 (testemunha)	Ausência de GA <sub>3</sub>
Meio 2	Meio 1 acrescido de: GA <sub>3</sub> 1mg L <sup>-1</sup>
Meio 3	Meio 1 acrescido de: GA <sub>3</sub> 2mg L <sup>-1</sup>
Meio 4	Meio 1 acrescido de: GA <sub>3</sub> 4mg L <sup>-1</sup>
Meio 5	Meio acrescido de: GA <sub>3</sub> 8mg L <sup>-1</sup>



Figura 1: plantas utilizadas no início do experimento, mantidas em cultura convencional para micropropagação de orquídeas.



Figuras 2 e 3: Frascos mantidos em sala de crescimento do Laboratório de Genoma e Cultura de Tecidos Vegetais da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA), contendo plantas com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os tratamentos que usaram concentrações de GA<sub>3</sub> apresentaram menor média de emissão de raízes em relação ao meio testemunha (2,9 raízes) podemos perceber na figuras 5. O meio de cultura com 1 mg L<sup>-1</sup> apresentou a melhor média em relação a emissão de novas brotações (0,7500 novas brotações) segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados obtidos evidenciaram que a presença do GA<sub>3</sub> parece inibir a formação de raízes em *C. labiata*.

Tabela 2: Comparação das médias de emissão de raízes de *Cattleya labiata* em meio MS com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

### Médias de tratamento

1	2.90000 a
2	1.40000 b
3	0.70000 b
4	0.80000 b
5	0.80000 b

DMS = 0.98581

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Observou-se que o meio testemunha apresentou a maior média na emissão de novas raízes de *C. labiata* em relação aos demais meios de cultura testados, não houve diferenças significativas entre os meios 2; 3; 4 e 5 segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

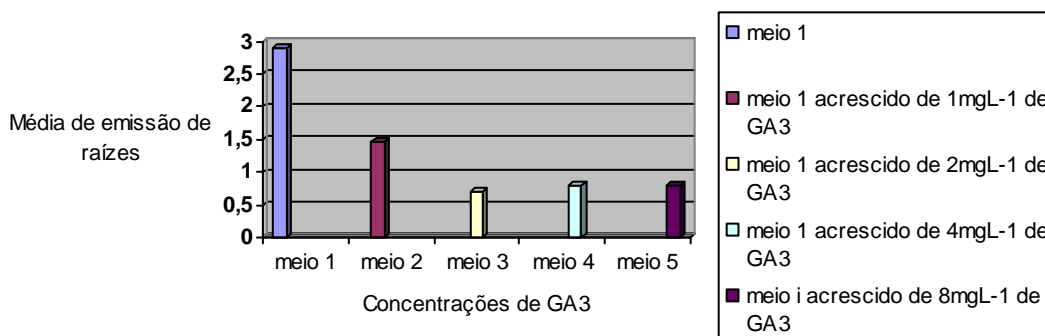


Figura 4: Efeito do GA<sub>3</sub> na emissão de novas raízes em *Cattleya labiata*



Figura 5: plantas apresentando desenvolvimento de raízes e brotações após 150 dias de inoculadas. Planta 1 apresentando o melhor desenvolvimento de raízes, Plantas 2 e 3 apresentando desenvolvimento de novas brotações.

Tabela 3. Comparação das médias de novas brotações de *Cattleya labiata* em meio MS com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

Médias de tratamento

1	0.00000	b
2	0.75000	a
3	0.15000	b
4	0.20000	b
5	0.50000	ab

DMS = 0.54551

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Observou-se que o meio MS acrescido de 1mgL<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> obteve a maior média de brotações, os meios MS acrescido de 2mgL<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, 4mgL<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> e o meio testemunha não diferiram entre si estatisticamente segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

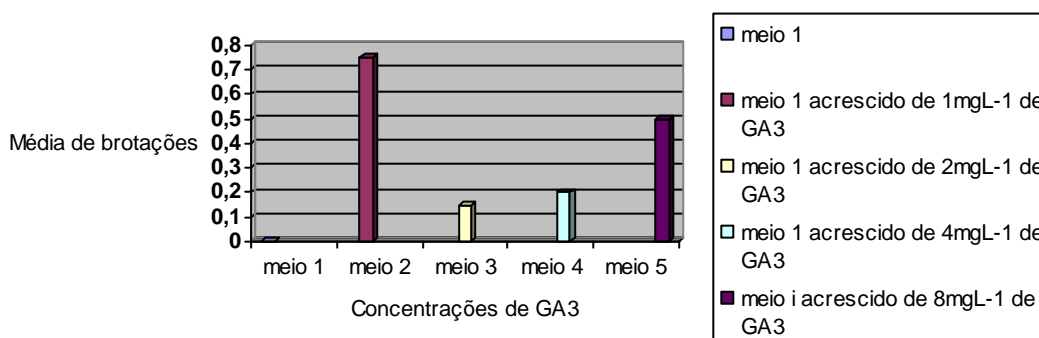


Figura 6: Efeito do GA<sub>3</sub> na emissão de novas brotações em *Cattleya labiata*

Observou-se que a concentração de 1mg.L<sup>-1</sup> apresentou um efeito positivo na emissão de novas brotações de *C. labiata* em relação aos demais meios de cultura testados. Segundo Chrystiane Borges Fráguas (multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico). Foi obtido resultado semelhante, a presença do GA<sub>3</sub> diminuiu o número de brotos e as folhas formadas mostravam-se alongadas e cloróticas. Nas concentrações de 6 e 8 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>,



Figura 7: Plantas com diferentes desenvolvimentos de raízes e brotações após 150 dias de inoculadas. Planta 1: meio testemunha; planta 2: meio acrescido de  $1\text{mgL}^{-1}$   $\text{GA}_3$ ; planta 3: meio acrescido de  $2\text{mgL}^{-1}$   $\text{GA}_3$ ; planta 4: meio acrescido de  $4\text{mgL}^{-1}$   $\text{GA}_3$ . e planta 5: meio acrescido de  $8\text{mgL}^{-1}$   $\text{GA}_3$ .

## CONCLUSÃO

Para o enraizamento de *C. labiata*, recomendamos a utilização do meio MS sem a adição de  $\text{GA}_3$ . Para a indução de brotações recomendamos o meio MS acrescido de  $1\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Coordenadoria das associações orquidófilas do Brasil **Boletim CAOB**. São Paulo: n 36, p33-64, 1999.

Jardim botânico do rio de janeiro, on line, disponível em : [www.ibrij.gov.br/saibamais/orquideas/familiaedistribuicao.htm](http://www.ibrij.gov.br/saibamais/orquideas/familiaedistribuicao.htm), acesso em 29 de abril de 2007

MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.

Silva, W. **Cultivo de orquídeas no Brasil**. São Paulo: V1, p 98 1986.

Torres, A. C. **cultura de tecidos e transformação genética de plantas** Brasília: V 1, p 509, 1998.

## PALAVRAS-CHAVE

Orchidaceae, cultivo *in vitro*, fitorregulador.

<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Agradecimentos: IPA, UFRPE.

## Flora do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima: Conhecer Para Preservar

Carvalho, Raquel dos Santos<sup>1</sup>; Barros, Elaine Franciely dos Santos<sup>2</sup>; Scareli-Santos, Cláudia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluna do Curso de Ciências Biológicas (UFG - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas), Campus Jataí, CEP 75801-615, Jataí, Goiás, telefone (64) 3632 2101, e-mail: raquelbioufg@yahoo.com.br;

<sup>2</sup>Aluna do Curso de Ciências Biológicas (UFG - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas), Campus Jataí, CEP 75801-615, Jataí, Goiás, telefone (64) 3632 2101, e-mail: elainebioufg@yahoo.com.br;

<sup>3</sup>Professora do Centro de Ciências Agrárias e Biológicas (UFG - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas), Campus Jataí, CEP 75801-615, Jataí, Goiás, telefone (64) 3632 2101, e-mail: scareliclaudia@hotmail.com

### INTRODUÇÃO

Os parques urbanos formam um elo entre a população e o ambiente, essas áreas verdes atuam na melhoria microclimática e na redução da poluição (Pedrosa *et al.*, 1983), além de abrigar as espécies da flora e fauna local. A diversidade vegetal presente nos parques e jardins desperta a atenção das pessoas de forma geral, nestes espaços ocorrem espécies ornamentais nativas, mas a grande maioria é proveniente de diversas partes do mundo, muitas dessas foram trazidas pelos colonizadores e dispersas por todo o país, como exemplo temos a palmeira imperial (Pais *et al.*, 2000; Salatino, 2001). A implantação de vegetais deve atender aos critérios técnicos-científicos estabelecidos de tal forma que se cumpra as funções do parque (Pedrosa *et al.*, 1983),

Assim como os jardins botânicos, os espaços urbanos também podem contribuir para a formação científica, educacional, social, estética, histórica e ecológica da região (Rocha & Cavalheiro, 2001). Apesar de ser um assunto de grande interesse, poucos são os trabalhos que enfocam esse tema e estão voltados para a população local, muitas vezes formada por alunos, pessoas leigas e amantes da natureza.

Os registros botânicos são de extrema importância para pesquisas relacionadas à diversidade da flora e foi a carência de informação botânica local o que despertou o interesse em formular um guia das plantas do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima. Neste trabalho visamos fornecer elementos, que aliados com o conhecimento científico, possam permitir a assimilação das noções básicas de botânica e educação ambiental onde se insere a máxima “conhecer para preservar”. A confecção do guia tem como objetivo maior estabelecer uma ponte entre o conhecimento sobre a diversidade vegetal do parque Olavo Sérvulo de Lima e a população da cidade de Jataí.

### MATERIAIS E METODOS

O presente trabalho foi realizado no Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima (Figura 1), localizado na região central de Jataí-GO, a 308km da capital Goiânia, no sudoeste goiano. O parque consta com uma área total equivalente a 6,7 hectares, possui dois lagos artificiais com uma área de inundação total de 1,2 hectares e profundidade média de 2,0 m correspondendo a 24.000 m<sup>3</sup>. Anteriormente o local era ocupado por vegetação de mata ciliar e cerrado, atualmente se observa fragmentos desses tipos de vegetação. A mata é uma reserva ecológica que preserva a nascente do córrego Diacuy, entretanto, não consta nenhum registro sobre sua flora e fauna.





Figura 1. Vista do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima.

Foi realizado o levantamento florístico durante o período agosto a dezembro de 2006. O material vegetal foi identificado em campo, as espécies que necessitaram de confirmação foram coletadas, preservadas e herborizadas segundo a técnica de Fidalgo & Bononi (1984) e levadas ao herbário Germano Guarim Neto, pertencente à Universidade Federal de Goiás *campus* Jataí. Os resultados foram organizados de forma qualitativa em um banco de dados informatizado. Posteriormente as espécies identificadas receberam placas constando com as seguintes informações: nome vulgar, família, nome científico, origem, distribuição.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado do levantamento florístico do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima evidenciou a ocorrência de 23 famílias, 34 gêneros e 36 espécies ornamentais exóticas e nativas (Tabela 1).

Tabela 1. Levantamento florístico do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima.

<b>Família</b>	<b>Espécie</b>
Agavaceae	<i>Agave sp</i>
Anacardeaceae	<i>Mangifera indica</i>
Araceae	<i>Philodendron bipinnatifolium</i>
Bixaceae	<i>Bixa olerana</i>
Bignoniaceae	<i>Jacaranda mimosifolia</i> e <i>Tabebuia roseo-alba</i>
Bromeliaceae	<i>Alcantarea imperialis</i>
Cobretaceae	<i>Terminalia catappa</i>
Fabaceae	<i>Eritrynia speciosa</i> , <i>Caesalpinia peltophroides</i> , <i>C. pulcherrima</i> , <i>Inga edulis</i> , <i>Machaerium sp</i> , <i>Hymenaea courbaril</i> var. <i>stilbocarpa</i>
Malvaceae	<i>Chorisia speciosa</i> , <i>Guazuma ulmifolia</i> , <i>Pachira aquatica</i>
Melastomataceae	<i>Tibouchina grandifolia</i>
Meliaceae	<i>Cedrela fissilis</i> , <i>Chamaecyparis lawsoniana</i>
Moraceae	<i>Ficus sp</i> , <i>Morus nigra</i>
Musaceae	<i>Musa sp</i>
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>
Poaceae	<i>Bambusa vulgaris</i>
Rubiaceae	<i>Alibertia elliptica</i> , <i>A. edulis</i> e <i>Mussaenda alicia</i>
Salicaceae	<i>Salix sp</i>
Palmae	<i>Syagrus oleracea</i>
Piperaceae	<i>Piper sp</i>
Salicaceae	<i>Salix babylonica</i>
Urticaceae	<i>Cecropia pachystachya</i> , <i>Myracrodruon urundeuva</i>
Ulmaceae	<i>Trema micrantha</i>
Verbenaceae	<i>Duranta repens</i>



Entre as espécies nativas destacamos os exemplares de *Bixa olerana* (Bixaceae), conhecida vulgarmente como urucum, cultivada em muitas regiões do país. Apresenta flores róseas, suas sementes são vermelhas e comumente utilizadas como corante natural, além da área do parque vários indivíduos dessa espécie também são utilizados na ornamentação da cidade. Exemplares das espécies *Jacaranda mimosifolia* e *Tabebuia roseo-alba*, ambas pertencente à família Bignoniaceae, ocorrem que frequência na ornamentação do parque. Estas espécies apresentam importância ornamental considerável e são utilizadas amplamente na arborização de parques e ruas, principalmente devido a beleza de suas flores. O ipê-branco, *T. roseo-alba*, é ótima para paisagismo e reflorestamento em terrenos secos e pedregosos destinados á recomposição da vegetação arbórea (Lorenzi & Souza, 2000).

A família Fabaceae foi a mais abundante no levantamento da flora do parque ecológico Olavo sérvulo de Lima, sendo representada por *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* e por duas espécies do gênero *Caesalpinia*, são elas *C. peltophroides* e *C. pulcherrima*, por *H. courbaril* var *stilbocarpa* conhecida vulgarmente como jatobá, tem sido utilizado na recomposição de matas degradadas e pouco utilizada como ornamental. *C. peltophroides* vulgarmente como sibipiruna, é muito utilizada no paisagismo urbano e em reflorestamento devido seu rápido crescimento, e por *C. pulcherrima* vulgarmente conhecida como flamboyânzinho, um arbusto lenhoso utilizado como cerca viva ou na arborização; também foram observados indivíduos de *Inga edulis* e por *Machaerium* sp (Lorenzi & Souza, 2000).

A família Malvaceae está representada por *Chorisia speciosa*, também conhecida como paineira, uma árvore com espinhos em seu caule, apresenta flores rosadas, de seu fruto é retirado a paína, suas sementes servem para alimento de pássaros e com potencial ornamental considerável e por *Pachira aquatica* (Malvaceae) conhecida vulgarmente como monguba, é uma planta nativa possui função ornamental e grande importância econômica de suas castanhas que são utilizadas como alimento pelas populações amazônicas das Guianas (Pais *et al.*, 2000). Entre as palmeiras, alguns indivíduos da espécie *Syagrus oleracea* foram observados no parque; a espécie também conhecida como gueroba que é utilizada na culinária em algumas regiões brasileiras, entretanto não há registros como ornamental.

Entre as espécies exóticas observadas neste trabalho destacam *Salix* sp (Salicaceae); *Ficus* sp (Moraceae), *Bambusa vulgaris* pertencente a família (Poaceae), *Salix babylonica* (Salicaceae) e *Duranta repens* (Verbenaceae) e por *Mussaenda alicia* (Rubiaceae), todas são comumente utilizadas na ornamentação de parques, praças e jardins particulares.

Constatou-se a ocorrência de espécies vegetais que não são recomendadas para ornamentação devido estas possuírem princípios ativos tóxicos (Pedrosa *et al.*1983), são elas: *Philodendron bipinnatifolium* (Araceae), *Lantana camara* (Verbenaceae), *Cestrum nocturnum* (Solanaceae), muito famosa por suas minúsculas flores que exalam um intenso perfume ao abrirem somente ao anoitecer, daí o seu nome popular dama-da-noite; e pelas meliáceas *Chamaecyparis lawsoniana* e *Melia azedarah*, está última é conhecida como santa-bárbara ou cinamomo, muito utilizada como ornamental porém todas as partes dessa planta são potencialmente tóxicas (Oliveira *et al.*, 2003).

## CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos concluímos que a flora do Parque Ecológico Olavo Sérvulo de Lima é composta por 36 espécies distribuídas entre exóticas e nativas, sendo estas poucas exploradas como ornamentais neste local. Das espécies catalogadas foram relatadas espécies tóxicas como *Lantana camara* (Verbenaceae), *Cestrum nocturnum* (Solanaceae) e *Melia azedarah* (Meliaceae). Acreditamos que o conhecimento da diversidade botânica do parque possa ser utilizado na sensibilização da população no que se refere à conservação da flora local.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FIDALGO, O. & BONONI, V. L. R. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. Instituto de Botânica, São Paulo- SP, 1989.

LORENZI, H. & SOUZA, H. M. de **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, Nova Odessa SP. 2000, 1120p.

OLIVEIRA, R.; GODOY, S. A. P & COSTA, F.B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**, Holos Editora, Ribeirão Preto, SP. 2002. 64p.

PAIS, M. P; Manço, A. D. G. & Varanda, E. M. **Uma flora ilustrada: Guia para as plantas do Museu do Café**. Editora Holos, Ribeirão Preto. 2000. 160p.

PEDROSA, J.B. **Arborização de cidades e rodovias**. Belo Horizonte: IEF/MG, 1983.

ROCHA, Y. T. & CAVALHEIRO, F. Aspectos históricos do Jardim Botânico de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica** 24(4 - suplemento), p.577-586. 2001.

SALATINO, A. Nós e as plantas: ontem e hoje. **Revista Brasileira de Botânica** 24(4 - suplemento), p.483-490. 2001

PALAVRAS-CHAVES: Arborização, espécies nativas, espécies exóticas, parque.

## **Dimensões dos estômatos e densidade estomática de folhas de *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Gris. (Bignoniaceae) *in vitro* e *ex vitro*.**

Fermino-Jr, Paulo Cesar Poeta<sup>1</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>2</sup>; Santos, Marisa<sup>3</sup>; Viana, Ana Maria<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Professor Assistente da Universidade Federal do Acre, e-mail: [paulofermino@ufac.br](mailto:paulofermino@ufac.br);

<sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa-Acre; <sup>3</sup>Professora Adjunta da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **INTRODUÇÃO**

Plantas cultivadas *in vitro*, usualmente, estão sujeitas a condições muito diferentes quando comparadas às de ambientes abertos (Radochová et al., 2000). Tais condições envolvem baixa irradiância luminosa, alta umidade relativa do ar, composição gasosa e temperatura distintas (Zacchini et al., 1997). Os estômatos são estruturas morfológicas bastante sensíveis às variações na intensidade luminosa e na concentração de gás carbônico. Estão relacionados a importantes processos fisiológicos das plantas, sendo os locais de trocas de oxigênio e gás carbônico, para a respiração e a fotossíntese, e ainda os locais de difusão de vapores d'água na transpiração (Cutter, 1978). Diversos trabalhos indicam o aumento na densidade estomática e redução nas dimensões dos estômatos quando as folhas estão expostas a alta luminosidade (Lambers et al., 1998). Muitos estudos relacionam distribuição, densidade, condutância estomática, dimensões dos estômatos e taxa de transpiração com parâmetros ambientais, tais como umidade relativa, temperatura do ar e intensidade de luz (Parkhurst, 1978; Muchow & Sinclair, 1989; Ferris & Taylor, 1993).

O presente trabalho tem o objetivo de comparar as dimensões dos estômatos e a densidade estomática de folhas de *Tabebuia avellanedae* desenvolvidas em condições *in vitro* e *ex vitro*.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram utilizadas folhas de plantas provenientes de sementes de *T. avellanedae*, obtidas do Instituto Florestal de São Paulo, desenvolvidas por 6 meses nas condições *in vitro* e *ex vitro*.

As plantas desenvolvidas *in vitro* foram obtidas de sementes desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 30 minutos, seguida de trilavagem em água destilada. Em seguida, foram introduzidas em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio MS/2 (Murashige & Skoog, 1962). As plantas desenvolveram-se em condições de sala de crescimento à 25°C, sob 22  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa.

As plantas desenvolvidas *ex vitro* foram obtidas de sementes germinadas em sacos plásticos, com solo argiloso, e acondicionadas em caixas com sombrite de 70% de corte de luz, ou seja, expostas a 200  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Para estudo dos estômatos em microscopia óptica, foi utilizada a técnica de esmalte na superfície da lâmina foliar. A imagem foi projetada com câmara clara sobre o papel, e as medições foram aferidas com escala micrométrica.

Foram utilizadas 5 repetições com 30 amostras para cada tratamento. Os resultados foram comparados e avaliados pelo teste "t-student" (Sokal & Rohlf, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas de *T. avellanedae* são hipoestomáticas, com estômatos anomocíticos (Figuras 1 e 2). Em folhas desenvolvidas *in vitro*, os estômatos, em vista frontal, apresentam uma morfologia mais arredondada do que os estômatos desenvolvidos em folhas *ex vitro*.

As células-guarda e o poro estomático de folhas *ex vitro* (Figura 1) mostram-se mais longos que de folhas *in vitro* (Figura 2), entretanto, a largura das células-guarda e do poro estomático não apresenta diferenças significativas (tabela 1).

A densidade estomática não apresenta diferenças significativas em folhas desenvolvidas nas condições *in vitro* e *ex vitro* (tabela 1).

Os estômatos anomocíticos, conforme Souza e Oliveira (2004), são característicos da família Bignoniaceae.

Os estômatos de folhas desenvolvidas *in vitro* possuem forma mais arredondada, e esta alteração tem sido registrada para diversas espécies (Zacchini et al., 1997). Entretanto, não é conhecida a causa dessa variação.

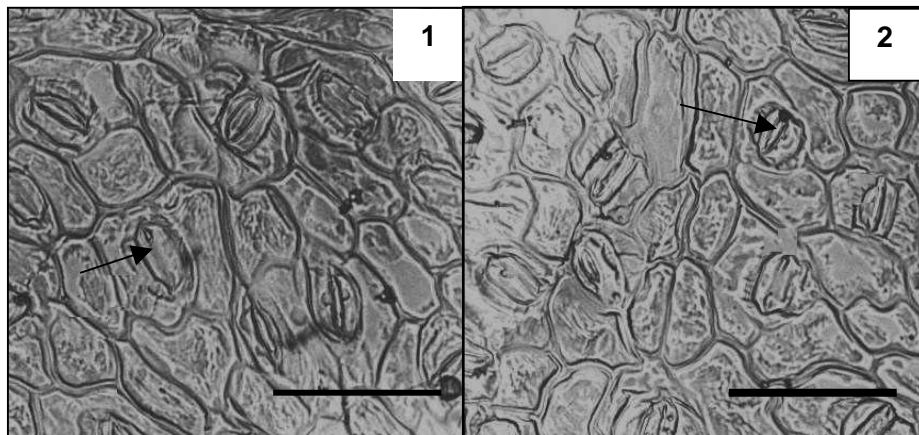
A forma dos estômatos é afetada por condições de alta umidade do ar e baixa luminosidade dos frascos *in vitro* (Radochová et al., 2000). Estas podem ter sido as causas da forma dos estômatos em *T. avellanedae* ser mais arredondada nas folhas desenvolvidas *in vitro*, favorecendo na redução das trocas gasosas.

As dimensões dos estômatos e a densidade estomática estão associadas com a capacidade de trocas gasosas (Lambers et al., 1998).

Os dados de literatura indicam redução nas dimensões dos estômatos sob alta luminosidade, entendida como uma adaptação protetora contra a desidratação (Dickison, 2000).

O maior comprimento dos estômatos e do poro estomático em folhas *ex vitro* de *T. avellanedae* podem estar relacionadas com a maior intensidade luminosa, exigindo maior fluxo de gases no processo fotossintético.

Os fatores abióticos associados às condições *in vitro* e *ex vitro* nesse experimento, induziram distinções na forma e no comprimento dos estômatos, mas sem alterar a densidade estomática.



Figuras 1-2. Vista frontal da superfície abaxial de folhas de *Tabebuia avellanedae* (Lor. ex Gris.). 1. Estômatos (seta) desenvolvidos nas condições *ex vitro*. 2. Estômatos (seta) desenvolvidos nas condições *in vitro*. Barra= 50  $\mu$ m.

Tabela 1. Dimensões dos estômatos, em  $\mu\text{m}$ , e densidade estomática, em estômatos/ $\text{mm}^2$ , de folhas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Grisebach (Bignoniaceae) *in vitro* e *ex vitro*.

	<i>in vitro</i>	<i>ex vitro</i>
<b>Comprimento células-guarda</b>	22,3±1,3 a	24,8±1,6 b
<b>Largura células-guarda</b>	5,8±0,8 a	5,4±0,7 a
<b>Comprimento poro estomático</b>	10,5±1,5 a	14,1±1,5 b
<b>Largura poro estomático</b>	6,0±1,3 a	6,9±1,0 a
<b>Densidade estomática</b>	212±28 a	225±35 a

Nota: n=30 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na horizontal indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste “t-student” (ao nível de 5% de significância).

#### CONCLUSÃO

Nas folhas desenvolvidas *in vitro*, os estômatos possuem uma morfologia mais arredondada do que os estômatos desenvolvidos em folhas *ex vitro*. As células-guarda e o poro estomático de folhas *ex vitro* mostram-se mais longos que de folhas *in vitro*. A densidade estomática não apresenta diferenças em folhas desenvolvidas nas condições *in vitro* e *ex vitro*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CUTTER, E.G. **Plant Anatomy. Part 1: Cells and tissues**. 2ªEd. London, William Clowes & Sons, Limited. 315 p. 1978.
- DICKISON, W.C. **Integrative Pant Anatomy**. USA, Academic Press. 533p. 2000.
- FERRIS, R. & TAYLOR, G. Stomatal Characteristics of four Native Herbs Following Exposure to Elevated  $\text{CO}_2$ . **Annals of Botany**, **73**: 447-453. 1994.
- LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S. & PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. Springer-Verlag New York. 540p. 1998.
- MUCHOW, R.C. & SINCLAIR, T.R. Epidermal conductance, stomatal density and stomatal size among genotypes of *Sorghum-bicolor* (L.) Moench. **Plant, Cell and Environment**, **12**: 425-431. 1989.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, **15**: 473-497. 1962.
- PARKHURST, D.F. Adaptative significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. **Journal of Ecology**, **66**: 367-383. 1978.
- RADOCHOVÁ, B.; VICANKOVA, A.; KUTIK, J.; TICHA, I. Leaf structure of tobacco *in vitro* grown plantlets as affected by saccharose and irradiance. **Biologia Plantarum** **43**(4): 633-636. 2000.
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. **Biometry**. San Francisco, Freeman and Company, 776p. 1995.

SOUZA, L.A.; OLIVEIRA, J.H.G. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lor.ex Gris. e *T. chrysotricha* Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences** 26(2): 217-226. 2004.

ZACCHINI, M.; MORINI, S.; VITAGLIANO, C. Effect of photoperiod on some stomatal characteristics of in vitro cultured fruit tree shoots. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 49: 195-200. 1997.

PALAVRAS-CHAVE: Condições *in vitro* e *ex vitro*; densidade estomática; dimensão de estômatos; fisiologia in vitro; *Tabebuia avellanedae*.

## **Efeito do estresse salino em tabaco cultivado *in vitro***

Melo, Yuri Lima<sup>1</sup>; Morais, Daniel de Souza Cruz<sup>1</sup>; Barbosa, Janilson Bruno Félix<sup>1</sup>; Lúcio, Paulo Sergio Marinho<sup>2</sup>; Macedo, Cristiane Elizabeth Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Estudantes de graduação do curso de Ciências Biológicas do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), [ozz\\_zorro@hotmail.com](mailto:ozz_zorro@hotmail.com); <sup>2</sup> Professores Doutores do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); [pmarinho@ufrnet.br](mailto:pmarinho@ufrnet.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### **INTRODUÇÃO:**

O estresse salino representa um dos mais sérios fatores que limitam o crescimento e a produção das culturas, induzindo a modificações morfológicas, estruturais e metabólicas nas plantas superiores (Izzo et al., 1991).

As estratégias adaptativas elaboradas pelas plantas para superar a salinidade buscam limitar os efeitos dos fatores de estresse e ocorrem em diversos níveis de organização. Os mecanismos complexos para resistência aos estresses iônicos e osmóticos, provocados pelo estresse salino, incluem o ajustamento osmótico e proteção de estruturas subcelulares, através do acúmulo de solutos compatíveis, como a glicinabetaína, prolina e polióis (Bohnert et al., 1999), também a manutenção da “homoeostasis” iônica intracelular, através da manutenção de alta relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> citosólica, seqüestro de íons tóxicos para o vacúolo ou extrusão celular (Zhu, 2003) e ainda a eliminação de radicais reativos de oxigênio oriundos do estresse oxidativo o qual é desencadeado pela salinidade (Cavalcanti et al., 2004).

As Tiorredoxinas são uma classe de enzimas que participa do controle redox de muitos processos celulares tais como: regulação da apoptose, da imunomodulação e da atividade de fatores de transcrição de um número importante de genes atuando também na defesa antioxidante e em processos reguladores dos níveis intra celulares de espécies reativas de oxigênio (Nordberg & Arnér, 2001).

Sendo assim, estudos relacionados ao papel das tiorredoxinas quanto a uma possível proteção de plantas contra o estresse salino são de grande importância tendo em vista a possibilidade de se obter plantas transgênicas eventualmente tolerantes ao estresse salino.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento e desenvolvimento de plântulas de tabaco nativas e transgênicas contendo uma construção antisense para um gene de tiorredoxina, quando submetidas a um gradiente de cloreto de sódio [NaCl], agente utilizado para simular o estresse salino.

### **MATERIAL E METODOS**

Neste trabalho foram utilizadas plântulas de tabaco da variedade SR1 (Etzold et al, 1987), do tipo selvagem (WT) e mutantes antisense (MT) com uma produção de Tiorredoxina inferior ao WT.

Plântulas de tabaco (WT e MT) com 10 dias de idade após a germinação foram inoculadas em tubos de ensaio com meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g/l de sacarose na ausência (controle) e na presença de 4 (quatro) concentrações de NaCl (50; 100; 150 e 200mM).

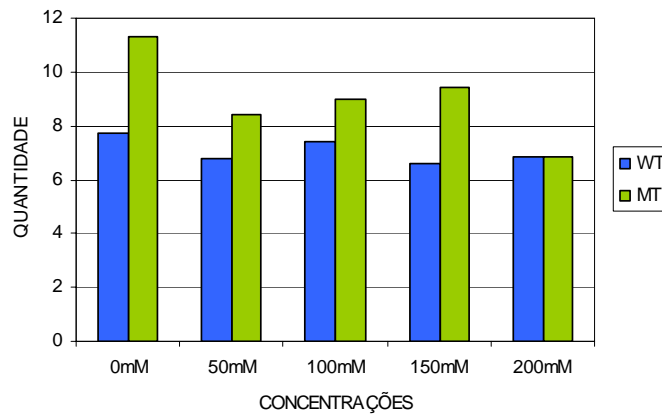
Os meios de cultura tiveram o seu pH ajustado para 5,8 em seguida foi solidificado com Agar (11g/l) e finalmente autoclavados durante 20 (vinte) minutos a temperatura de 121°C e 1 atm. Os tubos contendo as plântulas foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo 60 horas de luz e 8 de obscuridade e temperatura relativa de 25°C durante 30 (trinta) dias ao final deste período a altura das plântulas foi medida e o número de folhas e a taxa de sobrevivência computados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado organizado em arranjo fatorial entre plântulas de tabaco da variedade SR1 do tipo selvagem (WT) e mutantes antisense (MT) e cinco tratamentos com cloreto de sódio (NaCl) [0 (controle); 50; 100; 150 e 200 mM] com sete repetições. Trinta dias após o estresse salino foi medido a altura das plântulas, e o número de folhas e a taxa de sobrevivência computados.

## RESULTADOS E DUSCUSSÕES

A exposição ao sal afetou o crescimento e desenvolvimento, expresso pela produção de folhas e pela altura das plântulas de tabaco do mutante antisense (Figura 1 A-B). A diminuição de tais parâmetros é proporcional ao aumento da concentração em NaCl as quais as plântulas foram expostas. Tal resposta não foi observada nas plântulas do tipo selvagem (WT) que expressam uma maior quantidade de tioredoxinas; Estes resultados indicam que a presença do transgene em antisense para um gene de tioredoxina não é inócua a planta quanto ao crescimento em estresse salino. Os resultados também sugerem a necessidade de se obter plantas transgênicas expressando uma construção sense para estudos comparativos com plantas de tabaco do tipo selvagem utilizando concentrações superiores a 200 mM de NaCl bem como tempo de exposição ao sal superior a 30 dias.

A)



B)

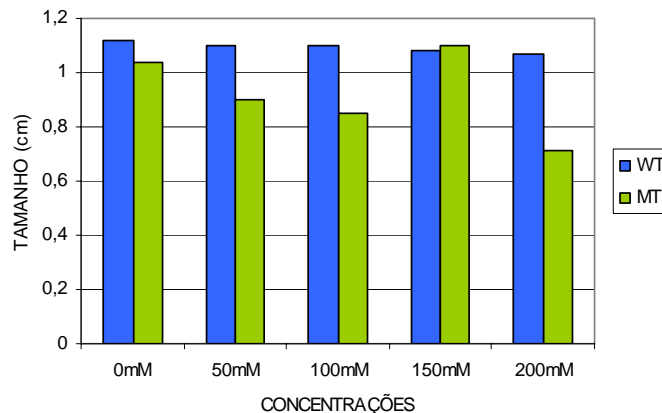


Figura 1. Número médio de folhas (A) e altura média (B) de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100, 150 e 200mM).



Em geral a sobrevivência, de todas as plântulas submetidas durante um período de 30 dias ao NaCl, não foi afetada, embora tenha sido observado um decréscimo de 29% nas plântulas de tabaco do tipo mutante (MT), submetidas a concentração de 50mM foi observado (Figura 2).

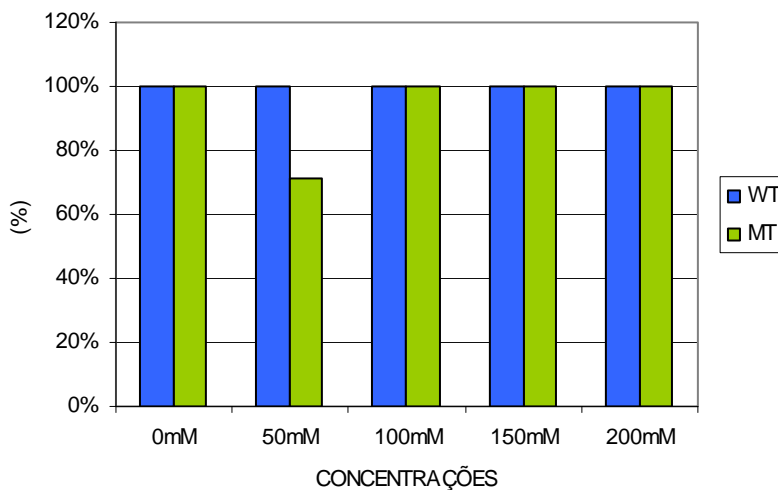


Figura 2. Taxa de sobrevivência de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de NaCl (50; 100, 150 e 200mM).

#### CONCLUSÃO:

Os resultados obtidos *in vitro* a partir dos parâmetros avaliados revelaram que as plantas de tabaco do tipo mutante são mais sensíveis ao NaCl.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BOHNERT, H.J.; SU, H.; Shen, B. **Molecular mechanisms of salinity tolerance**. In: Shinozaki, K., Yamaguchi Shinozaki, K. (Ed.) *Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants*. Austin: University of Arizona, 1999, p.29-62.

CAVALCANTI, F.B.; OLIVEIRA, J.T.A.; MIRANDA, A.S.M.; VIÉGAS,R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, Lancaster, v.163, n.3, p.563-571, 2004.

ETZOLD, T., FRITZ, C.C.; SHELL, J., AND SCHEREIER, P.H. A point mutation in the chloroplast 16S rRNA gene of a streptomycin resistant *Nicotiana tabacum*. **FEBS Lett.**219, 343-346. 1987.

IZZO, R. NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, F. Growth and mineral absorption in maize seedlings as affected by increasing NaCl concentrations. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.14, p.687-699, 1991.

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

NORDBERG, J.; ANÉR, E.S.J Reactive oxygen species, antioxidantes, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 31, p 1287 – 1312, 2001.

ZHU, J.K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.6, n.5, p.441 - 445, 2003.

PALAVRAS CHAVES:

Tabaco; mutante antisense; tioredoxinas; estresse salino

## Efeito do estresse hídrico em tabaco cultivado *in vitro*

Melo, Yuri L.<sup>1</sup>; Cruz, D. S.<sup>1</sup>; Barbosa J.B.F.<sup>1</sup>; Macedo, C.E.C.<sup>2</sup>; Marinho, P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Estudantes de graduação do curso de Ciências Biológicas do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), [ozz\\_zorro@hotmail.com](mailto:ozz_zorro@hotmail.com); <sup>2</sup> Professores Doutores do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); [pmarinho@ufrnet.br](mailto:pmarinho@ufrnet.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### INTRODUÇÃO:

A baixa disponibilidade de água no solo é considerada uma das causas mais comuns da baixa produtividade agrícola reduzindo significativamente rendimentos em lavouras, restringindo as latitudes e os solos onde espécies, comercialmente importantes podem ser cultivadas, afetando não somente os agricultores como também parte da sociedade que vive desta economia.

Nessas condições, vários processos metabólicos nas plantas podem ser influenciados, como o fechamento estomático, o declínio na taxa de crescimento, o acúmulo de solutos e antioxidantes e a expressão de genes específicos de estresse (Singh-Sangwan *et al.*, 1994; Silva e Casali, 2000). São notáveis as modificações no metabolismo das plantas uma vez que submetidas ao estresse hídrico podem apresentar acúmulo de proteínas, aminoácidos dentre eles a prolina, que estão associados à tolerância a essa condição desfavorável, podendo ainda ser considerado um mecanismo regulador da perda de água mediante aumento da osmolaridade celular que beneficiará a condutância estomática, a assimilação de CO<sub>2</sub> e a expansão dos tecidos, além de permitir a assimilação da água necessária ao metabolismo celular (Serraj & Sinclair, 2002), proporcionando a sua adaptação ao estresse.

As Tiorredoxinas são uma classe de enzimas que participam do controle redox de muitos processos celulares tais como: regulação da apoptose, da imunomodulação e da atividade de fatores de transcrição de um número importante de genes atuando também na defesa antioxidante e em processos reguladores dos níveis intra celulares de espécies reativas de oxigênio (Nordberg & Arnér, 2001).

Sendo assim, estudos relacionados ao papel das tiorredoxinas quanto a uma possível proteção de plantas contra o estresse hídrico são de grande importância tendo em vista a possibilidade de se obter plantas transgênicas eventualmente tolerantes ao estresse hídrico.

Neste contexto, o presente trabalho se propôs a avaliar os efeitos específicos do PEG (polietilenoglicol 6000), agente utilizado para simular o estresse hídrico, no crescimento e desenvolvimento de plântulas de tabaco nativas e transgênicas contendo uma construção antisense para um gene de tiorredoxina.

O PEG tem sido utilizado com sucesso em trabalhos de pesquisa para simular os efeitos do déficit hídrico nas plantas, por não penetrar nas células, não ser degradado e não causar toxidez, devido ao seu alto peso molecular (Hasegawa *et al.*, 1984). Segundo Lawlor (1970), o PEG é um agente com capacidade de aumentar a concentração osmótica das soluções nutritivas utilizadas em experimentos com plantas; tem a capacidade de simular seca, causando dissecação na planta, bloqueando o movimento da água pela diminuição do potencial hídrico do meio onde crescem as raízes.

### MATERIAIS E MÉTODOS:

Neste trabalho foram utilizadas plântulas de tabaco da variedade SR1 (Etzold *et al.*, 1987), do tipo selvagem (WT) e mutantes antisense (MT) com uma produção de Tiorredoxina inferior ao WT.

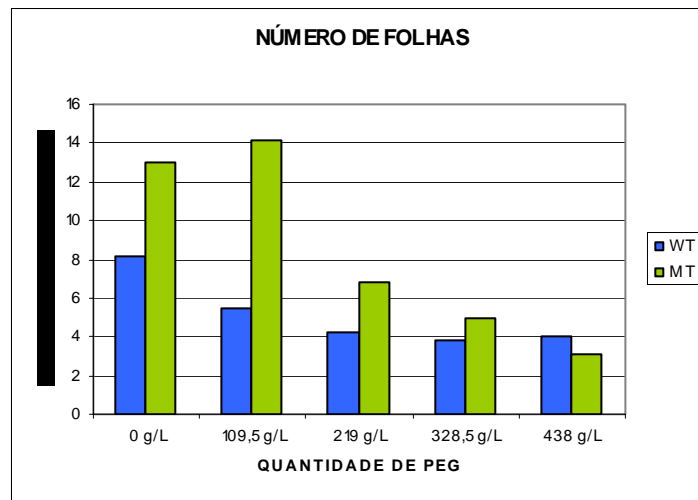
Plântulas de tabaco (WT e MT) com 10 dias de idade após a germinação foram inoculadas em tubos de ensaio, contendo pontes de sustentação, com meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g/L de sacarose na ausência (controle) e na presença de 4 (quatro) concentrações de PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L]. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado organizado em arranjo fatorial entre plântulas de tabaco da variedade SR1 do tipo selvagem (WT) e mutantes antisense (MT) e cinco tratamentos com PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L] com sete repetições.

Os meios de cultura tiveram o seu pH ajustado para 5,8 e finalmente autoclavados durante 20 (vinte) minutos a temperatura de 121°C e 1 atm. Os tubos contendo as plântulas foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo 60 horas de luz e 8 de escuro e temperatura relativa de 25°C durante 30 (trinta) dias. Ao final deste período a altura das plântulas foi medida, o número de folhas e a taxa de sobrevivência computados.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A exposição ao PEG afetou o crescimento e desenvolvimento, expresso pela produção de folhas e pela altura das plântulas de tabaco do mutante antisense (Figura 1 A-B). A diminuição de tais parâmetros é proporcional ao aumento da concentração em PEG as quais as plântulas foram expostas e tal efeito é bem mais marcante no mutante antisense quando comparado ao tipo selvagem (WT) que expressam uma maior quantidade de tioredoxinas. Estes resultados indicam que a presença do transgene em antisense para um gene de tioredoxina não é inócua a planta quanto ao crescimento em presença de um estresse hídrico.

A)



B)

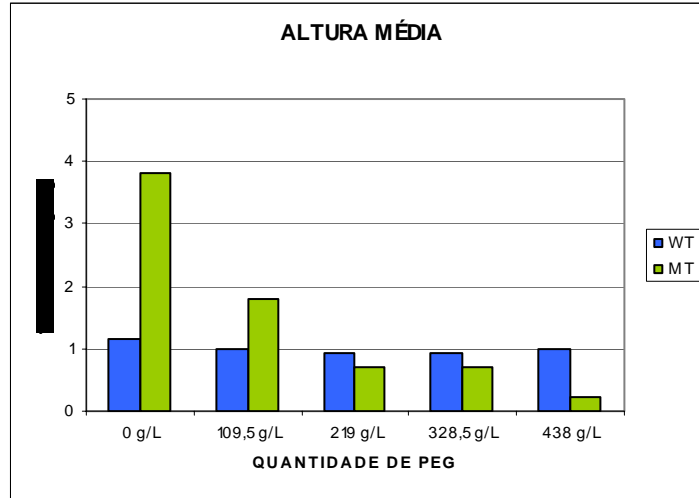


Figura 1. Numero médio de folhas (A) e altura média (B) de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L].

Em geral a sobrevivência, de todas as plântulas submetidas durante um período de 30 dias ao PEG, não foi afetada, embora tenha sido observado um decréscimo de 15% nas plântulas de tabaco do tipo mutante (MT), submetidas a concentração de 109,5 g/L e do tipo selvagem (WT) submetidas a concentração de 328,5 g/L. Em presença de 438 g/L de PEG a sobrevivência das plântulas de ambas variedades foi totalmente comprometida, tendo em vista que nenhuma delas sobreviveu em presença de tal dose (Figura 2).

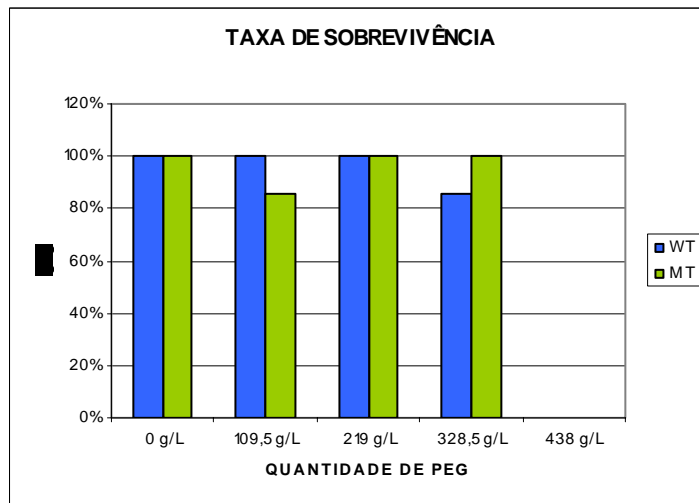


Figura 02: Taxa de sobrevivência de plântulas de tabaco da variedade selvagem (WT) e do tipo mutante (MT) na ausência (controle) e na presença de PEG [109,5; 219; 328,5; 438 g/L].

## CONCLUSÃO:

Os resultados obtidos *in vitro* a partir dos parâmetros avaliados revelaram que as plantas de tabaco do tipo mutante são mais sensíveis ao PEG e que as doses iguais ou superiores a 438 g/L de PEG são letais as plântulas de tabaco.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ETZOLD, T., FRITZ, C.C.; SHELL, J., AND SCHEREIER, P.H. **A point mutation in the chloroplast 16S rRNA gene of a streptomycin resistant *Nicotiana tabacum***. FEBS Lett.219, 343-346. 1987.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; HANDA, S.; HANDA, A.K. **Cellular mechanisms of tolerance to water stress**. HortScience, Alexandria, v.19, n.3, p.371-377, 1984.

LAWLOR, D.W. **Absorption of polyethylenoglicols by plants and their effects on plant growth**. New Phytologist, v.69, p.501-513, 1970.

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

NORDBERG, J.; ANÉR, E.S.J **Reactive oxygen species, antioxidantes, and the mammalian thioredoxin system**. Free Radical Biology & Medicine. v. 31, p 1287 – 1312, 2001.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. **Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?** Plant, Cell and Environment, v.25, p.333-341, 2002.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: Pós colheita e óleos essenciais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia, 2000.

SINGH-SANGWAN, N. *et al.* **Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses**. *New Phytol.*, Cambridge, v. 128, p. 173-179, 1994.

## PALAVRAS CHAVES

Tabaco, polietilenoglicol; tioredoxinas; estresse hídrico

## <sup>1</sup>AGRADECIMENTOS

---

<sup>1</sup> UFRN (Departamento de Biologia Celular e Genética – DBG)

## **Eficiência de reguladores no porte e qualidade de plantas de girassol cultivadas em vaso com diferentes substratos.**

Barbosa, Mauricio Soares<sup>1</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Tsuji, Susan<sup>3</sup>; Rubim, Mariana<sup>3</sup>; Muniz, Moisés Alves<sup>4</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000, e-mail: [mausbarbosa@yahoo.com.br](mailto:mausbarbosa@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Fitotecnia (UFV) Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000, tel. (31)3899-2615, e-mail: [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br); <sup>3</sup>Estudante de graduação de Agronomia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000; <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000 e-mail: [mmuniz76@yahoo.com.br](mailto:mmuniz76@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professor do Departamento de Fitotecnia (UFV) Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000, tel. (31)3899-1141, e-mail: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br)

O surgimento de variedades de girassol com alto potencial ornamental tem possibilitado sua produção como flor de corte, sendo também cultivado como planta ornamental em vaso, embora para isso tenha que se utilizar variedades de porte baixo. A utilização de retardantes de crescimento para a obtenção de plantas compactas, tem sido pesquisada em espécies como crisântemo, hortênsias e outras, obtendo-se plantas de menor tamanho sem deformações. Para verificar a resposta de plantas de girassol, variedade golden, dobrado, cultivado em vaso contendo diferentes substratos, à aplicação de paclobutrazol, instalou-se um experimento, utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados com arranjo fatorial 4x4 com quatro substratos (solo:areia:casca de arroz carbonizada 2:0,5:2; solo:areia:carvão de cana, 2:0,5:2; solo:areia:carvão vegetal 2:0,5:2 e substrato comercial plantmax) e quatro doses de paclobutrazol (0; 2; 4; 6 mg de i.a./vaso de 800 mL) com 3 repetições. Foram avaliados os seguintes parâmetros: altura da planta, número de folhas, ciclo, e vida de vaso (pós-produção), diâmetro da flor e concentração de clorofila em unidades de SPAD. Maior qualidade foi observada nas plantas cultivadas no substrato contendo casca de arroz carbonizada, sendo o substrato que proporcionou maior número de folhas. Houve uma relação inversa entre dosagem de paclobutrazol e altura da planta, observando-se que a aplicação da menor dosagem, 2 mg de i.a./ vaso de 800 mL, possibilitou redução satisfatória no porte das plantas de girassol, possibilitando boa harmonia de vaso, sendo a mais recomendada.

## Proposta para classificação de capítulos de *Gerbera* spp. com base no índice de sobreposição das flores.

Cardoso, Raquel Dalla Lana<sup>1</sup>; Grando, Magali Ferrari<sup>2</sup>, Scheffer-Basso, Simone Meredith<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UPF), Campus1, Cx. P. 611, CEP 99001-070 Passo Fundo, RS, e-mail: [raqueldlcardoso@bol.com.br](mailto:raqueldlcardoso@bol.com.br) ; <sup>2</sup> Professora do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UPF), Campus1, Cx. P. 611, CEP 99001-070 Passo Fundo, RS, e-mail: [sbasso@upf.br](mailto:sbasso@upf.br); [magali@upf.br](mailto:magali@upf.br).

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera* spp.) é uma planta perene, herbácea, da Família Asteraceae, Tribo Mustisieae, Subtribo Mustisiinae. O gênero compreende cerca de 30 espécies distribuídas pela África, Madagascar, Ásia tropical e uma espécie originada nos Andes do Peru, América do Sul (Barroso, 1991).

A gérbera apresenta a típica inflorescência da família Asteraceae, o capítulo, o qual apresenta flores vistosas (flósculos), que variam quanto à forma da corola, sexualidade, simetria, fusão de órgãos e pigmentação. Variabilidade relacionada ao intenso melhoramento genético realizado nesta espécie, o qual teve início com o cruzamento de duas espécies sul-africanas, *Gerbera jamesonii* e *Gerbera viridifolia*, híbrido conhecido atualmente como *Gerbera hybrida* Hort. O desenvolvimento de cultivares de gérbera tem sido realizado, principalmente pela Holanda e Estados Unidos.

A *Gerbera hybrida* apresenta uma grande variabilidade morfológica dos capítulos sendo estes classificados em simples, semidobrados e dobrados. Atualmente a classificação dos capítulos de gérbera vem sendo realizada de forma subjetiva com base em ilustrações constantes nos Descritores de *Gerbera* Cass., do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Por este critério, muitas vezes, ocorrem controvérsias entre produtores e floricultores, principalmente quanto aos capítulos dobrados e semidobrados.

O objetivo deste trabalho é propor uma sistematização para a classificação dos capítulos de gérbera com base em um índice de sobreposição calculado através de medidas quantitativas.

### METODOLOGIA

O estudo foi realizado entre dezembro de 2005 a março de 2006, na Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul. Foram avaliados capítulos de híbridos de gérbera (Orca, Cosmo Dino, Classic Fábio, Orange, Tonga, Rokie, Miriam, Amazone, Terra Fame, Asteca, Tenesse, Cariba, Cabana, Bianca, Dino, Kozak, Igor, Lady, Gunda, Havanna, Eyecatha, Orange Dino, Onedim, Junk Frau, Solemio, King Alexandre, Lamborghini, Pink Elegance) e sete acessos coletados em jardins do Rio Grande do Sul e Espírito Santo (S. Rosa Pink, S. Rosa Pink-c, Rosa, Salmão, S. amarelo, A11 e A12). Três a oito capítulos de cada acesso foram avaliados, medindo-se a largura do conjunto das flores do raio interno (Figura 1-A), denominadas flores trans, e a largura do conjunto das flores do raio externo (Figura 1-B).



Figura 1. Capítulo de gérbera: em A largura do conjunto das flores do raio interno e em B soma da largura do conjunto das flores do raio interno e externo.



As plantas foram coletadas quando estavam em estágio comercial, ou seja, quando as duas fileiras de flores do disco raio estavam abertas. A partir dos dados obtidos, obteve-se a média de cada um dos acessos e, assim, foi calculado o índice de sobreposição (IS= razão entre a largura do conjunto das flores do raio interno/  $\Sigma$  da largura do conjunto das flores do raio interno e do externo). Os índices foram submetidos à análise multivariada, pela: a) estimativa de dissimilaridade entre os acessos, através da distancia euclidiana média (D.E.M) e b) análise de agrupamento, através do método de ligação completa, com a geração de um dendrograma. A análise estatística foi realizada pelo programa Genes (Cruz, 2001). A documentação foi realizada através de fotos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A obtenção de um índice é proposta, com base nos resultados de Cardoso et al. (2006), ao verificarem que o comprimento da corola e do lábio externo das flores trans, largura do conjunto das flores trans e do conjunto das flores liguladas do raio terem sido os caracteres que, juntos, mais contribuíram para a divergência genética de um conjunto de acessos de gérbera. Pelo dendrograma (Figura 2) observa-se a formação de três grupos distintos: Grupo 1: formado somente pelos com capítulos com IS de 0,03 a 0,09; Grupo 2: capítulos com IS de 0,16 a 0,34; Grupo 3: capítulos com IS de 0,41 a 0,60. Os acessos mais divergentes foram Tonga (capítulo simples) e Junk Frau (capítulo dobrado) (D.E.M= 2,95) e os mais similares, Orca e Cosmo Dino (D.E.M = 0,0). Para os mais divergentes, o IS variou de 0,03 cm (Orca) a 0,64 cm (Junk Frau). Assim, poderia-se classificar como capítulos simples os que tem IS= 0,01 a 0,15; capítulos semidobrados, com IS= 0,16 e 0,40 e, capítulos dobrados, os que tem IS igual ou superior a 0,41.

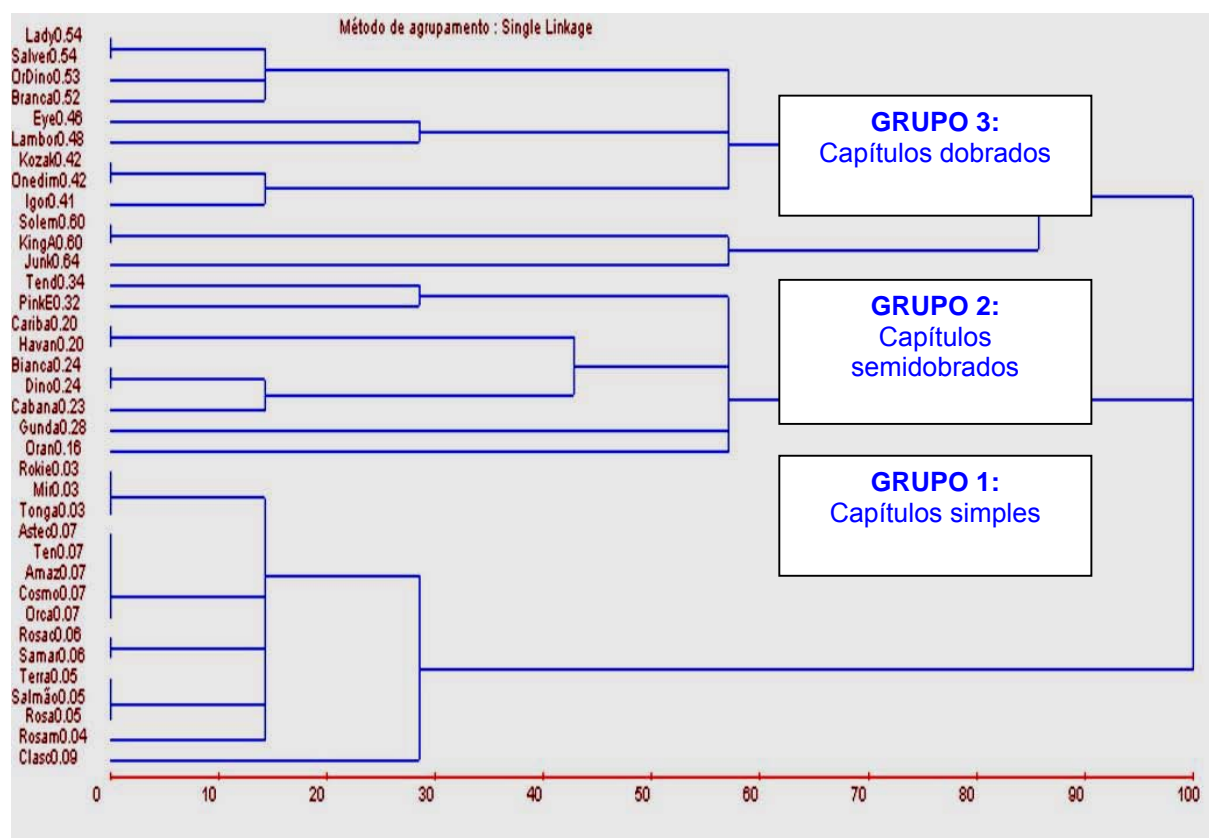


Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 35 acessos de gérbera com base no índice de sobreposição do conjunto das flores trans, obtido pelo método do vizinho mais distante, baseado na matriz de distância euclidiana média. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

Esse critério poderia substituir o modo atual de classificação dos capítulos de gérbera, uma vez que alguns autores assumem como capítulos dobrados aqueles que apresentam a fileira de flores trans, alargada (Kloss et al., 2004). Para Rogers e Tija (1990), gérbera que mais de uma fileira de flores do raio são consideradas dobradas, mas isto não condiz com a classificação feita pelos produtores de gérbera. Para estes, há apenas capítulos simples e dobrados, pois tanto os capítulos, considerados, dobrados ou semidobrados, quanto os simples, podem apresentar mais de uma fileira de flores do raio. Há várias cultivares de gérbera classificadas como simples, mas que apresentam mais de uma fileira de flores do raio.

Pelo MAPA, o critério de classificação é subjetivo, com base numa ilustração, considerando a largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (flores trans), comparado à largura do capítulo. Com isso, há muita divergência entre o que os técnicos consideram como largura média e grande, e, com isso, a classificações dos capítulos em semidobrados e dobrados fica de ordem pessoal. A figura 3 apresenta a classificação dos acessos com base no critério do MAPA e, também, a classificação pelo IS, proposto neste trabalho.

Comparando o dendograma (Figura 2) e a figura 3, percebe-se que muitas cultivares obtiveram a mesma classificação pelos dois critérios. Houve divergência entre a classificação da cv. Orange, classificada, pelo método subjetivo, como simples, sendo que pelo IS (0,16) se enquadrou como semidobrada. A Selvagem amarela, classificada, visualmente como semidobrada, não apresentou IS suficientemente elevado (0,06), sendo classificada como simples. Atualmente, a cv. Pink Elegance apresenta divergência em sua classificação, pois alguns produtores a classificam como dobrada, enquanto, outros, a tem como semidobrada. Pelo IS (0,32), esta cultivar foi classificada como semidobrada. A cv. Eyecatha apresentou IS=0,46, sendo agrupada junto com as dobradas. As cvs. Kozak e Igor apresentaram IS mínimo para serem consideradas como, 0,42 e 0,41, respectivamente, porém, visualmente, são mais semelhantes às semidobradas. Por isso, este método, ora proposto, pode ser melhorado, principalmente, quanto aos valores a serem adotados para cada tipo de capítulo.

## CONCLUSÃO

O índice de sobreposição poder ser utilizado para sistematizar a classificação dos capítulos de gérbera, reduzindo as divergências nas classificações e a subjetividade nas decisões de produtores, floricultores e melhoristas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Vol.3. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1991. 312p.

CARDOSO, R.D.L.; SCHEFFER-BASSO, S.M.; GRANDO, M.F. 2006. Divergência Genética em Gérbera com Base em Marcadores Morfológicos. In: Anais...57º Congresso Nacional de Botânica, 2006, Gramado. 57º. Congresso Nacional de Botânica. Porto Alegre: UFRGS, 2006.

CRUZ, C. D. **Programa Genes Versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 442p.

KLOSS, W.E.; GEORGE, C.G.; SORGE, L.K. Inheritance of the flower types of *Gerbera hybrida*. **J.Amer. Soc. Hort. Sci.**, v.129, p.802-810, 2004.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de Gerbera [on line]**. Homepage: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br) .

ROGERS, M. N.; TIJA, B.O. **Gerbera production for cut flowers and pot plants**. Timber Press: Portland, Ore. 1990.

PALAVRAS-CHAVES: *Gerbera hybrida*; Asteraceae, classificação; tipos de capítulos.

Crítério de Classificação Subjetivo		Crítério de Classificação Proposto
Orca		Orca
Cosmo		Cosmo
Dino		Dino
Classic Fábulo		Classic Fábulo
Orange		Rokie
Tonga		Tonga
Miriam		Miriam
Amazone		Amazone
S. Rosa pink		S. Rosa pink
S. Rosa Pink		S. Rosa Pink
Rosa		Rosa
Terra Fame		Terra Fame
Azteca		Azteca
Tennessee		Tennessee
Salmão		Salmão
Orange		S. Amarela

**CAPÍTULOS SIMPLES**























Crítério de Classificação Subjetivo		Crítério de Classificação Proposto		Crítério de Classificação Subjetivo		Crítério de Classificação Proposto
Orange Dino		Orange Dino	<b>CAPÍTULOS SEMIDOBRADOS</b>	Cariba		Cariba
Onedim		Onedim		Cabana		Cabana
Junk Frau		Junk Frau		Bianca		Bianca
Solemio		Solemio		Dino		Dino
King Alexandre		King Alexandre		Havanna		Havanna
Lamborghini		Lamborghini		Gunda		Gunda
Pink Elegance		Lady		Orange		Orange
A 11		A 11		Pink Elegance		Pink Elegance
		A 12				
		Eyecatha Kozak				
		Igor				
						
A 12				S. Amarela		

Figura 3. Comparação da classificação dos capítulos de gérbera pelo critério subjetivo e pelo critério proposto.

## **Fracionamento de carboidratos em hastes recém colhidas de helicônia cultivar Golden Torch.**

Costa, Andreza Santos da<sup>1</sup>; Felix, Ana Maria de Souza<sup>2</sup>; Oliveira, Cynara Moura de<sup>3</sup>; Silva, André Barbosa<sup>4</sup>; Loges, Vivian<sup>5</sup>; Bezerra Neto, Egidio<sup>6</sup>; Willadino, Lilia<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE-PE), Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6250, email: andreza.costa@gmail.com; Graduada em Biologia - UFRPE, PIBIC, email: felix.ana@gmail.com; <sup>3</sup> Graduada em Biologia - UFRPE, PIC, email: cynara\_moura@yahoo.com.br; <sup>4</sup> Graduando em Agronomia - UFRPE, email: andreufrpe@gmail.com; <sup>5</sup> Professora Adjunta, Laboratório de Floricultura DEPA/UFRPE, email: vloges@yahoo.com; <sup>6</sup> Professor Adjunto DQ/UFRPE, email: egidio@dq.ufrpe.br; <sup>7</sup> Professora Adjunta DB/UFRPE, email: lilia@truenet.com

### **INTRODUÇÃO**

As helicônias apresentam diferença quanto à durabilidade a qual varia de acordo com as condições de cultivo, manejo pós-colheita e com a quantidade de carboidratos presentes nos tecidos das plantas (Nowak & Rudnicki, 1990). As variações quantitativas e qualitativas dos carboidratos em plantas são influenciadas pelo ambiente onde as mesmas se desenvolvem (Pandya & Saxena, 2003).

Nas plantas os açúcares funcionam como reserva, fonte metabólica e também são importantes reguladores de muitos processos associados ao crescimento, maturação e senescência (Moore & Sheen, 1999). O esgotamento das substâncias de reserva da planta, que são fundamentais para a durabilidade pós-colheita, relaciona-se principalmente com a diminuição da quantidade de carboidratos, no momento da colheita (Sonego & Brackmann, 1995). Esse esgotamento é causado pela respiração vegetal e sua taxa determina a longevidade das flores (Hardenburg et al., 1988).

Os açúcares são transportados nas plantas, frequentemente, como dissacarídeos e a sacarose é o principal carboidrato translocado pelo floema na maioria das plantas. Alguns polissacarídeos têm função de armazenamento, como o amido, e outros têm função estrutural como a celulose (Raven et al., 2001). Esse trabalho teve como objetivo determinar os teores de carboidratos solúveis totais, açúcares redutores, açúcares não redutores e carboidratos totais não-estruturais em hastes florais frescas de *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* Aristeguieta cv. Golden Torch.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica Vegetal, Área de Química Agrícola do Departamento de Química da UFRPE. Foram colhidas hastes florais do híbrido natural *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch de touceiras com 3 anos idade na Fazenda Mumbecas (latitude 07°56'45" Sul e longitude 34°54'46" Oeste) em Paulista (PE).

As hastes florais foram colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento da inflorescência, que correspondem ao número de brácteas abertas, sendo estes: estágio A - brácteas fechadas; estágio B - uma ou duas brácteas abertas; e estágio C - três brácteas abertas. Cada tratamento teve oito repetições. Amostras de tecido fresco foram coletadas em quatro partes: folha (F), última folha emitida; inflorescência (I); parte superior do pedúnculo (PS), próximo à inflorescência; e parte inferior do pedúnculo (PI), na base da haste. Na coleta das amostras de 5 cm do tecido do PI e PS, foram descartados 3 cm das extremidades inferior e superior. Foram determinados os teores de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (S), carboidratos totais não-estruturais (CTNE), açúcares redutores (AR) e amido.

Foram pesados 0,5 g de tecido fresco e colocadas em vidro âmbar com 20 mL de álcool etílico a 80%. As amostras foram trituradas em um homogeneizador de tecidos, filtradas em tela de náilon e o filtrado foi transferido para balão volumétrico onde completou-se o volume para 50 mL com água destilada. Em seguida o extrato foi armazenado em congelador até o momento da análise.

Os teores de CST foram determinados segundo o método de antrona (Yemm & Willis, 1954, adaptado por Bezerra Neto & Barreto, 2004) e a sacarose (S), segundo metodologia de Arruda Júnior et al. (2003). Os teores de CTNE foram determinados segundo a metodologia de Souza et al. (2006). Os teores de AR e amido foram estimados pela diferença entre as médias de CST e ANR, para o primeiro, e CTNE e CST para o segundo, sendo assim não foi possível submetê-los a análise estatística. Os dados de CST, S e CTNE foram submetidos à análise de variância e para as médias que apresentaram significância aplicou-se o teste de Tuckey a 5% de probabilidade utilizando o programa SAEG.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diferença no teor de carboidratos solúveis totais (CST) entre os estádios de desenvolvimento para folha (média: 41,1 mg.g<sup>-1</sup>), inflorescência (média: 9,38 mg.g<sup>-1</sup>) e pedúnculo superior (média: 24,68 mg.g<sup>-1</sup>). O pedúnculo inferior (PI), apresentou menor concentração (15,55 mg.g<sup>-1</sup>) no estádio C. Observa-se que somente no estádio C houve diferença entre todas as partes da planta, sendo o maior teor observado em F (40,60 mg.g<sup>-1</sup>) e o menor em I (7,80 mg.g<sup>-1</sup>). Segundo Druege (2001), as fases de floração e frutificação demandam energia, sendo esperado que ocorra acúmulo de carboidratos em órgãos de dreno como as inflorescências. Nesse caso, o menor teor observado em I pode ter relação com o consumo de energia, para formação e desenvolvimento das partes florais (estádio C) (Figura 1a).

Os teores de sacarose (S) para F (22,82; 21,35 e 27,06 mg.g<sup>-1</sup>) foram superiores aos teores observados em PI (8,44; 6,41 e 4,00 mg.g<sup>-1</sup>), I (6,93; 5,77 e 5,00 mg.g<sup>-1</sup>) e PS (9,79; 9,81 e 12,06 mg.g<sup>-1</sup>) nos estágios A, B e C, respectivamente. O teor de sacarose em F diferiu da concentração em I para os estádios A, B e C, sugerindo a metabolização deste dissacarídeo no processo de floração (Raven et al., 2001). Segundo Yee & Tissue (2005), na fase de florescimento, os níveis de carboidratos variam muito entre as brácteas e outras partes da planta (Figura 1b).

Para os carboidratos totais não estruturais (CTNE) não houve diferença entre o teor em F, PI e PS no estádio A; entre F e PI no estádio B; e entre F e PS no estádio C. O teor de CTNE na inflorescência reduziu de 20,71 mg.g<sup>-1</sup> no estádio A, para 12,79 mg.g<sup>-1</sup> no estádio C, demonstrando que houve consumo desses carboidratos (Figura 1d). Essa redução do teor de CTNE sugere que esses açúcares foram metabolizados em açúcares de pronto consumo. Yee & Tissue (2005), não observaram diferença nas concentrações de CTNE em *H. caribaea* durante o florescimento, sugerindo que não houve contribuição para o florescimento. Os teores de CTNE foram os maiores em todas as partes da planta nos estádios A, B e C em relação aos demais carboidratos analisados.

De acordo com a Figura 1c, pode-se observar que o teor de açúcares redutores na inflorescência foi inferior às demais partes da planta, e que houve uma redução no teor destes açúcares, no estágio C em relação aos demais estádios, nas folhas e pedúnculo inferior. Aparentemente este carboidrato não variou entre os estádios de desenvolvimento, na inflorescência nem no pedúnculo superior. O teor médio de açúcares redutores na inflorescência foi inferior ao das folhas, pedúnculo inferior e pedúnculo superior. Estima-se que houve uma redução no conteúdo de amido entre os estádios A, B e C, principalmente, no pedúnculo inferior (Figura 1e).

Os teores de todos os carboidratos nas folhas foram os mais elevados quando comparados com PI, I e PS. Este comportamento provavelmente é consequência do elevado metabolismo fotossintético na folha paralelo ao elevado consumo de carboidratos demandado pela formação das brácteas e flores na inflorescência.

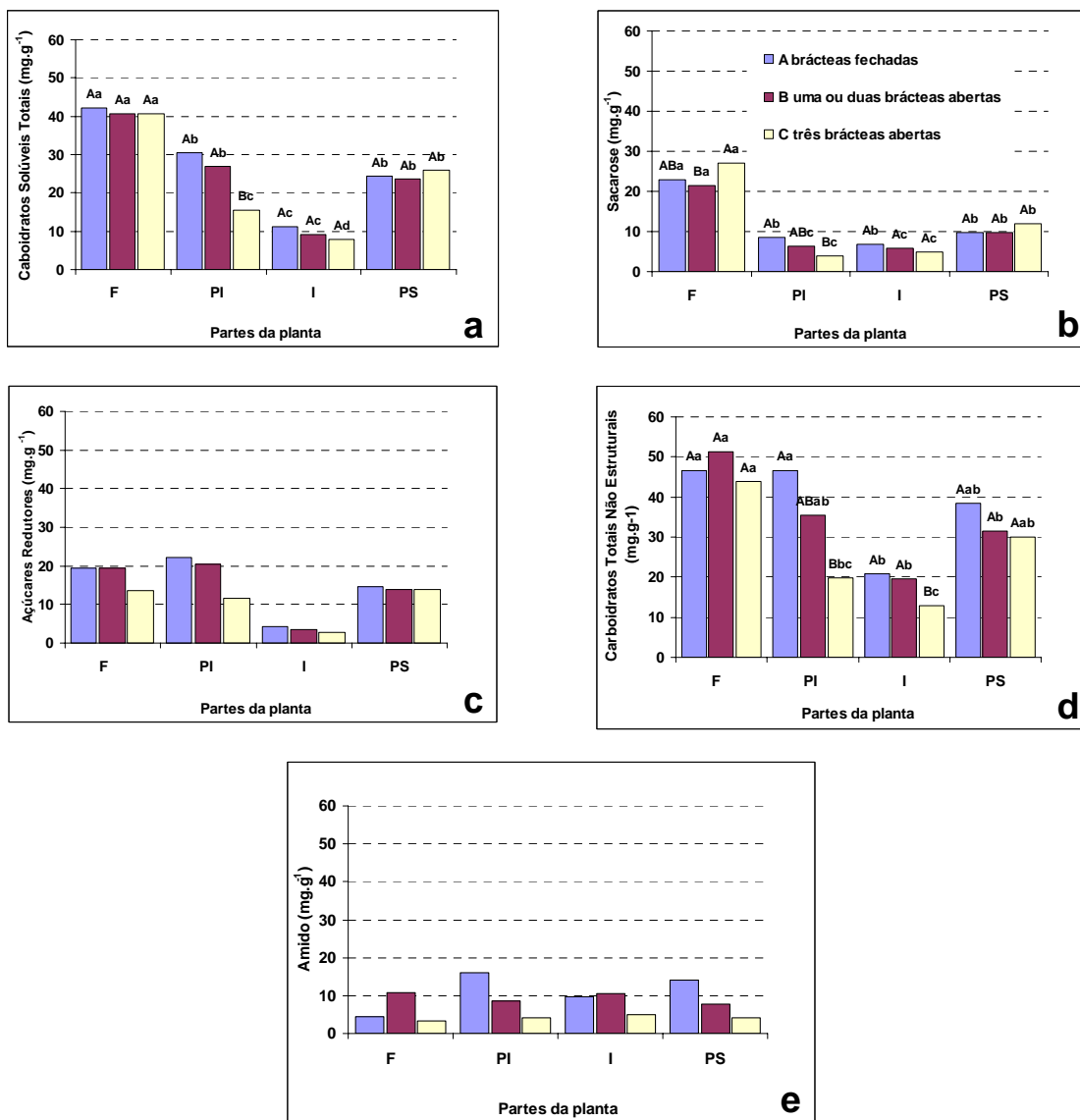


Figura 2. Teores de carboidratos solúveis totais (a), sacarose (b), açúcares redutores (c) e carboidratos totais não estruturais (d) em hastes florais *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch em diferentes estádios de desenvolvimento.

Nota: Barras com a mesma letra maiúscula representa as partes da planta e com a mesma letra minúscula os estádios de desenvolvimento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%. A legenda na Figura 2b, deve ser considerada para as demais figuras.

## CONCLUSÃO

Os teores das frações de carboidratos analisadas em hastes florais recém colhidas de helicônia variaram com o estágio de desenvolvimento e a parte da haste analisada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA JÚNIOR, S.J. de; BEZERRA NETO, E.; ALBUQUERQUE, E.L. de; SILVA, A.B. Calibração de metodologia para análise de sacarose em tecido vegetal. **III Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE**. Recife, Imprensa Universitária. 2003.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Métodos de análises químicas em plantas**. Recife: UFRPE. 2004. 148p.

DRUEGE, U. Postharvest responses of different ornamental products to preharvest nitrogen supply: role of carbohydrates photosynthesis and plants hormones. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.543, p.97-105, 2001.

HARDENBURG, R.E.; WATADA, AE.; WANG, C.Y. **Almacenamiento comercial de frutas, legumbres y existencias de florestierias y viveros**. Costa Rica: IICA, p.91-121, 1988.

MOORE, B.D.; SHEEN, J. Plant sugar sensing and signaling – a complex reality. **Elsevier Science**, Massachusetts General Hospital, Dept of Molecular Biology, Wellman 11, Boston, v.4, n.7, p.1360-1365, 1999.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, Florist greens and potted plant**. Timber Press, Portland, Ore. 1990.

PANDYA, H. A., SAXENA, O. P. Post harvest light intensity and temperature on carbohydrate levels and vase life cut flowers. **Acta Horticulturae**. 624, 426-432p. 2003.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. E.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 2001. 906p.

SOUZA, A.E.R.; SILVA, A.B. da; BEZERRA NETO, E.; ALBUQUERQUE, E.L. de. Calibração de metodologia para análise de carboidratos totais não-estruturais em tecido vegetal. In: XXIX Reunião Nordestina de Botânica. Mossoró, 2006.

SONEGO, G.; BRACKMANN, A. Conservação pós-colheita de flores. *Ciência Rural*, Santa Maria. v.25, n.3, p.473-479, 1995.

YEE, D.; TISSUE, D. T. Relationships between non-structural carbohydrate concentration and flowering in a subtropical herb, *Heliconia caribaea* (Heliconiaceae). *Caribbean Journal of Science*, Puerto Rico, v.41, n.2, p. 243-249, 2005.

PALAVRAS-CHAVES: Heliconiaceae; carboidratos solúveis totais; carboidratos totais não-estruturais; sacarose; amido.

## **Anatomia da Epiderme de Brácteas em Genótipos de *Heliconia* (Heliconiaceae).**

Costa, Andreza Santos da<sup>1</sup>; Clébio, Pereira Ferreira<sup>2</sup>; Pimentel, Rejane Magalhães de Mendonça<sup>3</sup>; Castro, Ana Cecília Ribeiro de<sup>4</sup>; Loges, Vivian<sup>5</sup>; Willadino, Lília<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE-PE), Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900. Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6366, E-mail: andreza.costa@gmail.com; <sup>2</sup>Mestrando em Botânica (PPGB-UFRPE), E-mail: clebiologo@hotmail.com; <sup>3</sup>Professora Adjunta DB/UFRPE, E-mail: pimentel@db.ufrpe.br; <sup>4</sup>Pesquisadora CNPAT, E-mail: castro.macastr@gmail.com; <sup>5</sup>Professora Adjunta, DEPA/UFRPE, E-mail: vloges@yahoo.com; <sup>6</sup>Professora Adjunta DB/UFRPE, E-mail: lilia@pq.cnpq.br.

### **INTRODUÇÃO**

As espécies do gênero *Heliconia* são nativas da América Tropical, sendo o único gênero da família Heliconiaceae. Como resultado do seu cultivo e popularização como flor de corte e para uso em paisagismo, as helicônias são encontradas em todas as regiões tropicais do mundo (Berry & Kress, 1991). A região Nordeste é uma grande produtora de helicônias, destacando-se o Estado de Pernambuco (Aki & Perosa, 2002).

Simão & Scatena (2004) observaram a escassez de informações acerca da estrutura anatômica das brácteas de *Heliconia* (*H. angusta*, *H. hirsuta*, *H. rivularis*, *H. spathocircinata*, *H. subulata* subsp. *gracilis* e *H. velloziana*). Estes dados são importantes na elucidação do enquadramento taxonômico destas espécies, na diferenciação entre espécies, híbridos e cultivares, e no estudo fisiológico dessas plantas a partir dos estômatos presentes nas brácteas.

Este estudo visa contribuir com o conhecimento anatômico da epiderme das brácteas de sete genótipos de *Heliconia*. A caracterização anatômica das brácteas informará acerca do grau de plasticidade ocorrente nas células da epiderme destas estruturas, além de contribuir para o estudo taxonômico destas plantas.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Anatomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) com sete genótipos de *Heliconia* (Fig. 1-7). Três genótipos (Fig. 1, 5 e 6) foram coletados na Coleção de Germoplasma de Helicônia da UFRPE, e os demais (Fig. 2, 3 e 4) foram coletados na Fazenda Mumbecas, município de Paulista. Um deles (Fig. 7) foi coletado na Sementeira Amélia, localizada no município de Igarassu.

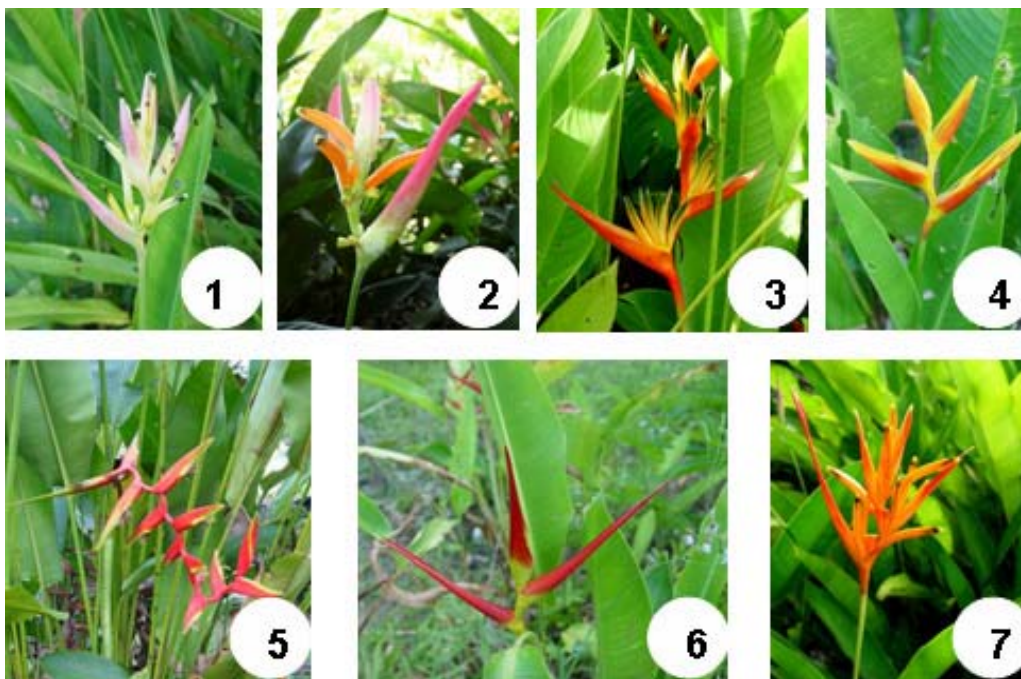
Amostras da região mediana das brácteas basais, medindo 5 x 5 cm, foram fixadas em FAA 50 e mantidas em etanol 70% (Johansen, 1940) até a confecção de lâminas histológicas semipermanentes. Fragmentos das brácteas foram mantidos em solução de água oxigenada e ácido acético (1:1, v/v) por 48 horas em estufa a 60°C, até dissociação da epiderme. Os fragmentos foram corados com safranina e azul de astra e montados em glicerina aquosa a 50% (Johansen, 1940).

As imagens foram obtidas usando uma câmera digital, sob microscópio óptico e as legendas inseridas nas imagens usando o programa Photoshop CS. As descrições anatômicas se basearam em Metcalfe & Chalk (1979) e a classificação dos estômatos seguiu Baranova (1987).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A epiderme das brácteas dos sete genótipos de Helicônia estudados mostrou estômatos sempre do tipo tetracítico (Fig. 8-35), caracterizados pela presença de quatro células subsidiárias, duas laterais mais alongadas, paralelas às células-guarda, e duas polares mais curtas, no sentido transversal. Estudos anteriores (Dahlgren et al., 1985; Andersson, 1998; Simão & Scatena, 2004) encontraram outros tipos de estômatos, como o policítico, com até quatro células laterais e quatro células polares.





Figuras 1-7. Aspecto das inflorescências dos genótipos de *Heliconia*. (1) - *H. psittacorum* L.f. cv. Strawberries & Cream, (2) - *H. psittacorum* L.f. cv. Suriname Sassy, (3) - *H. psittacorum* L.f. cv. Red Opal, (4) - *Heliconia* x *nickeriensis* Maas & deRooij (*H. psittacorum* x *H. marginata*), (5) - *Heliconia* x *rauliniana* Barreiros (*H. marginata* x *H. biha*), (6) - *H. latispatha* Bentham cv. Distans, (7) - *H. psittacorum* cv. Vicent Red. A identificação dos genótipos foi baseada em Berry & Kress (1991).

Os estômatos ocorrem nas duas faces da epiderme, sendo mais freqüentes na face abaxial. A maior ocorrência de estômatos na face abaxial das brácteas se justifica por ser esta face a que tem maior exposição à atmosfera, facilitando as trocas gasosas entre a planta e o meio ambiente. A face adaxial das brácteas se dispõe muito próxima à raquis da inflorescência, reduzindo, assim, o acesso às correntes de ar da atmosfera circundante, minimizando as trocas gasosas através destes estômatos.

A simetria das células-guarda, segundo Kress (1990) e Kress et al. (2001), como discutido por Simão & Scatena (2004), é um caráter preponderante em relação ao tipo estomático para os representantes da ordem Zingiberales, à qual pertence à família Heliconiaceae. A pouca diferenciação das células subsidiárias das demais células da epiderme dificultaria a definição do tipo estomático, segundo Stebbins & Khush (1961).

As células fundamentais da epiderme apresentaram formas variadas, desde isodiamétricas até alongadas no sentido longitudinal das brácteas (Fig. 8-35), de modo semelhante àquele encontrado por Simão & Scatena (2004). Em vista frontal, as paredes anticlinais se mostraram delgadas com graus variados de sinuosidade. Os genótipos *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy e *H. psittacorum* cv. Red Opal apresentaram células curtas, no sentido longitudinal das brácteas, com terminações retas nas paredes transversais (Fig. 12-19). Os demais mostraram células curtas com terminações arredondadas nas paredes transversais, com exceção da face adaxial de *H. psittacorum* cv. Vicent Red (Fig. 32 e 33), onde as células são mais alongadas com terminações retas.

A distribuição dos estômatos nas brácteas dos genótipos estudados foi diferenciada, inclusive entre as faces adaxial e abaxial da epiderme. Na face abaxial, eles foram mais freqüentes em *H. psittacorum* cv. Red Opal, *Heliconia* x *nickeriensis*, *H. latispatha* cv. Distans e *H. psittacorum* cv. Vicent Red. Em *H. psittacorum* cv. Strawberries & Cream, *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy e *H. rauliniana* os estômatos foram menos freqüentes nesta mesma face. Os genótipos que apresentaram maior freqüência estomática em suas

brácteas podem apresentar um grau de murchamento mais acelerado após o corte, em consequência de uma maior perda de água por evapotranspiração estomática.

## CONCLUSÃO

Estudos adicionais são necessários para investigar uma possível relação entre os caracteres anatômicos e o comportamento fisiológico associado à manutenção da turgidez das brácteas, indicando os genótipos mais resistentes à perda de água.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKI, A.; PEROSA, J.M. 2002. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental** 8(1/2): 13-23.

ANDERSSON, L. 1998. Heliconiaceae. In: K. Kubitzki (ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants. IV. Flowering Plants. Monocotyledons. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)**. Springer, Berlin. pp.226-230.

BARANOVA, M.A. 1987. Historical development of the present classification of morphological types of stomates. **The Botanical Review** 53(1): 53-79.

BERRY, F.; KRESS, W.J. 1991. **Heliconia: An Identification Guide**. Washington: Smithsonian Institution. 334p.

DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORD, H.T.; YEO, P.F. 1985. **The families of the monocotyledons**. Springer-Verlag, Berlin.

JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill.

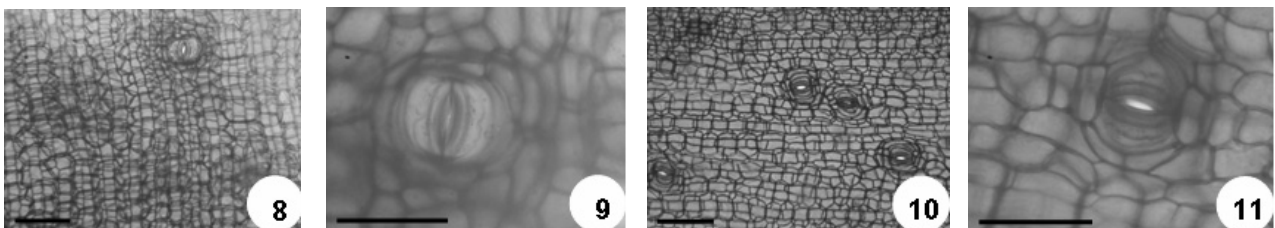
KRESS, W.J. 1990. The phylogeny and classification of the Zingiberales. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 77(4): 698-721.

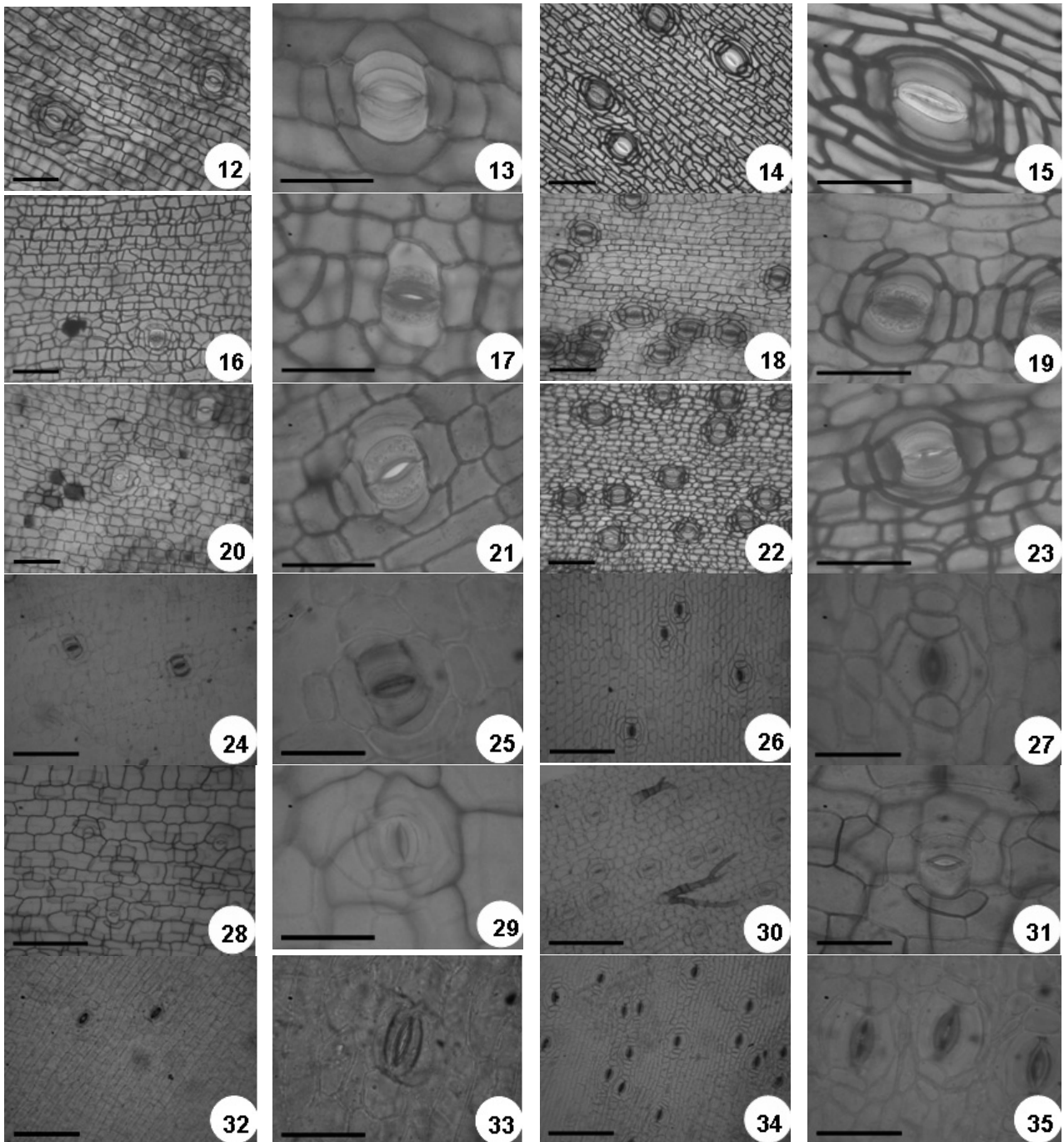
KRESS, W.J.; PRINCE, L.M.; HAHN, W.J.; ZIMMER, E.A. 2001. Unraveling the evolutionary radiation of the families of the Zingiberales using morphological and molecular evidence. **Systematic Biology** 50(6): 926-944.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. Second edition, Oxford. England: Clarendon Press.

STEBBINS, G.L.; KHUSH, G.S. 1961. Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. **American Journal of Botany** 48(1): 51-59.

PALAVRAS-CHAVES: Heliconiaceae; estômato; epiderme; bráctea.





Figuras 8-35. Vista frontal da epiderme das brácteas de genótipos de *Heliconia*. **8-11.** *H. psittacorum* cv. Strawberries & Cream, faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 8,10 = 100; 9,11 = 50 $\mu$ m). **12-15.** *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy, faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 12,14 = 100; 13,15 = 50 $\mu$ m). **16-19.** *H. psittacorum* cv. Red Opal, faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 16,18 = 100; 17,19 = 50 $\mu$ m). **20-23.** *Heliconia* x *nickeriensis* Maas & deRooij (*H. psittacorum* x *H. marginata*), faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 20,22 = 100; 21,23 = 50 $\mu$ m). **24-27.** *H. rauliniana*, faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 24,26 = 150; 25,27 = 55 $\mu$ m). **28-31.** *H. latispatha* cv. Distans, faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 28,30 = 200; 29 = 55 $\mu$ m; 31 = 50 $\mu$ m). **32-35.** *H. psittacorum* cv. Vicent Red, faces adaxial e abaxial, respectivamente (Barras: 32,34 = 100; 33,35 = 55 $\mu$ m).

## Fracionamento de carboidratos em hastes florais de helicônia após senescência.

Costa, Andreza Santos da<sup>1</sup>; Felix, Ana Maria de Souza<sup>2</sup>; Oliveira, Cynara Moura de<sup>3</sup>; Silva, André Barbosa<sup>4</sup>; Loges, Vivian<sup>5</sup>; Bezerra Neto, Egídio<sup>6</sup>; Willadino, Lília<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE-PE), Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900 Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6250, email: [andreza.costa@gmail.com](mailto:andreza.costa@gmail.com); <sup>2</sup> Graduanda em Biologia - UFRPE, PIBIC, email: [felix.ana@gmail.com](mailto:felix.ana@gmail.com); <sup>3</sup> Graduanda em Biologia - UFRPE, PIC, email: [cynara\\_moura@yahoo.com.br](mailto:cynara_moura@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Graduando em Agronomia - UFRPE, email: [andreufrpe@gmail.com](mailto:andreufrpe@gmail.com); <sup>5</sup> Professora Adjunta, Laboratório de Floricultura DEPA/UFRPE, email: [vloges@yahoo.com](mailto:vloges@yahoo.com); <sup>6</sup> Professor Adjunto DQ/UFRPE, email: [egidio@dq.ufrpe.br](mailto:egidio@dq.ufrpe.br); <sup>7</sup> Professora Adjunta DB/UFRPE, email: [lilia@pq.cnpq.br](mailto:lilia@pq.cnpq.br)

### INTRODUÇÃO

A durabilidade pós-colheita é um dos principais aspectos a serem observados na produção de flores para corte, sendo pré-requisito para a qualidade do produto e sucesso da comercialização (Castro, 2007). A durabilidade das flores depende da espécie ou cultivar, das condições de cultivo, do manejo após a colheita e da quantidade de carboidratos (Nowak & Rudnicki, 1990).

As flores de corte, ao serem separadas da planta, não recebem mais nutrientes e tornam-se dependentes inteiramente das suas reservas (Druege, 2001). Geralmente os carboidratos são utilizados para manutenção da respiração, além de atuarem como regulador osmótico dos tecidos (Carneiro et al., 2002) e, por isso, tendem a diminuir, após o início do processo de senescência (Eason et al., 1997). As flores de corte com maior concentração de carboidratos apresentam maior durabilidade pós-colheita (Nowak & Rudnicki, 1990).

Os carboidratos são transportados frequentemente como dissacarídeos, sendo a sacarose a forma na qual o transporte ocorre na maioria das plantas. Alguns polissacarídeos têm função de armazenamento, como o amido, e outros, função estrutural como a celulose (Raven et al., 2001). Durante a senescência, enzimas hidrolíticas decompõem muitos carboidratos os quais são transportados via floema (Taiz e Zeiger, 2004). Esse trabalho teve como objetivo determinar a concentração de carboidratos solúveis totais, sacarose e açúcares redutores em hastes florais de *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* Aristeguieta cv. Golden Torch após a senescência.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica Vegetal, Área de Química Agrícola do Departamento de Química da UFRPE. Foram colhidas hastes florais do híbrido natural *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch de touceiras com 3 anos idade na Fazenda Mumbecas (latitude 07°56'45" Sul e longitude 34°54'46" Oeste) em Paulista (PE).

As hastes florais foram colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento da inflorescência, que correspondem ao número de brácteas abertas, sendo estes: estágio A - brácteas fechadas; estágio B - uma ou duas brácteas abertas; e estágio C - três brácteas abertas. Cada tratamento teve oito repetições. Amostras de tecido fresco foram coletadas das hastes florais quando as mesmas apresentaram sintomas de senescência (cinco dias após a colheita), em três partes: inflorescência (I); parte superior do pedúnculo (PS), próximo à inflorescência; e parte inferior do pedúnculo (PI), na base da haste. Nas amostras de 5 cm do tecido do PI e PS, foram descartados 3 cm das extremidades inferior e superior. Foram determinadas as concentrações dos carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (S) e açúcares redutores (AR).

O extrato foi preparado com 0,5 g de tecido fresco e 20 mL de álcool etílico a 80%. As amostras foram trituradas em um homogeneizador de tecidos, filtradas em tela de náilon e o filtrado foi transferido para balão volumétrico onde completou-se o volume para 50 mL com água destilada, em seguida o extrato foi armazenado em congelador até o momento da análise. Os teores de CST foram determinados segundo o método de antrona (Bezerra Neto & Barreto, 2004) e a sacarose (S), segundo metodologia de Arruda Júnior et al., (2003). Os açúcares redutores (AR) foram estimados pela diferença entre os açúcares solúveis totais e sacarose. Os dados de CST e S foram submetidos à análise de variância e para as médias que apresentaram significância aplicou-se o teste de Tuckey a 5% de probabilidade utilizando o programa SAEG.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme se observa na Figura 1a, os teores de carboidratos solúveis totais (CST) não foram diferentes para inflorescência (I) nos estádios A, B e C (7,18; 7,33; 5,88 mg.g<sup>-1</sup>). Para pedúnculo inferior (PI), houve diferença entre os estádios B (17,60 mg.g<sup>-1</sup>) e C (9,80 mg.g<sup>-1</sup>). No pedúnculo superior, o teor de CST foi maior no estágio C (21,55 mg.g<sup>-1</sup>) do que nos estádios A (10,22 mg.g<sup>-1</sup>) e B (10,14 mg.g<sup>-1</sup>).

Todas as hastes florais da cv. Golden Torch apresentaram secamento nas extremidades das brácteas cinco dias após a colheita (Figura 2), o que caracteriza sintoma de senescência como definido por Castro (2007) em helicônia.

A concentração de sacarose (S) não foi diferente para o PI (4,46; 3,15; 4,46 mg.g<sup>-1</sup>) e I (5,05; 5,04; 4,61 mg.g<sup>-1</sup>) nos três estádios de desenvolvimento da haste floral. Considerando a variação das concentrações nos estádios, percebe-se que ocorreu um aumento no teor de sacarose do estágio B em PI (3,15 mg.g<sup>-1</sup>) e I (5,04 mg.g<sup>-1</sup>) (Figura 1b). A concentração de AR em hastes florais colhidas com três brácteas abertas foi inferior a 2,19 mg.g<sup>-1</sup>, enquanto hastes colhidas com as brácteas fechadas foi superior a 6,21 mg.g<sup>-1</sup> (Figura 1c). Provavelmente, esses resultados estejam relacionados com a mobilização de CST, que reflete na metabolização dos açúcares para pronto consumo, como observado em *Etilingera elatior* por Santos (2007). O percentual de redução na concentração de açúcares redutores (AR) do estágio A para o estágio C, em PI, I e PS, foi de 70,7%, 63,1% e 93,29%, respectivamente.

Durante a senescência das hastes florais há um consumo de energia para suprir a respiração (Carneiro et al., 2002). Neste processo, a utilização de carboidratos pela inflorescência excede sua capacidade de reserva acumulada até a colheita através da fotossíntese. Como o conteúdo de carboidratos nas flores é limitado, hastes florais em estádios de desenvolvimento que apresentem maior conteúdo de carboidratos, provavelmente terão maior durabilidade pós-colheita. Castro (2007) observou que a concentração de carboidratos na cv. Golden Torch teve relação direta com a durabilidade pós-colheita, o que define, entre outros fatores, a qualidade do produto final, estando este fato relacionado ao estado nutricional das plantas. Kays (1991) também afirma que a reserva de carbono contida na haste floral apresenta relação direta com a durabilidade pós-colheita.



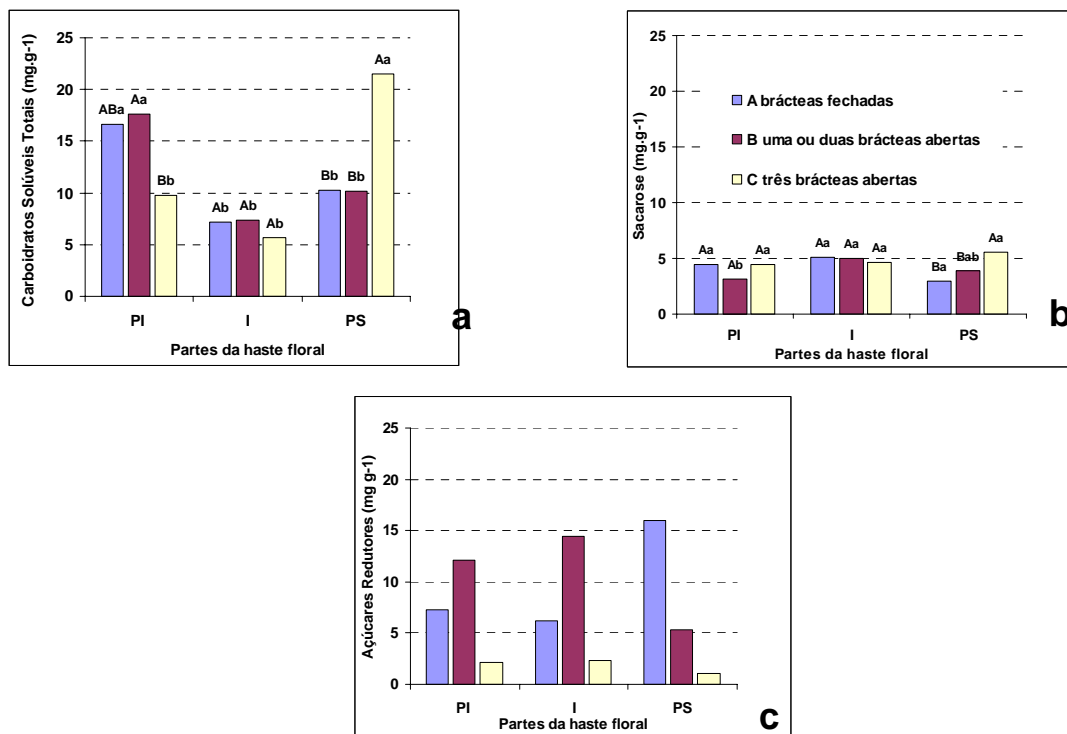


Figura 1. Concentração de carboidratos solúveis totais (a), sacarose (b) e açúcares redutores (c) em hastes florais *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch.

Nota: Barras com a mesma letra maiúscula, representa as partes da planta e com a mesma letra minúscula os estádios de desenvolvimento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%. A legenda na Figura 1b, deve ser considerada para as demais.

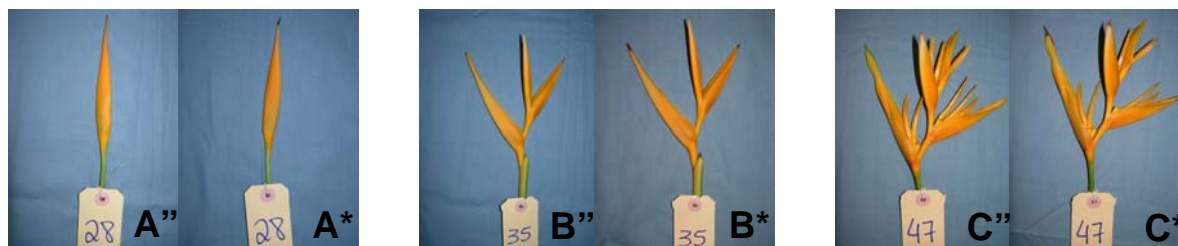


Figura 2. Inflorescências de *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch nos estádios A (brácteas fechadas), B (uma ou duas brácteas abertas) e C (três brácteas abertas, recém colhidas (")) e após cinco dias após a colheita (\*).

## CONCLUSÃO

Os teores das frações de carboidratos analisados em hastes florais de *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch após a senescência variaram com o número de brácteas abertas e a parte da haste analisada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA JÚNIOR, S.J. de; BEZERRA NETO, E.; ALBUQUERQUE, E.L. de; SILVA, A.B. Calibração de metodologia para análise de sacarose em tecido vegetal. In: **III Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE**. Recife, Imprensa Universitária. 2003.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Métodos de análises químicas em plantas**. Recife: UFRPE. 2004. 148p.

CARNEIRO, T.F.; FINGER, F.L.; SANTOS, V.R. NEVES, L.L.M.; BARBOSA, J.G. Influência da sacarose e do corte da base da haste na longevidade de inflorescências de *Zinnia elegans*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1065-1070, 2002.

CASTRO, A.R. Deficiência de macronutrientes em helicônia cultivar Golden Torch. 2007a. 98p. **Tese de doutorado** – Universidade Federal Rural Pernambuco, Recife.

DRUEGE, U. Postharvest responses of different ornamental products to preharvest nitrogen supply: role of carbohydrates photosynthesis and plant hormones. **Acta Horticulturae**, v.543, p.97-105, 2001.

EASON, J.R.; VRÉ, L.A. de; SOMERFIELD, S.D.; HEYES, J.A. Physiological changes associated with *Sandersonia aurantiaca* flower senescence in response to sugar. **Postharvest Biology and technology**, Amsterdam, v.12, n.1, p.43-50, 1997.

KAYS, S.J. **Postharvest Physiology of Perishable Plant Products**. New York, 1991. 531p.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. Postharvest handling and storage of cut flowers, Florist greens and potted plant. **Timber Press**, Portland, Ore. 1990.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. E.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 2001. 906p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. 2004. 719p.

**PALAVRAS-CHAVES:** pós-colheita; carboidratos solúveis totais; sacarose; açúcares redutores.

## Parâmetros biométricos e morfológicos de sementes de *Tamarindus indica* L.

Sousa, Danielle Marie Macedo<sup>1</sup>; Dornelas, Carina Seixas Maia<sup>2</sup>; Dornelas, Genaro Viana<sup>3</sup>; Bruno, Riselane de Lucena Alcântara<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFPB), Campus II, Areia-PB, e-mail: [daniellemariem@yahoo.com.br](mailto:daniellemariem@yahoo.com.br) ; <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFPB), Campus II, Areia-PB, e-mail: [cacasmd@yahoo.com.br](mailto:cacasmd@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professor do Depto. de Fitotecnia (UFPB) Campus II, Areia-PB, email: [genarodornela@hotmail.com](mailto:genarodornela@hotmail.com); <sup>3</sup> Professora Dra. do Depto. de Fitotecnia (UFPB) Campus II, Areia-PB, email: [lane@cca.ufpb.br](mailto:lane@cca.ufpb.br).

### INTRODUÇÃO

O tamarindo pertence à família Leguminosae, originário da África tropical, de onde se dispersou por todas as regiões tropicais. É uma árvore frutífera decorativa, podendo chegar aos 25 m de altura.

O conhecimento da morfologia das sementes é necessário para a identificação e certificação do material empregado nas análises de sementes (Oliveira e Pereira, 1984). Beltrati (1994) comenta que esses conhecimentos podem servir para melhorar a conservação da flora, contribuir nos estudos de sucessão ecológica e regeneração dos ecossistemas florestais.

A identificação das espécies pode ser feita por meio da sistemática, da anatomia e da dendrologia. As características morfológicas das plantas também podem ser utilizadas na identificação.

Na natureza, diversos fatores contribuem para a variabilidade da forma e tamanho de frutos e sementes. Vários autores ressaltam a importância dos caracteres estruturais externos e internos dos diásporos vegetais, uma vez que o tamanho dessas estruturas é indispensável para que se possa conhecer melhor determinada espécie (Raven et al., 1996).

Uma das maiores dificuldades encontradas pelos estudiosos de plantas silvestres é a carência de informações relacionadas à identificação das espécies, visto que a aquisição de material botânico para estudos, muitas vezes se torna difícil. Por outro lado, há preocupação da comunidade científica quanto aos estudos morfológicos e de propagação, no intuito de preservar a flora, principalmente, as espécies que se encontram em via de extinção.

Tendo em vista a importância econômica, paisagística e ecológica desta espécie foi efetuado um estudo biométrico e morfológico da semente de *Tamarindus indica* L., visando fornecer subsídios para observações posteriores de germinação das sementes e morfologia de plântulas que contribuirão para estudos taxonômicos, ecológicos e de análise de sementes.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### A. Coleta dos frutos

Os frutos de tamarindo foram coletados em árvores selecionadas de um pomar localizado na Escola Agrotécnica Federal de Sousa - EAFS, em São Gonçalo, no município de Sousa-PB, na zona fisiográfica do sertão paraibano. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes, do Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia-PB.

#### B. Obtenção das sementes

Os frutos foram tomados ao acaso, dos quais foram retiradas as sementes manualmente e submetidas às análises biométricas.



### C. *Biometria de frutos e sementes*

O comprimento, a largura e a espessura das sementes (mm) foram determinados através de medições diretas com auxílio de um paquímetro, utilizando uma amostra de 100 sementes. O número de sementes por fruto foi obtido mediante a contagem manual, e o peso através da pesagem em balança analítica, sendo os valores expressos em grama.

### D. Aspectos morfológicos da semente

A descrição da morfologia externa e interna das sementes foi feita com auxílio de lupa de mesa e microscópio estereoscópico binocular modelo Wild MZ8. Para o estudo da semente, as características morfológicas externas observadas e descritas foram: cor, textura e consistência dos tegumentos, forma e bordo das sementes, posição do hilo e da micrópila, rafe e outras estruturas presentes. As características internas foram: embrião (cotilédones, eixo hipocótilo-radícula, plúmula) e presença de endosperma. Para facilitar o estudo da morfologia interna, as sementes foram hidratadas.

A terminologia empregada está de acordo com os trabalhos de Damião Filho (1993), Vidal & Vidal (1995), Amorim (1997) e Barroso *et al.* (1999).

### D. *Delineamento estatístico*

Analisaram-se os dados biométricos por meio de estatística descritiva básica (*software* SISVAR), empregando-se amostra de 100 frutos e sementes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes a comprimento, largura e espessura das sementes, apresentaram grandes variações em suas dimensões. Com relação ao comprimento, largura e espessura foram observados os seguintes valores, 10,3 a 16,6 mm, de 5,1 a 13,8 mm e 8,6 a 10,3 mm, respectivamente, como pode ser visto na Figura 1 (A, B e C). Em sementes de curupixá, (*Micropholis* cf. *venulosa* Mart. & Eichler), Cruz e Carvalho (2003) encontraram também variações em suas dimensões, com comprimento, largura e espessura que iam de 15,5 a 41,4 mm; 8,0 a 18,7 mm e 4,7 a 12,6 mm, respectivamente.

Quanto ao peso das sementes, os valores observados foram 0,17 a 1,07g, (Fig. 1D), dentre as quais se podem separar em leves (0,17 a 0,35g), médias (0,35 a 0,89) e pesadas (0,89 a 1,07g). Ocorrendo, portanto, diferenças entre as mesmas, ou seja, uma maior porcentagem de sementes médias (51%) e menor nas sementes pesadas (4%).

Em relação à morfologia, as sementes são irregulares, mais ou menos retangulares, rugosas, de coloração marrom escuro brilhante, medindo cerca de 15 mm de comprimento e 12 mm de largura, apresentando em uma das faces, um pleurograma contínuo e piriforme, e na outra face, um pleurograma contínuo, tomando quase toda a sua extensão, ambos apresentando estrias retilíneas (Figura 2). O seu hilo é punctiforme, cercado por pequena quantidade de arilo. A testa é coriácea, contendo internamente tecido mucilaginoso (entre a testa e o tegma), o tegma possui textura corticosa. Quanto a sua morfologia interna, o embrião é axial, invaginado, criptoradicular, adpresso com cotilédones crassos, faces mais ou menos convexas, de coloração amarelo-claro (bege), o eixo hipocótilo-radícula é asciforme de plúmula contendo rudimentos bifoliolados, e a radícula é inconspícua com extremidade pontiaguda.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que as sementes de *Tamarindus indica* apresentam parâmetros biométricos irregulares. Quanto a sua

morfologia, a semente é irregular, mais ou menos retangular, possuindo em ambas as faces um pleurograma, com tegma corticoso e hilo punctiforme facilmente distinguíveis; O embrião é axilar, contínuo e criptoradicular.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, I.L. 1997. Morfologia do fruto e da semente, e germinação da semente de *Trema micrantha* (L.) Blum. **Cerne**, 4:129-142.

BARROSO, M. B.; MARIM, M. P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes**. Morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: UFV, 1999, 443p.

BELTRATI, C. M. Morfologia e anatomia das sementes de *Trichilia elegans* A. Juss (Meliaceae). **Naturalia**, São Paulo, v.9, p. 35-42, 1984.

CRUZ, E.D.; CARVALHO, J.E.U. Biometria de frutos e sementes e germinação de Curupixá (*Micropholis* cf. *venulosa* MART. & EICHLER – Sapotaceae). **Acta Amazônica**, 33(3): 389-398, 2003.

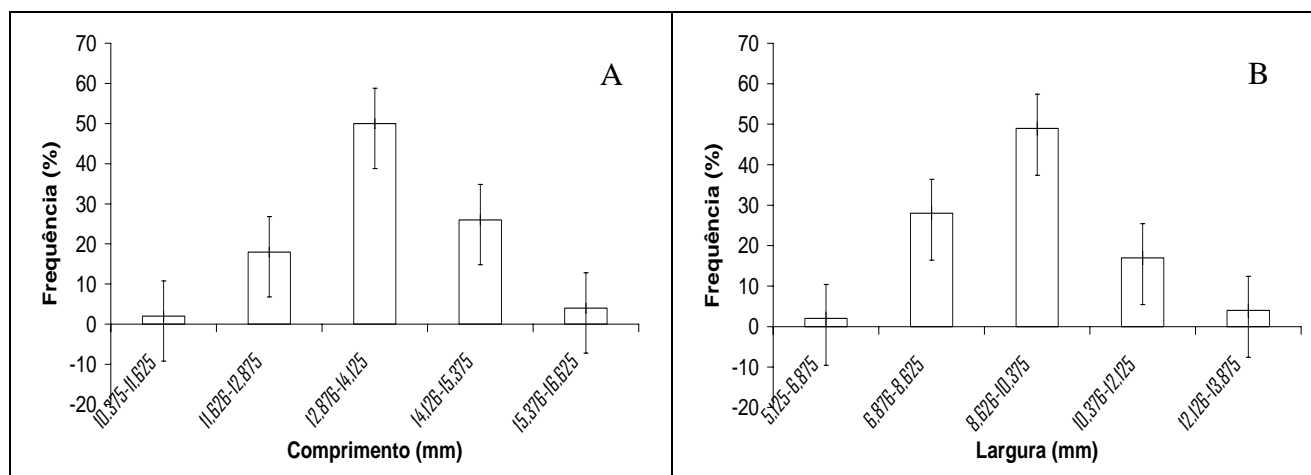
DAMIÃO FILHO, C.F. 1993. **Morfologia vegetal**. FUNEP/ UNESP, Jaboticabal.

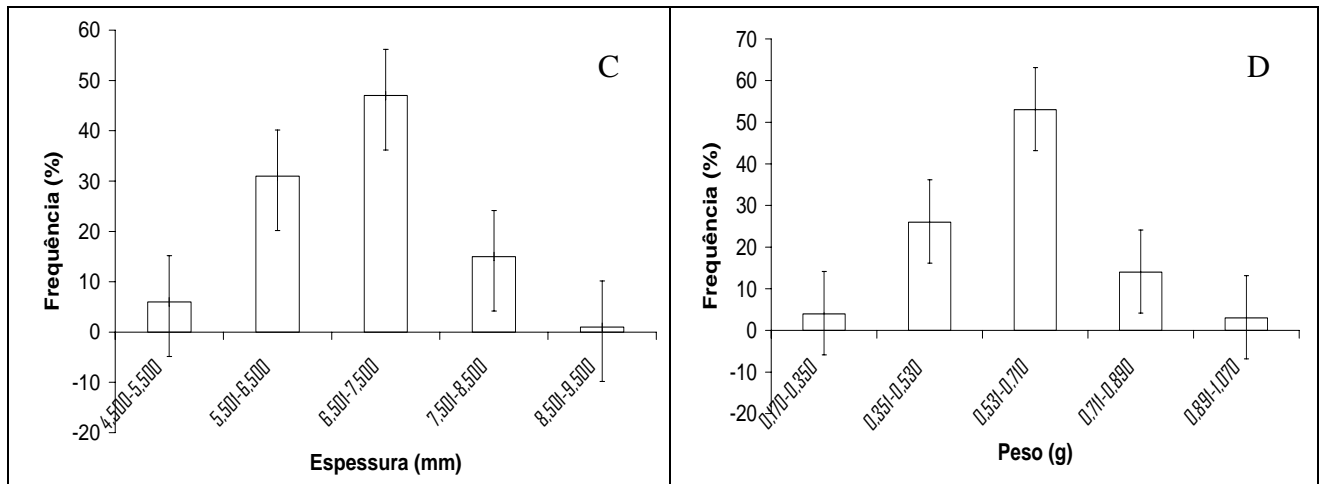
OLIVEIRA, E. C.; PEREIRA, T.S. Morfologia dos frutos alados em Leguminosae-Caesalpinioideae-*Martiodendron* Gleason, *Peltophorum* (Vogel) Walpers, *Sclerolobium* Vogel, *Tachigalia aublet* e *Schizolobium* Vogel. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v.36, n. 60, p. 35-42, 1984.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S/A, 2001. 928p.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica organografia**. 3. ed. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 1995. 114p.

Palavras-chaves: *Tamarindus indica* L., morfologia, biometria.





**Figura 1.** Biometria de sementes de tamarindo (A - Comprimento; B - Largura; C - Espessura; D - Peso de sementes).



**Figura 2.** Morfologia externa de sementes de tamarindo.

## Efeito da integridade do cotilédone sobre o potencial regenerativo de diferentes variedades de *Vigna unguiculata* (L.) Walp).

Silva, Karime Soares da<sup>1</sup>; Dias, André Luís de França<sup>2</sup>; Rivas, Rebeca<sup>2</sup>; Montarroyos, Pedro Augusto Veras<sup>1</sup>; Maia, M. M. D.<sup>1</sup> Costa, Antonio Félix da<sup>3</sup>; Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE telefone: (81)33206003 e-mails: karyagronomia@hotmail.com; [pedro\\_montarroyos@hotmail.com](mailto:pedro_montarroyos@hotmail.com); mascena2000@yahoo.com.br <sup>2</sup> Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50100-010, fone (81) 3416-4000, e-mails: andreluisfd@hotmail.com; rebecarivas@gmail.com; <sup>3</sup> Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Lab. de Genoma e de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Gal. San Martin 1371, Bonji, Recife/PE. Telefone (81)21227372 e-mails: [felix@ipa.br](mailto:felix@ipa.br), [laureenkido@ipa.br](mailto:laureenkido@ipa.br);

### INTRODUÇÃO

O caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) é uma leguminosa com altos níveis de proteína. Sendo assim, o caupi é considerado um alimento importante para base da alimentação das populações das regiões Norte e Nordeste do Brasil (BERGMAN *et al*, 1996). Conhecido como feijão de corda, feijão macassar e feijão miúdo dentre outros, o Caupi é cultivado em cerca de 12,5 milhões de hectares mundialmente (FAO). Apesar de sua importância é uma cultura que apresenta baixa produtividade necessitando, portanto do desenvolvimento de novas cultivares adaptadas às diferentes regiões. Entre as várias estratégias utilizadas para o desenvolvimento de novas cultivares, a cultura de tecidos tem se destacado como uma alternativa de impacto. No entanto para a adoção de uma das técnicas de melhoramento não convencional (indução de mutação ou transgenia) é necessário que se estabeleçam as condições adequadas à regeneração *in vitro*. Este trabalho foi elaborado para se avaliar o efeito da integridade do cotilédone de *Vigna unguiculata* sobre o potencial de regeneração *in vitro*.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA). As cultivares utilizadas nesse experimento foram IPA 206, TE 96 290 12G, TE 96 290 6G, TE 97 304 G12 e TE 97 304 G4. As sementes foram inicialmente desinfestadas em álcool 70% (3 minutos), posteriormente foram colocadas em hipoclorito a 5% (10 minutos) e, finalmente, lavadas duas vezes (5 minutos) em água destilada e autoclavada. A seguir, as sementes foram incubadas em solução de antibiótico (cefalexina 500mg/100ml) por 24h. Em condições assépticas, foram colocadas em placas de Petri contendo papel de filtro estéril e umedecido com água destilada e autoclavada. Cada placa continha cinco sementes, num total de dez sementes por cultivar. As placas de Petri foram envolvidas com papel filme e mantidas em sala de crescimento com temperatura constante de 27 °C e fotoperíodo de 16 horas luz. Após a germinação das sementes, foram retirados os tegumentos e separados os eixos embrionários dos cotilédones em câmara de fluxo laminar e retirada a extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. As extremidades e os cotilédones foram colocados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com Tiamina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Piridoxina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Ac. Nicotínico 0,5 mg L<sup>-1</sup>, BAP; 2mg L<sup>-1</sup>, sacarose 30g L<sup>-1</sup> e Agar 9g L<sup>-1</sup>. O pH foi ajustado para 5,9 antes da autoclavagem a 121°C e uma atm, por 20 minutos. Em condições assépticas, foram inoculados quatro cotilédones, voltados com a parte interna para o meio de cultura, e quatro extremidades dos cotilédones em frascos com capacidade para 250 ml, contendo 30 ml de meio. Após a inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento, mantidos a uma temperatura de 27°C e fotoperíodo de 16 horas / luz. Foram utilizados 12 cotilédones e 12 extremidades de cotilédones por tratamento, tendo o experimento sido avaliado semanalmente. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apenas cotilédones íntegros, que não foram cortados no pólo de ligação com o embrião, apresentaram capacidade regenerativa. Esses cotilédones apresentaram alteração da coloração, assumindo um tom esverdeado antes de iniciar o processo regenerativo. No entanto, os cotilédones que foram cortados apresentaram um gradual necrosamento dos tecidos. Nenhum dos explantes cortados (cotilédone ou parte do cotilédone) apresentou potencial regenerativo (figuras 1, 2, 3 e 4).



Figura 1: Aspecto da variedade IPA 206 após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 2: Aspecto da variedade TE 96 290 12G após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 3: Aspecto da variedade TE 96 290 6G após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 4: Aspecto da variedade TE 97 304 G4 após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 5: Aspecto da variedade TE 97 304 G12 após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário, Embora não estivesse necrosado, não houve regeneração de tecidos. Em 30 dias a partir da inoculação todos os cotilédones da cv TE 97 304 G12 estavam necrosados.

Estes resultados indicam que a integridade do cotilédone de *Vigna unguiculata* é fundamental para a manutenção do potencial organogênico *in vitro*. O potencial regenerativo de segmentos do cotilédones (nódulos cotiledonares) já foi descrito na literatura em *Glycine max* (Wright *et al*, 1986). No entanto, a importância da integridade do explante sobre o potencial regenerativo já foi descrita em *Phaseolus* e em *Arachis hypogaea* (Malik e Saxena, 1992; Saxena *et al*, 1992).

#### CONCLUSÃO

A integridade do cotilédone interfere no potencial regenerativo de *Vigna unguiculata*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALUÍZIO, B. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: ed. UFV. 2005. 969p.
- ARAÚJO, J.P.P. **O caupi no Brasil**. 1 ed. Brasília – DF: IITA/EMBRAPA.1988. 722p.
- BERGMAN, C.J., GUALBERTO, D.G., WEBER, C.W. **Nutritional evaluation of a high temperature dried soft wheat pasta supplemented with cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Guatemala, v.46, n.2, p.146-153, 1996.
- FAO disponível em: [www.fao.org.br/publicacoes.asp](http://www.fao.org.br/publicacoes.asp) acesso em 19 de maio de 2007.
- MALIK, K.A.; SAXENA P. K. Regeneration in *Phaseolus vulgaris* L.: High-frequency induction of direct shoot formation in intact seedlings by N<sup>6</sup>-benzylaminopurine and thidiazuron. **Planta** v.183, n.6, p. 384-389,1992.
- MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.
- SAXENA, P. K.; MALIK K. A.; GILL, R. Induction by thidiazuron of somatic embryogenesis in intact seedlings of peanut **Planta** v.187, n.3, p. 421-424,1992.
- TORRES, A. C. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. 1 ed. Volume 1 Brasília: EMBRAPA-SPI 1998. 509p

WRIGHT, M. S.; KOEHLER, S.M.; HINCHEE, M. A.; CARNES M.G. Plant regeneration by organogenesis in *Glycine max*. **Plant Cell Reports**, v.5, p.150-154, 1986.

ZIMMERMANN, M.J. **Cultura do feijoeiro fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação brasileira para pesquisa do potássio e do fosfato. 1988. 589p.

**PALAVRAS-CHAVE**

Feijão-caupi, organogênese, potencial regenerativo *in vitro*.

[www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2001000300016&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2001000300016&lng=pt&nrm=iso)

<sup>i</sup>

---

<sup>i</sup> Agradecimentos: UFRPE, IPA.



## **Influência do fotoperíodo na altura média de plantas de celósia (*Celosia argentea*), no período de verão, no Submédio São Francisco.**

Souza, Joselita Cardoso<sup>1</sup>; Menezes, Anna Cristina Passos<sup>2</sup>; da Paz, Cristiane Domingos<sup>3</sup>; Silva, Kilma Kely Almeida<sup>4</sup>; Santos, Márcia A. Carvalho<sup>5</sup>; Monte Santo, José Silva<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Professor Adjunto da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS, CEP 48 900 – 000, Juazeiro – BA, fone (74) 3611 7363, e-mail: [jocsouza@uneb.br](mailto:jocsouza@uneb.br); <sup>2</sup>Professor Assistente da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS, e-mail: [amenezes@uneb.br](mailto:amenezes@uneb.br); <sup>3</sup>Professor Adjunto da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS, e-mail: [cpaz@uneb.br](mailto:cpaz@uneb.br); <sup>4,5,6</sup> Alunos de graduação do curso de Agronomia da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS.

A celósia pertence à família Amarantaceae, desenvolve-se em temperaturas elevadas e o seu desenvolvimento vegetativo é influenciado pelo fotoperíodo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do fotoperíodo na altura média das plantas de *Celosia argentea*, durante o verão, no Submédio São Francisco. O experimento foi realizado no Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) em Juazeiro – BA, durante os meses de outubro a fevereiro de 2006. Foram realizados dois tratamentos: fotoperíodo normal do verão e fotoperíodo de 16 horas. O prolongamento do fotoperíodo ocorreu com a colocação de lâmpadas incandescentes de 100 W distanciadas 1,50 m, das 17h30min às 21h30min, a partir da semeadura. As sementes foram colocadas para germinar em bandejas de isopor e mantidas em casa de vegetação com 50% de sombreamento. No local definitivo adotou-se o espaçamento de 12 cm entre plantas e 30 cm entre fileiras e sistema de irrigação por microaspersão. A adubação foi realizada com base na análise do solo. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições e 15 plantas por parcela. As alturas médias das plantas nos dois fotoperíodo diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. No fotoperíodo de 16 horas, as plantas atingiram maior tamanho médio (80,00 cm) enquanto no fotoperíodo normal a altura média das plantas (27,50 cm) ficou aquém do recomendado para explorações comerciais.

Palavras – chaves

Celósia; fotoperíodo; altura de planta.



## Plantas ornamentais da Amazônia: região do Rio Uatumã, Presidente Figueiredo, AM.

Faria, Aparecida Donisete de<sup>1</sup>; Ribeiro, José Eduardo Lahoz da Silva<sup>1</sup>, Bittrich, Volker<sup>2</sup>, Sakagawa, Sergio<sup>1</sup>; Carvalho-Sobrinho, Jefferson G. de<sup>1</sup>; Zartman, Charles Eugene<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA/CPBO), Av. André Araújo 2936, 69011-970, Manaus, AM, fone (92) 3643 3117), e-mail: [cidadefaria@uol.com.br](mailto:cidadefaria@uol.com.br); <sup>2</sup>Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP/IB/BT), Cidade Universitária s/n, Barão Geraldo, Campinas, SP, fone (19) 3521 6162, e-mail: [volker@unicamp.br](mailto:volker@unicamp.br).

A produção de plantas ornamentais é uma das atividades que mais crescem no país e mundo nos últimos anos. Sua expansão depende, diretamente, da introdução de novidades no setor, o que requer pesquisas com plantas que apresentem determinadas características, e têm encontrado grande interesse entre cientistas, produtores e o público em geral. Essas pesquisas são dinâmicas e envolvem a localização e o levantamento de espécies ornamentais, sua identificação taxonômica, a formação e manutenção de coleção de plantas em cultivo, além de estudos de reprodução, manejo, crescimento e floração, testes de produção industrial e, por fim, análises de aceitação do produto pelo mercado. Estas novidades podem ser obtidas diretamente de jardins botânicos, institutos de pesquisas, coleções particulares, produtores, ou através de cruzamentos de espécies já conhecidas com plantas selecionadas destes locais, o que ocorre com mais frequência ou, ainda, a partir de levantamentos de áreas pouco ou totalmente inexploradas, o que não é incomum em florestas tropicais, como a Amazônica. O presente trabalho é resultante de um levantamento de flora realizado em Presidente Figueiredo, AM. As plantas ocorrentes nessa região são amostradas por uma equipe de pesquisadores botânicos e auxiliares; em seguida, as amostras são herborizadas, agrupadas por famílias e encaminhadas aos respectivos especialistas para identificação em nível de espécie. Dentre as espécies levantadas para o conhecimento da flora da região, as que apresentam potencial ornamental são selecionadas, e registradas para estudos posteriores. As espécies ornamentais são classificadas quanto às suas potencialidades (vaso, corte, forração ou paisagismo), e são realizados registros fotográficos dos detalhes de sua morfologia e habitat. Até o presente, foram selecionadas e já catalogadas espécies de Heliconiaceae (*Heliconia*, 6 spp.), Orchidaceae (*Acacalis*, 1 sp.; *Catasetum*, 1 sp.; *Scuticaria*, 1 sp.; *Zygopetalum*, 1 sp.), Acanthaceae (*Aphelandra*, 1 sp.; *Mendoncia*, 1 sp.), Bromeliaceae (*Aechmea*, 5 spp.; *Guzmania*, 2 spp.; *Tillandsia*, 1 sp.; *Vriesea*, 1 sp.), Rubiaceae (*Palicourea*, 3 spp.; *Psychotria*, 2 spp.; *Uncaria*, 1 sp.; *Warszewiczia*, 1 sp.), Combretaceae (*Combretum*, 1 sp.), Gesneriaceae (*Codonanthe*, 1 sp.; *Drymonia*, 1 sp.), Marantaceae (*Calathea*, 2 spp.; *Ischnosiphon*, 3 spp.; *Monotagma*, 1 sp.), Melastomataceae (*Blakea*, 1 sp.; *Miconia*, 1 sp.; *Tibouchina*, 2 spp.), Loranthaceae (*Psittacanthus*, 1 sp.), Lamiaceae (*Aegiphila*, 2 spp.; *Vitex*, 1 sp.), Verbenaceae (*Stachytarpheta*, 1 sp.), Costaceae (*Costus*, 3 spp.), Araceae (*Anthurium*, 4 spp.; *Heteropsis*, 1 sp.; *Monstera*, 2 spp.; *Montrichardia*, 1 sp.; *Philodendron*, 6 spp.; *Urospatha*, 1 sp.), Arecaceae (*Bactris*, 2 spp.; *Geonoma*, 2 spp.; *Hyospathe*, 1 sp.; *Iriartella*, 1 sp.), Passifloraceae (*Dilkea*, 1 sp.; *Passiflora*, 6 spp.), Bignoniaceae (*Adenocalymma*, 3 spp.; *Anemopaegma*, 2 spp.; *Arrabidaea*, 1 sp.; *Distictella*, 2 spp.; *Lundia*, 1 sp.; *Memora*, 1 sp.), Clusiaceae (*Clusia*, 3 spp.; *Clusiella*, 1 sp.; *Moronobea*, 1 sp.), Moraceae (*Ficus*, 10 spp.), Bixaceae (*Cochlospermum*, 1 sp.), Chrysobalanaceae (*Hirtella*, 1 sp.), Apocynaceae (*Mandevilla*, 1 sp.; *Odontadenia*, 1 sp.), totalizando 106 espécies. O principal objetivo do presente trabalho é de que as espécies indicadas venham a ser alvo de pesquisas de propagação, cultivo e/ ou melhoramento, e que possam ser, num futuro próximo, introduzidas na indústria de produção de plantas ornamentais. MCT/CNPq/PPG7 Fase II.

### PALAVRAS-CHAVES

Plantas ornamentais nativas; Amazônia, levantamento de flora.

## Árvores Nativas e Exóticas Usadas como Ornamentais no Campus do Pici.

<sup>1</sup> Marques, Virna Braga; <sup>2</sup> Nunes, Edson Paula; <sup>3</sup> Fernandes, Afrânio; <sup>4</sup> Reis, Simone Novaes.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais. Telefone: (35) 3829-1122 - Fax: (35) 3829-1100, email: [virnabm@hotmail.com](mailto:virnabm@hotmail.com); <sup>2</sup> Professor da Universidade Federal do Ceará (UFC-CE), Campus do Pici, Bloco 906, Caixa Postal CEP 60455-760, fone: (85) 3366 9810 - Fax: (85) 3366 9806, email: [enunes@ufc.br](mailto:enunes@ufc.br); <sup>3</sup> Professor Emérito da Universidade Federal do Ceará (UFC-CE), Campus do Pici, Bloco 906, Caixa Postal CEP 60455-760, fone: (85) 3366 9810 - Fax: (85) 3366 9806, email: [afraniofernades@yahoo.com.br](mailto:afraniofernades@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais. Telefone: (35) 3829-1122 - Fax: (35) 3829-1100, email: [sinore@bol.com.br](mailto:sinore@bol.com.br)

Este estudo objetivou fazer o registro das espécies arbóreas do Campus do Pici – Universidade Federal do Ceará, em solos de Tabuleiro Costeiro, que estão sendo usadas como ornamentais. Assim como identificar quais são as nativas e quais são as exóticas, presentes nas áreas “urbanizadas” do Campus, e especificar destas, quais estão na lista oficial das espécies da flora brasileira em risco extinção, da Base de Dados Tropical. Para tal trabalho, o Campus foi dividido em seis áreas. As coletas foram realizadas no período compreendido entre março e junho de 2005. As amostras sofreram processo de herborização, e se encontram devidamente identificadas no Herbário Prisco Bezerra – EAC. Foram coletados mais de 90 espécimes de material arbóreo, identificadas 68 espécies, sendo 24 nativas e 44 exóticas. Os táxons mais representativos foram: Leguminosae com 23 espécies (Caesalpiniaceae-Caesalpinioideae: 9, Mimosaceae-Mimosoidae: 8, Fabaceae-Papilionoidae: 6); Anacardiaceae: 5 espécies; Bignoniaceae: 4 espécies; Myrtaceae: 4 espécies. As espécies de maior frequência em todas as áreas são o Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), e a mangueira (*Mangifera indica* L.). Foram encontradas: *Anacardium occidentale* L., *Cordia* sp., *Bauhinia unguolata* L., *Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul., *Cecropia palmata* Willd., *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morang., *Genipa americana* L., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Trema micrantha* Blume., tanto na área de Mata de Tabuleiro Semiperenifolia como na parte urbanizada. Quatro das espécies nativas coletadas estão sob ameaça de extinção: *Astronium fraxinifolium* Schott., *Caesalpinia echinata* Lam., *Genipa americana* L. e *Joannesia princeps* Vell.. Entre as exóticas, são consideradas invasoras no Brasil: *Casuarina equisetifolia* L. e *Tecoma stans* (L.) Juss ex. Kunth. A urbanização no Campus causou sérias modificações ao ambiente, e as plantas exóticas já superaram as nativas em quantidade de espécies presentes.

### PALAVRAS-CHAVES

Espécies nativas; exóticas; ornamentais.

## **Análise da produção de calos em *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden em diferentes concentrações de reguladores de crescimento.**

Deus, Desiane Amaral de<sup>1</sup>; Abreu, Heber dos Santos<sup>2</sup>; Porto, Bruno Henrique Crespo<sup>3</sup>; Duarte, Mariana Silva<sup>1</sup>; Souza, Kelly Carla Almeida de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia Florestal (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [deiseflora@bol.com.br](mailto:deiseflora@bol.com.br); <sup>2</sup>Professor do Instituto de Florestas (UFRRJ/IF), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [abreu@ufrj.br](mailto:abreu@ufrj.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [porto@ufrj.br](mailto:porto@ufrj.br); <sup>4</sup>Mestre em Ciências Florestais e Ambientais (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [betyka@ufrj.br](mailto:betyka@ufrj.br).

### INTRODUÇÃO

*Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden tem sido implantado intensivamente em programas de melhoramento genético, principalmente seu híbrido, *Eucalyptus urograndis*. Por apresentar boa capacidade de regeneração e um rápido crescimento essa espécie se tornou de grande interesse para o estudo de técnicas que visam cultura de tecido e formação de calos.

Depois de formado, o calo pode dar origem a diferentes órgãos, dependendo do interesse da pesquisa, sendo que essa formação é induzida por diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Segundo Sinnott (1960) o estímulo que induz a formação do calo ocorre pela ação endógena do balanço de auxina e citocinina. O tipo e a concentração destes reguladores de crescimento influenciam na multiplicação *in vitro*, onde freqüentemente a melhor faixa situa-se entre 0,5 e 5,0mg/L para ambos reguladores de crescimento (Morales, 1999).

O TDZ, excelente estimulante para formação de calos em concentrações iguais ou maiores do que 1,0mg/L (Huetteman & Preece, 1993), também tem sido utilizado na micropropagação. Esse trabalho teve como objetivo analisar qualitativa e quantitativamente o crescimento e o desenvolvimento de calos de *E. grandis*, em diferentes concentrações dos reguladores de crescimento 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacético) + ANA (ácido naftalenoacético) e TDZ ([1-fenil-3-(1, 2,3-tiadiazol-5-il) uréia] + ANA, visando maior eficiência na produção de calos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Madeira, do Instituto de Florestas, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (IF/UFRRJ).

Sementes de *E. grandis*, após a assepsia com hipoclorito de sódio, tween 20 e peróxido de hidrogênio, foram inoculadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) para germinação. Decorridos 21 dias, em câmara de fluxo laminar, as plântulas que se apresentaram mais vigorosas tiveram seus ápices caulinares retirados e inoculados em meio de cultura MS acrescido de reguladores de crescimento, em diferentes concentrações. Cada tratamento foi acondicionado em recipientes de vidro, com 30 mL de meio de cultura e cinco explantes por recipiente, Após a inoculação foram mantidos no escuro, em câmara de crescimento, a 25±2°C. Cinco repetições foram realizadas para cada tratamento. Após o período de duas semanas os calos foram subculturados, em meio de cultura renovado, permanecendo em escuro. Para a avaliação dos tipos e concentrações de reguladores na calogênese foram utilizadas as combinações: 2,4-D + ANA, respectivamente, em mg/L: T1 (1,0+0,1); T2 (0,5+ 0); T3 (0,5+ 0,1); T4 (0,5+0,5); e das combinações de TDZ + ANA, respectivamente, em mg/L: T5 (0,5+0,1); T6 (1,0+ 0,1); T7 (0,5+ 0,5); e T8 (0,5+0).

Decorrido 60 dias foram realizadas as avaliações quantitativas utilizando-se os testes "H" de Kruskal-Wallis, para o número de calos em cada tratamento, e o teste "U" de Mann-Whitney, para os tamanhos dos calos nos tratamentos 1 e 5. A friabilidade foi avaliada por resistência mecânica à manipulação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das características dos calos de *Eucalyptus grandis* em diferentes tratamentos indicou que T5 apresentou o melhor resultado induzindo calos mais desenvolvidos, em maior quantidade e com aspecto mais friável. Além disso, pode-se observar que a auxina sintética ANA, mesmo na pequena quantidade (0,1mg/L), influenciou significativamente na calogênese, pois quando esta encontrava-se ausente (T2 e T8) não ocorreu formação de calos (Tabela 1)

**Tabela 1**-Análise das características apresentadas pelos calos de *E. grandis* nos diferentes tratamentos de indução de calos.

Características dos calos produzidos / Tratamentos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Mediana do tamanho dos calos (cm)	0,8*				1,8*			
Número de calos	18**	0	2	1	20**	1	1	0
Porcentagem de calos (%)	90	0	10	5	100	5	5	0
Friabilidade dos calos	+	-	+	+	++++ +	+	+	-

2,4-D + ANA, em mg/L: T1 (1,0+0,1); T2 (0,5+ 0); T3 (0,5+ 0,1); T4 (0,5+0,5); e das combinações de TDZ + ANA, em mg/L: T5 (0,5+0,1); T6 (1,0+ 0,1); T7 (0,5+ 0,5); e T8 (0,5+0). O tamanho dos calos está representado pelas medianas. Para friabilidade quanto maior o número de sinais (+) mais friável. T2 e T8 não formaram calos (-).

\*Diferem estatisticamente entre si: U= 0,00; p<0,001. Os outros tratamentos não apresentaram resultados significativos para avaliação de tamanho.

\*\*São iguais entre si; diferindo dos outros tratamentos:  $H_{(7,N=32)}=23,956$ ; p=0,001.

Os tratamentos com 2,4-D produziram a mesma quantidade de calos por explantes que o tratamento com TDZ. Porém, este foi responsável por originar calos mais friáveis e em maiores tamanhos. Embora T5 tenha sido o mais eficaz no que se refere à friabilidade e tamanho de calos, T1 apresentou resultado relevante para o número de calos produzidos, apesar destes não terem apresentado o mesmo aspecto friável observado em T5 (Figura 2).

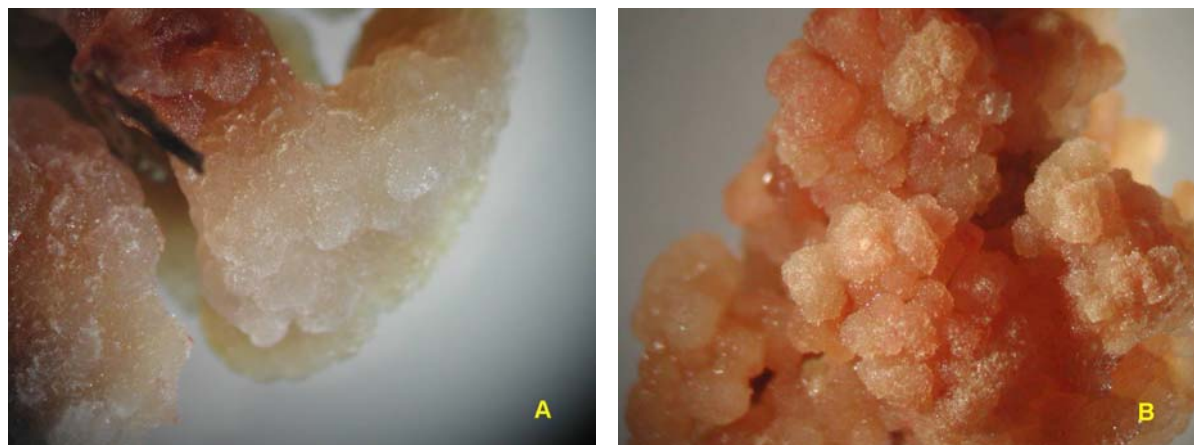


Figura 2. Calo de *E. grandis* formado em presença de 0,5mg/L de TDZ e 0,1mg/L de ANA (T5). A coloração mais clara caracteriza aspecto mais friável (A), e calo de *E. grandis* formado em presença de 1,0mg/L de 2,4-D e 0,1mg/L (T1) de ANA. A coloração mais escura caracteriza aspecto menos friável (B).

Acredita-se que a concentração de 0,1mg/L de ANA tenha sido a mais adequada para a formação de calos, uma vez que T5 e T1 resultaram num maior número de calos. Segundo Kaneda et al. (1997), o melhor desempenho do TDZ, aparentemente, pode estar relacionado à maior atividade citocinínica ou a forma de ação diferente de outras citocininas

durante o processo de desdiferenciação e rediferenciação celular, como também ao fato de o deste induzir ao acúmulo de auxinas e citocininas endógenas no tecido (Murthy, 1995).

Para Alves et al. (2004) os melhores resultados para calejamento foram constatados nos tratamentos com os reguladores de crescimento TDZ e ANA. A vantagem da utilização dos reguladores de crescimento TDZ e ANA foi também citada por Lu (1993), cujos estudos indicaram que o TDZ apresentou maior eficiência na presença de ANA.

## CONCLUSÃO

Os reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ se mostraram eficientes na produção de calos de *E. grandis*, no entanto apresentaram respostas diferentes quanto à friabilidade e tamanho. A concentração de 0,1 mg/L de ANA foi a concentração mais adequada para a formação de calos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.C.S.C.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Organogênese de explante foliar de clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.5, p.421-430, 2004.

HUETTEMAN, C.A.; PREECE, J.E. Thidiazuron: a potent cytokinin for wood plant tissue culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v.33, n.2, p.105-119, 1993.

KANEDA, Y. et. al. Combination of thidiazuron and basal media with low salt concentrations increases the frequency of shoot organogenesis in soybeans [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Plant Cell Reports**, v.17, p.8-12, 1997.

LU, C.Y. The use of thidiazuron in tissue culture. In *Vitro Cellular and Development Biology - Plant Cell Reports*, v.29, p.92-96, 1993.

MORALES, C.F.G. et. al. Efeito do BAP TDZ na calogênese e organogênese em internódios de macieira cv. Gala RW1. **Rev. Bras. de AGROCIÊNCIA**, v.5, n.3, 174-177, 1999.

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

MURTHY, B.N.S.; MURCH, S.J.; SAXENA, P.K. Thidiazuroninduced somatic embryogenesis in intact seedlings of peanut (*Arachishypogaea*): endogenous growth regulator levels and significance of cotyledons. **Physiologia Plantarum**, v.94, p.268-276, 1995.

SINNOTT, E.W. *Plant morphogenesis*. New York: **Mcgrawn Hill Book Company**.1960.

## PALAVRAS-CHAVES

*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden; explantes, calogênese, reguladores de crescimento.

## **Bromélias da Mata Atlântica do Parque Estadual Serra do Conduru no Sul da Bahia e potenciais espécies para cultivo.**

Reis, J.R.M.<sup>1</sup>; FONTOURA, T.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente da Universidade Estadual de Santa Cruz, Campus Soane Nazaré de Andrade km 16 Rodovia Ilhéus - Itabuna, Salobrinho CEP: 45662-000. Ilhéus - Bahia, telefone: 73 3680 5144 e-mail: joicermreis@gmail.com; <sup>2</sup>Professora do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, telefone: 73 3680 5105, e-mail: talita\_fontoura@uol.com.br.

O presente trabalho tem como objetivo listar o número de espécies ocorrentes na área do Parque Estadual Serra do Conduru (PESC) e indicar as espécies que possuem potencial para cultivo. A família Bromeliaceae distribui-se exclusivamente na região Neotropical, onde a Mata Atlântica do leste do Brasil é um dos três centros de endemismo e abundância da subfamília Bromelioideae. Além das muitas funções ecológicas, a família possui inúmeros atributos para ornamentação como coloridos e contrastes exóticos, folhagens exuberantes e diversos tamanhos, que ressaltam a importância da conservação e identificação das diversas espécies. Estas plantas tem sofrido constantes ameaças de extinção em seus habitats naturais, expostas a fragmentação desses ambientes, altas taxas de extrativismo e conseqüente perda de espécies. O PESC com aproximadamente 9.000 ha é uma unidade de conservação de proteção integral, abriga importantes remanescentes de Mata Atlântica e está localizado entre os municípios de Ilhéus, Uruçuca e Itacaré. Está sendo realizado um levantamento florístico das bromélias através de transectos com parcelas alternas em três áreas de mata do Parque (Capitão, Torre e Tibina), uma área de mata madura e duas áreas de mata secundária. O potencial para cultivo foi estimado a partir das características das espécies listadas, como cores e contrastes das flores e inflorescências, folhagens e porte da planta, comparadas a listas de espécies comercializadas. Foi registrada a ocorrência de 339 grupos adultos na mata Capitão, cinco gêneros, oito espécies das quais cinco foram caracterizadas com potencial para cultivo. Na mata da Torre foram contabilizados 40 grupos, seis gêneros, oito espécies das quais quatro foram consideradas com potencial para cultivo. Na mata da Tibina 664 grupos registrados, nove gêneros, 17 espécies das quais 10 foram caracterizadas com potencial para cultivo. Foram registrados no total 1043 grupos de bromélias, 13 gêneros, 20 espécies e 14 com potencial para cultivo. A transferência dos resultados da pesquisa será feita através de seminário participativo com a comunidade local.

### **PALAVRAS – CHAVE**

Bromeliaceae, conservação, cultivo, Mata Atlântica.

### **AGRADECIMENTOS**

Programa Alemão de Intercâmbio Acadêmico – DAAD  
Programa Regional de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente  
Universidade Estadual de Santa Cruz



## **Diversidade, Riqueza e Distribuição de Bromélias e Orquídeas epífitas na Mata de Galeria do Rio das Antas, Poços de Caldas – MG.**

Reis, J.R.M.<sup>1</sup>; VAN DEN BERG, E.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Eng.<sup>a</sup> Agrônoma pela Universidade Federal de Lavras - UFLA , Campus Universitário - Cx. Postal 3037, CEP 37.200-000 - Lavras - Minas Gerais, telefax: (035) 3829.1341, e-mail: joicermreis@gmail.com; <sup>2</sup>Professor do Depto. de Biologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA, e-mail: evandenb@ufla.br .

### **INTRODUÇÃO**

O presente trabalho tem por objetivo identificar e avaliar a distribuição, abundância e riqueza de espécies epífitas de bromélias e orquídeas presentes na mata de galeria do Rio das Antas, Poços de Caldas – MG. Epífitas são plantas que necessitam apenas do suporte de suas árvores hospedeiras (forófitos) e não de seus nutrientes, pois são fisicamente independentes do solo da floresta para seu ciclo de vida (Nadkarni, 1994). Estas plantas têm sofrido constantes ameaças de extinção em seus habitats naturais, expostas a fragmentação desses ambientes, expansões de fronteiras agrícolas, poluição e altas taxas de extrativismo. Além das muitas funções ecológicas, orquídeas e bromélias possuem inúmeros atributos para ornamentação como coloridos e contrastes exóticos, folhagens exuberantes e diversos tamanhos, diversidade esta que ressalta a importância da conservação e identificação das espécies que ocorrem na região do estudo, onde há forte pressão de fragmentação e conseqüente perda de habitats para estas plantas.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Levantamento florístico: Foram levantadas neste trabalho duas famílias de epífitas vasculares, Bromeliaceae e Orchidaceae entre os meses de janeiro de 2005 a janeiro de 2006. A identificação foi feita por comparações com bibliografias especializadas (Reitz, 1983) e por taxonomistas idôneos. Área de estudo: Os locais amostrados foram os mesmos estudados por van den Berg et al. (2006). A formação florestal é uma mata de galeria que também pode ser identificada por floresta estacional semidecidual aluvial (IBGE, 1992). Foram amostradas cinco áreas em direção a foz, os blocos foram nomeados seguindo a abreviatura dos nomes dos proprietários das áreas – DR (Dirceu), RJ (Ricardo Junqueira), EJ (Eduardo Junqueira), MG (Miguel Carvalho Dias) e AL (Alcoa S.A.) ao longo do Rio das Antas localizado no município de Poços de Caldas – MG (van den Berg et al., 2006). As áreas variaram de 0,14 a 0,24 ha de área amostral, distando entre si cerca de 2 km e abrangendo cerca de 8 km ao longo do rio. Amostragem: Em cada um dos cinco blocos amostrados, foram sorteadas 20 árvores na margem do rio, 20 árvores na borda da mata e 20 árvores entre estas duas situações (interior da mata). Apenas árvores com diâmetro à altura do peito (DAP) > 20 cm, onde é mais comumente observada a presença de epífitas foram amostradas, (Alves, 2005). Estas árvores já haviam sido anteriormente identificadas e medidas por van den Berg et al. (2006). Análise de dados: Foi calculada a similaridade de distribuição de espécies epífitas nos blocos, comparando-os dois a dois, através do coeficiente de Jaccard. A diversidade florística foi estimada pelo índice de diversidade de Shannon (H') e a equabilidade pelo índice de equabilidade (J') de Pielou, descritos em Brower & Zar (1984).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Riqueza de epífitas: Foram identificadas nove espécies epífitas. A maior riqueza de espécies ocorreu no bloco MG, contrastando com o reduzido número de epífitas identificadas no bloco AL (apenas uma espécie) (Tabela 1).

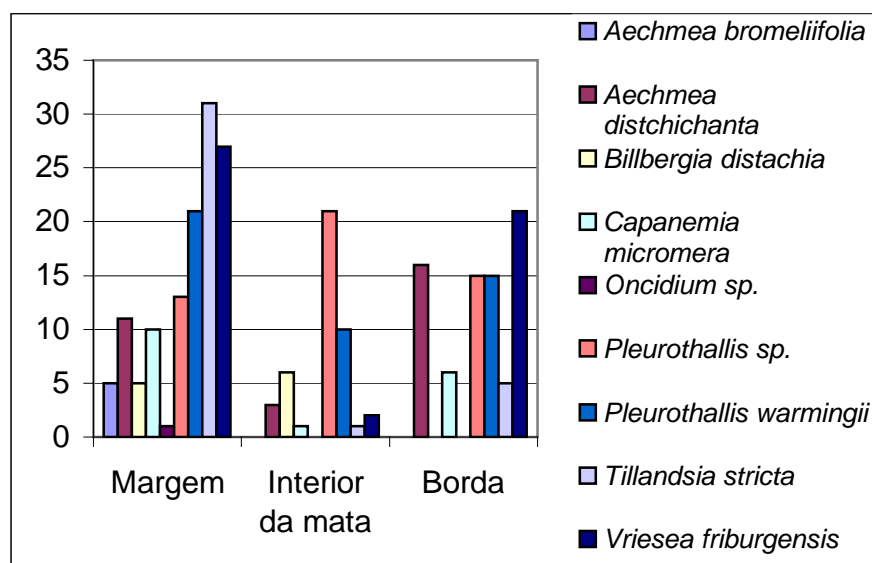
### **AGRADECIMENTOS**

ALCOA / SA, pela bolsa e financiamento concedidos durante a pesquisa, e o amplo apoio logístico.

**Tabela 1.** Distribuição e riqueza de espécies epífitas sobre árvores sorteadas por blocos

Espécies epífitas	DR	RJ	EJ	MG	AI
<i>Aechmea bromeliifolia</i> (Rudge) Baker			X		
<i>Aechmea distichantha</i> (Lemaire)	X	X	X	X	
<i>Billbergia distachia</i> (Velloso)				X	
<i>Capanemia micromera</i> (Barb.Rodr.)	X	X	X	X	
<i>Oncidium</i> sp.				X	
<i>Pleurothallis</i> sp.	X	X		X	
<i>Pleurothallis warmingii</i> (Rchb.F.)	X	X	X	X	
<i>Tillandsia stricta</i> (Velloso)	X	X		X	
<i>Vriesea friburgensis</i> (Linnaeus)	X	X		X	X
<b>Riqueza: 09</b>	<b>06</b>	<b>06</b>	<b>04</b>	<b>08</b>	<b>01</b>

A espécie *Capanemia micromera*, é citada como uma das espécies criticamente em perigo de extinção na lista de espécies ameaçadas de extinção da Mata Atlântica do estado do Espírito Santo (IPEMA, 2006). Distribuição de espécies epífitas entre habitats: É observada uma nítida diferença entre o número de espécies e sua abundância, entre os diferentes habitats (Figura 1). O maior número de espécies e a maior abundância de indivíduos foram observados no habitat de margem, que compreende as parcelas mais próximas à margem do Rio das Antas em todos os blocos. Este resultado pode ser atribuído a maior luminosidade e elevada umidade atribuídos a presença do curso d'água.



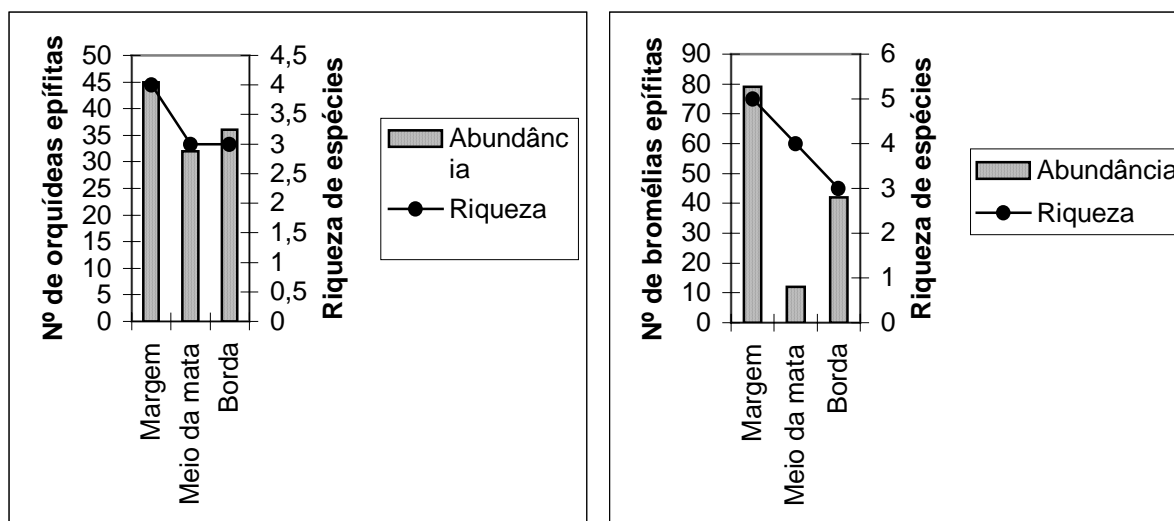
**Figura 1.** Número de plantas de cada espécie por habitat.

A família Orchidaceae apresentou maior riqueza e maior abundância de indivíduos próximo à margem do rio. A riqueza foi similar no interior e na borda, entretanto a abundância de indivíduos foi maior na área de borda do que no interior de mata (Figura 2a).

#### AGRADECIMENTOS

ALCOA / SA, pela bolsa e financiamento concedidos durante a pesquisa, e o amplo apoio logístico.





**Figura 2a e 2b.** Distribuição de plantas da família Orchidaceae (a) e Bromeliaceae (b) entre os três diferentes habitats.

O número de espécies de bromélias epífitas é maior no ambiente de margem e declina em direção ao ambiente de borda. A abundância de indivíduos é a menor no ambiente de interior de mata, fato este atribuído possivelmente á diminuição da luminosidade, devido ao maior fechamento do dossel florestal (Figura 2b).

Os blocos que apresentaram maior similaridade (50% ou mais) foram DR com RJ, EJ com MG, e RJ com MG. Não houve relação entre as distâncias entre os blocos e a seus respectivos valores de similaridade. Dos blocos analisados, o mais diferenciado foi o bloco AI (tabela 2).

**Tabela 2.** Coeficiente de Similaridade de Jaccard

	DR	RJ	EJ	MG	AI
DR	1	0,5	0,75	0,17	
RJ		1	0,43	0,75	0,17
EJ			1	0,33	0
MG				1	0,13
AI					1

O índice de diversidade de Shannon ( $H'$ ) foi calculado separadamente para cada bloco, o maior valor encontrado foi para o bloco MG (1,93), seguido por RJ (1,74), DR (1,41), EJ (1,25) e, por último AL (0) onde este resultado é explicado por haver apenas uma planta e apenas uma espécie, seguindo o padrão da riqueza de espécies (tabela 1). O valor do índice de diversidade ( $H'$ ) para a área total (8 km) foi estimado em 1,95. Em estudos realizados por Waechter (2004) em formações florestais similares foram observados valores mais altos para a diversidade (3,434) entretanto neste estudo na floresta de galeria da EEA/UFRGS foram encontradas 57 espécies, distribuídas em 34 gêneros e 15 famílias. Apesar da diferença entre os índices de diversidade e da riqueza amostrada deste trabalho, foi encontrado o valor do índice de equabilidade de Pielou ( $J$ ) que avalia a participação proporcional das espécies presentes, bastante elevado (0,8895) e muito semelhante aos valores calculados para outras comunidades epifíticas no sul do país (Tabela 3).

## AGRADECIMENTOS

ALCOA / SA, pela bolsa e financiamento concedidos durante a pesquisa, e o amplo apoio logístico.

**Tabela 3.** Riqueza e diversidade de epífitos vasculares em dois estudos realizados no sul do Brasil comparados ao presente estudo realizado em MG. Nf = número de forófitos amostrados; Sf = número de famílias; Se = número de espécies epifíticas; H' = índice de diversidade de Shannon; J = índice de equabilidade de Pielou.

Fonte	Área	Nf	Sf	Se	H'	J
Este estudo	Poços de Caldas (MG)	300	2	9	1,95	0,89
Kerstem & Silva, 2001	Ilha do Mel (PR)	100	17	77	3,61	0,78
Waechter, 2004	EEA - Eldorado do Sul (RS)	60	13	50	3,43	0,87

## CONCLUSÃO

Foram identificados três gêneros e quatro espécies pertencentes à família Orchidaceae, em sua maioria microrquídeas, e quatro gêneros e cinco espécies da família Bromeliaceae, totalizando nove espécies epifíticas destas duas famílias na área de estudo. As diferenças entre os blocos, em termos de riqueza e diversidade, assim como as similaridades e dissimilaridades entre os blocos podem estar ligadas a diferentes históricos de perturbação ou variáveis ambientais não analisadas neste trabalho. De qualquer forma tais variações apontam para a necessidade se subdividir a amostragem, cobrindo áreas mais extensas, quando se deseja avaliar a riqueza e a diversidade de um determinado sistema.

Observou-se que a distribuição destas plantas foi distinta entre os habitats e entre os diferentes blocos de parcelas. O maior número de espécies e a maior abundância de indivíduos epífitos foram observados no ambiente de margem, que compreende as parcelas mais próximas ao rio, em todos os blocos. Este resultado pode ser atribuído a maior luminosidade devido à abertura do dossel vinculada à presença do rio e a elevada umidade considerada como fator determinante para maior ocorrência de epífitos vasculares em florestas em estudos anteriores (LUTTGE, 1989; STEEGE & CORNELISSEN, 1989; KERSTEN & SILVA, 2001); (DISLICH & MANTOVANI 1998, NIEDER *et al.* 2000, FISCHER & ARAÚJO, 1995 apud WAECHTER, 2004). As diferenças encontradas entre os blocos podem estar vinculadas a diferentes históricos de perturbação da floresta e variáveis ambientais não analisadas neste estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IBGE. 1992. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Derna, Rio de Janeiro.

IPEMA - Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica – IBAMA. Disponível em: <http://www.biodiversitas.org.br/florabr/ES-especies-ameaçadas.pdf>. Acesso em: 12 de jan. de 2006, 16h32min.

KERSTEN, R. A., & SILVA, M. S. **Composição florística e estrutura do componente epifítico vascular em florestas da planície litorânea na Ilha do Mel, Paraná, Brasil.** Revista brasileira de Botânica, São Paulo, V.24, n.2, p.213-226, jun. 2001.

LUTTGE, U. **Vascular Plants as Epiphytes.** Springer-Verlag, New York. 1989.

NADKARNI, M.N. **Diversity of Species and Interactions in the Upper Tree Canopy of Forest Ecosystems.** Amer. Zool., 34:70-78. 1994.

## AGRADECIMENTOS

ALCOA / SA, pela bolsa e financiamento concedidos durante a pesquisa, e o amplo apoio logístico.

REITZ, R. **Bromeliáceas e a Malária - Bromélia endêmica.** In Flora ilustrada Catarinense (Reitz, R. ed.). Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues. 808p. 1983.

STEEGE, H. ter & CORNELISSEN, J.H.C. **Distribution and Ecology of Vascular Epiphytes in Lowland Rain Forest Guyana.** *Biotropica*, Vol. 21, No. 4 (Dec., 1989), pp. 331-339.

VAN DEN BERG, E.; SANTOS, M.; CASTRO, G.C. & FERREIRA, C.A. **Estrutura do Componente Arbóreo de uma Floresta de Galeria Aluvial em Poços de Caldas, MG.** Anais do 57º Congresso Nacional de Botânica, Gramado, RS. 2006.

WAECHTER, J.L. & GIONGO, C. **Composição florística e estrutura comunitária de epífitos vasculares em uma floresta de galeria na Depressão Central do Rio Grande do Sul.** *Revista Brasil. Bot.*, V.27, n.3, p.563-572, jul.-set. 2004.

#### **PALAVRAS – CHAVE**

Bromeliaceae, Orquidaceae, florística, epífitas.

#### **AGRADECIMENTOS**

ALCOA / SA, pela bolsa e financiamento concedidos durante a pesquisa, e o amplo apoio logístico.

## **Controle da ocorrência de danos mecânicos em hastes florais de *Heliconia bihai* cv. Lobster Claw I (HELICONIACEAE).**

Paulo Hercílio Viegas Rodrigues<sup>1</sup>; Maria de Fátima Batista Dutra<sup>2</sup>; Gláucia Maria Bovi Ambrosano<sup>3</sup>; Ana Maria Liner Pereira Lima<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Coord. Tec. do Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – [phrviegas@hotmail.com](mailto:phrviegas@hotmail.com); <sup>2</sup> Lab. Cultura de Tecidos Vegetais EMPARN – RN - [mfbdutra@hotmail.com](mailto:mfbdutra@hotmail.com); <sup>3</sup> Departamento de Odontologia Social (Bioestatística) – FOP/UNICAMP – 13418900 – Piracicaba – SP - [glaucia@fop.unicamp.br](mailto:glaucia@fop.unicamp.br); <sup>4</sup> Departamento de Produção Vegetal ESALQ/USP – caixa postal 9 – 13418900 – Piracicaba – SP - [amplima@esalq.usp.br](mailto:amplima@esalq.usp.br)

O cultivo de flores tropicais tem se destacado na floricultura brasileira, graças ao empenho de produtores de alguns estados do nordeste do Brasil como o Ceará, Pernambuco, Alagoas e Rio Grande do Norte. Para atingir o mercado externo, os agricultores desses estados precisam de hastes florais de alta qualidade, sem qualquer tipo de dano mecânico em suas brácteas. Com o objetivo de reduzir os danos mecânicos causados da haste do limbo foliar nas brácteas, pela ação dos ventos, foram avaliados dois tipos de proteção para as hastes florais de *H. bihai* Lobster Claw I. No ensaio realizado no município de São Gonçalo do Amarante – RN – Brasil, foram avaliadas 450 hastes florais, ao acaso, quanto aos danos mecânicos nas brácteas, alteração na coloração, ocorrência de pragas, resistência do material empregado nos tratamentos quanto à possibilidade de reutilização e viabilidade econômica. A avaliação demonstrou eficiência de 96,66 % do polietileno de baixa densidade – PEBD, contra 31,33 % do filme plástico transparente FLEXIROLL – FLEX, para hastes do tipo exportação. Observou-se também a possibilidade de reutilização de 92 % do PEBD, que contribuiu para que o custo de implantação da proteção nas hastes fique na ordem de 4 a 6 % do valor final do produto.

Palavra Chave:

floricultura, colheita, logística.

## **Armazenamento de rosa (*Rosa spp.*) em câmara fria e diferentes soluções conservantes.**

Castro, Lívia Mendes<sup>1</sup>; Pires, Larissa Leandro<sup>2</sup>; Dourado, Patrick Marques<sup>3</sup>; Fontoura, Patrícia Rezende<sup>4</sup>; Aguiar, Marcelo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Insitituto Agronômico de Campinas (IAC), Divisão de Biologia Fitotécnica, Seção de Genética, Fazenda Santa Elisa – Campo Experimental, Recursos Genéticos Vegetais, Avenida Theodureto de A. Camargo, Caixa Postal 28, CEP. 13001-970, Campinas, São Paulo, fone (19)3241-5188, e-mail: liviamdecastro@yahoo.com.br. <sup>2</sup> Professora da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, e-mail: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br); <sup>3</sup> Universidade Federal de Goiás (UFG), Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, e-mail: [douradoufg@yahoo.com.br](mailto:douradoufg@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Universidade Federal de Goiás (UFG), Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, e-mail: [patriciafontoura4@hotmail.com](mailto:patriciafontoura4@hotmail.com) ; <sup>5</sup> Universidade Federal de Goiás (UFG), Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, e-mail: [jh0w@hotmail.com](mailto:jh0w@hotmail.com) .

### **INTRODUÇÃO**

A floricultura está presente no mundo todo e abrange o cultivo de flores de corte, englobando desde as flores tropicais até as de clima temperado. A produção de flores e plantas ornamentais no Brasil teve início por volta da década de 30, tomando um novo impulso em meados da década de 60, quando imigrantes Holandeses trouxeram novas técnicas de produção para região de Holambra. Apesar de a floricultura exibir uma presença expressiva no panorama econômico agrícola o setor enfrenta ainda diversos entraves ao seu crescimento. Um desses entraves é a magnitude das perdas pós-colheita, que é de mínimo 30% de flores no Brasil, até o consumo final do produto. A produção de flores de corte constitui uma atividade promissora, cuja comercialização exige técnicas de conservação que contribuam em manter a qualidade floral pós-colheita. As principais causas de deterioração pós-colheita envolvem a exaustão das reservas, principalmente de carboidratos pela respiração, ocorrência de bactérias e fungos, produção de etileno e perda excessiva de água (ROGERS, 1973.; HARDENBURG et al., 1986; NOWAK et al., 1991, citado por BRACKMANN, 1998). É altamente desejável a inibição desses processos deteriorantes. Inúmeros trabalhos de pesquisa têm demonstrado o efeito benéfico da adição de produtos químicos conservantes nas soluções de manutenção das flores de corte. Estes produtos, constituídos principalmente por açúcares e germicidas e inibidores de etileno, como o nitrato de prata ) podem duplicar ou triplicar a longevidade das flores (ROGERS 1973 & KETSA et al.1995 citado por BRACKMANN 1998).

O fornecimento de açúcares, principalmente sacarose, repõe carboidratos consumidos pela respiração e proporciona redução na transpiração das flores e folhas, uma vez que atua no fechamento dos estômatos e na regulação osmótica dos tecidos.

O uso de sacarose na solução de condicionamento na concentração de 2 a 20% ou mais é muito comum. O efeito de solução de sacarose, tanto na forma de condicionamento como na forma de solução em vaso, pode variar consideravelmente entre as espécies. Em várias espécies, a sacarose tem sido eficiente no prolongamento da vida pós-colheita e promoção de abertura de botões imaturos, propiciando colheita antecipada e maior vida pós-colheita da flor cortada.

A principal causa de deterioração em flores de corte é o bloqueio dos vasos do xilema por microorganismos que acumulam na solução do vaso ou nos vasos condutores. Outras causas menos importantes de oclusão vascular são a embolia por ar e a resposta fisiológica da planta ao corte do caule. (ICHMURA et al. 1999, citado por LIMA, 2005). Quando o vaso é bloqueado, o processo de transpiração continua não ocorre ganho

líquido de água pelo tecido da flor ou do caule. Germicidas podem ser aplicados para inibir o crescimento de microorganismos nos vasos condutores da haste. Desta forma, estimula-se a absorção de água pela redução do bloqueio vascular, contribuindo para a manutenção da turgidez das flores.

Em diversas espécies ornamentais, o etileno exerce importante papel na aceleração da senescência, resultando na deterioração dos tecidos e conseqüentemente redução da vida pós-colheita. Um dos métodos utilizados com sucesso na inibição da produção ou ação do etileno é o tratamento das flores cortadas com íon prata ( $Ag^+$ ), uma vez que este atua como inibidor competitivo da ligação entre o etileno e o seu receptor (ALTVORST & BOVY, 1995, citado por LIMA, 2005).

Segundo NOWAK & MYNETT (1985), citado por BRACKMANN (1998), a baixa temperatura de armazenamento também é um fator importante no retardamento da deterioração, uma vez que diminui os processos metabólicos (respiração e transpiração) e o crescimento de patógenos, mantendo a qualidade por mais tempo e prolongando a vida pós-colheita de plantas e flores durante o período de armazenamento.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a longevidade de rosas em diferentes soluções conservantes e câmara fria.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As rosas foram adquiridas na floricultura com dois dias de corte, acondicionadas em tambores com água em câmara fria a 5 °C.

Assim que foram adquiridas procedeu-se à limpeza das hastes florais eliminando-se as folhas, deixando de seis a oito folhas por haste floral e posterior corte basal nas hastes, em média de oito centímetros.

Em seguida, as flores foram transferidas para câmara fria e soluções de manutenção.

Utilizaram-se cinco tratamentos com três flores/tratamento e três repetições distribuídas ao acaso. Os tratamentos foram: controle (água), sacarose 4%, nitrato de prata 20 ppm, sacarose 4% mais nitrato de prata 20 ppm e câmara fria em uma temperatura de 5°C na umidade de 75%.

Nos tratamentos, as hastes florais foram imersas cerca de dez centímetros nas soluções, mantendo-se como condição de laboratório uma temperatura média de 20°C, luz contínua e umidade relativa média de 75%.

No dia seguinte à montagem do experimento (24 horas), as soluções foram trocadas por água destilada, visto que a absorção mais intensa ocorre nas primeiras horas.

As avaliações foram realizadas de dois em dois dias, a partir do primeiro dia após a montagem do experimento. Foram atribuídas notas adotando-se os seguintes critérios:

Nota 4 – aspecto geral excelente, pétalas túrgidas e bem vermelhas, folhas verdes flor ainda em botões bem fechados.

Nota 3 – aspecto geral bom início da perda de turgescência, início do amarelecimento de folhas, início de abertura (pétalas externas abertas).

Nota 2 – aspecto geral regular com perda de turgescência, pétalas escuras, muitas folhas amarelas e secas, flor aberta. .

Nota 1 – aspecto geral ruim, pétalas bem escuras, maioria das folhas amarelas e secas, perda de turgescência, flores bem abertas com início de queda de pétalas.

Nota 0 – descarte, flores tombadas.

Para a análise estatística foram somadas as notas atribuídas às rosas de cada repetição, como cada repetição possuía três rosas a nota máxima atribuída na repetição será nota dose.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nas figuras, são observadas as médias das notas em relação à cor, abertura e turgescência.

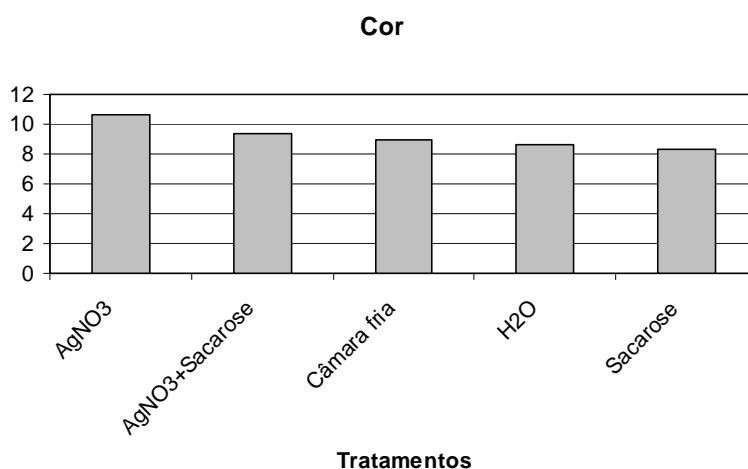


Figura 1. Média das notas em relação à cor.

A análise das notas observadas na Figura 1 demonstrou uma maior eficiência de conservação das rosas em relação à cor, no tratamento com o nitrato de prata. Os demais tratamentos mostraram uma menor eficiência, havendo escurecimento das pétalas, observando que o tratamento com sacarose a 4% mostrou-se além do escurecimento mais rápido, um aspecto de bordas queimadas.

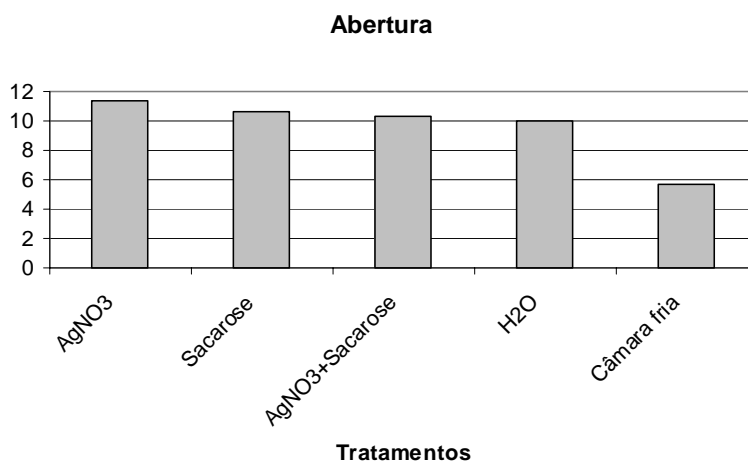


Figura 2. Média das notas em relação à abertura das flores.

A análise das notas observadas na Figura 2 demonstrou que o método de conservação quanto à abertura de flor, os tratamentos das soluções não apresentaram diferenças significativas, porém, na câmara fria ocorreu maior velocidade de abertura.

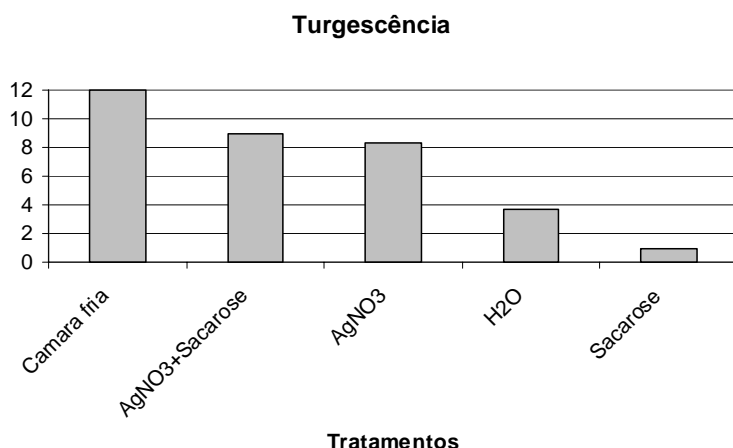


Figura 3. Média das notas em relação à turgescência.

A análise das notas observadas na figura 3 demonstrou que o método de conservação quanto à turgescência na câmara fria teve maior eficiência diante os demais tratamentos. Nos tratamentos com nitrato de prata e nitrato de prata mais sacarose a 4%, as flores se apresentaram mais túrgidas, tendo o nitrato de prata uma excelente contribuição para o prolongamento da longevidade das flores.

#### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que o tratamento mais eficiente foi a solução de nitrato de prata mais sacarose a 4%, pois esta permite melhor conservação das rosas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARCKMANN, A. BELLÉ, R., BORTOLUZZI, G.. **Armazenamento de *Zinnia elegans* Jacq. em diferentes temperaturas e soluções conservantes.** Revista Brasileira de Agrociência, v.4, nº1, p.20-25, Jan-Abr., 1998.

CASTRO, C.E.F.; VIDIGAL, J.C.; GARCIA, J.L.M. **Efeitos de preservativos florais na durabilidade de três cultivares de rosas.** In. Anais do 1º Congresso Brasileiro de Horticultura e Plantas Ornamentais. Campinas-SP. 1980.

CASTRO, C.E.F.; VIDIGAL, J.C.; GARCIA, J.L.; VIDIGAL, C.. **Efeito da sacarose e do nitrato de prata na durabilidade de rosas da cultivar Pascali.** In. Anais do 1º Congresso Brasileiro de Horticultura e Plantas Ornamentais. Campinas-SP. 1980.

CASTRO S.G.F. CORTEZ, L.A.B.. **Avaliação da qualidade de flores cortadas de chuva-de-ouro após armazenamento em câmara fria a baixa temperatura.**

LIMA, J.D. MORAES, W.S. SILVA, C.M .. **Tecnologia pós-colheita de flores de corte.** APTA do Vale do Ribeira, SP. 2005.

TAGLIACOZZO, G.M.D.; ZULLO, M.A.; CASTRO, C.E.F.. **Caracterização física e conservação pós-colheita de alpinia.** Revista Brasileira de Horticultura Ornamental. Campinas, V.9, nº1, p.17-23, 2003.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Rosa spp.* ; pós-colheita; soluções conservantes; armazenamento.



## Efeito de ácido giberélico (GA) e sacarose em pós-colheita de crisântemo var. 'chá repin'.

Sanches, Luiz Vitor Crepaldi<sup>1</sup>; Laschi, Denise<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus de Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7172, email: [luizvitorsanches@fca.unesp.br](mailto:luizvitorsanches@fca.unesp.br); <sup>2</sup>Professora da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP – Campus de Botucatu, Departamento de Horticultura, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7172, email: [laschi@fca.unesp.br](mailto:laschi@fca.unesp.br)

### INTRODUÇÃO

O gênero crisântemo é originário do Japão, tendo sido introduzido no Ocidente há cerca de 200 anos. É largamente cultivado no Brasil, sendo que o cultivo em vaso ocupa o primeiro lugar no mercado, respondendo por aproximadamente 80% do total. A diversidade de variedades, cores, formas e durabilidade das flores, são motivos de sua aceitação no mercado (FOLEGATTI et al., 1997). O crisântemo de corte é uma das flores mais comercializadas devido à grande diversidade em cores e formas de inflorescências, assim como pela resposta precisa ao fotoperíodo. Entretanto, apesar dessas características, algumas cultivares de corte apresentam limitado período de conservação em vaso. O esgotamento de reservas, principalmente dos carboidratos, através do processo respiratório, assim como a clorose foliar, são fatores que afetam a longevidade pós-colheita de flores de corte (BRACKMANN et al., 2005).

Segundo Nardi et al. (2001), os fatores ambientais, a população de plantas e as características genéticas de cada cultivar são os determinantes da qualidade do produto final, sendo a qualidade um dos fatores do sucesso na comercialização. Essa qualidade, por sua vez, pode ser avaliada pelo tamanho da inflorescência, comprimento e rigidez da haste, grau de abertura e sanidade geral. A criação de diferentes padrões ou classes de qualidade é de extrema importância para valorização do produto.

A aplicação exógena de reguladores de crescimento, como giberelinas (ácido giberélico) ou citocininas, interfere na senescência de folhas. Isso pode ser claramente observado em lírio, onde a aplicação do ácido giberélico (GA) e benziladenina em folhas isoladas retarda significativamente o amarelecimento e a taxa respiratória da folhas.

O fornecimento de açúcares, principalmente sacarose, repõe carboidratos consumidos pela respiração e proporciona redução na transpiração das flores e folhas, uma vez que atua no fechamento dos estômatos e na regulação osmótica dos tecidos. O condicionamento ou *pulsing* das flores ou folhas ornamentais de corte pode ser definido como o tratamento utilizado nas primeiras 24h após a colheita, onde estas são saturadas com soluções, contendo substâncias químicas, como açúcares, ácidos orgânicos e inibidores da ação ou da síntese de etileno (LIMA, 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações de ácido giberélico, sacarose e a mistura entre eles em solução conservante na manutenção da qualidade pós-colheita de hastes de crisântemo.

### MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho utilizou-se a cv. "Chá Repin". O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com nove tratamentos e dez repetições, totalizando 90 parcelas avaliadas. Cada parcela foi constituída por uma haste floral.

O experimento foi conduzido no laboratório de Pós-Colheita de Flores do Departamento de Produção Vegetal/Horticultura, localizado na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP - Campus Botucatu/SP.

As hastes de crisântemo foram selecionadas e colocadas em solução de "pulsing", por 24 horas, visando avaliar as respostas aos seguintes tratamentos: Água (Testemunha); 20 mg L<sup>-1</sup> GA (Pro-Gibb); 40 mg L<sup>-1</sup> GA; Sacarose 8%; Sacarose 12%; 20 mg L<sup>-1</sup> GA + Sacarose 8%; 20 mg L<sup>-1</sup> GA + Sacarose 12%; 40 mg L<sup>-1</sup> GA + Sacarose 8%; 40 mg L<sup>-1</sup> GA +

Sacarose 12%. As hastes foram mantidas em temperatura ambiente, e esta foi medida diariamente; houve variação de 17°C a 26°C durante a condução do experimento, as lâmpadas fluorescentes do laboratório foram mantidas ligadas 10 horas por dia. Ainda durante este período de pós-colheita, foram realizadas análises qualitativas com atribuição de notas para as flores e folhas a intervalos de dois dias, sendo que estas eram dadas para cada haste, de acordo com o seu estágio de senescência. As notas utilizadas para as flores foram: nota 3=sem defeitos visíveis; nota 2=hastes com menos de 50% das flores apresentando descoloração; nota 1=haste com mais de 70% de flores apresentando lígulas descoloridas e com muitas flores murchas e secas. As notas utilizadas para as folhas foram: nota 3=sem defeito visível na folha; nota 2=folhas com menos de 50% apresentando amarelecimento e folhas em início de murchamento (folhas pendentes); nota 1= haste com mais de 50% de folhas apresentando amarelecimento e murchamento. O tempo de vida de vaso para a flor e folha foi determinado quando estes órgãos apresentaram nota igual ou menor a um, ou seja, sem qualidade para comercialização. Após 24 horas de imersão na solução de 'pulsing', as hastes sofreram novo corte na base e foram colocadas individualmente em recipientes contendo 1.000 mL de água, para avaliação. A manutenção do experimento foi realizada através da troca de água dos recipientes e corte da parte basal da haste, coincidindo com as avaliações. As avaliações foram realizadas a cada dois dias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do teste F e as médias, foram comparadas mediante o teste de Tukey ao nível de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações demonstraram um aumento da durabilidade do crisântemo "Chá Repin" em quatro dias utilizando uma concentração de 40 mg L<sup>-1</sup> de GA. A utilização das misturas entre GA e Sacarose não apresentaram um resultado satisfatório, pois ambas as misturas proporcionaram uma conservação as hastes por 24 dias, a utilização de apenas Sacarose também não proporcionou resultados satisfatórios, conservando as hastes por apenas 22 dias. A menor dose de GA conservou as hastes por 24 dias e a maior dosagem por 30 dias, já a utilização de apenas água conservou as hastes por 26 dias.

Tabela 1. Dias de conservação pós-colheita de hastes de crisântemo 'Chá Repin' em função dos tratamentos.

Tratamento	Longevidade (Dias)
Sacarose 8% (S8)	22 a*
Sacarose 12% (S12)	22 a
GA 20 mg L <sup>-1</sup> + Sacarose 12% (GA20+S12)	24 b
GA 40 mg L <sup>-1</sup> + Sacarose 8% (GA40 + S8)	24 b
GA 40 mg L <sup>-1</sup> + Sacarose 12% (GA40 + S12)	24 b
GA 20 mg L <sup>-1</sup> + Sacarose 8% (GA20 + S8)	24 b
GA 20 mg L <sup>-1</sup> (GA20)	24 b
Água	26 c
GA 40 mg L <sup>-1</sup> (GA40)	30 d

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de variância.

Segundo Laschi et al. (1999), a utilização de soluções de ácido giberélico em baixas concentrações (10 e 20 mg L<sup>-1</sup>) de GA, também tem mostrado um aumento da durabilidade do crisântemo 'Reagan' em 2,2 dias, entretanto o crisântemo 'Chá Repin' quando tratado com concentrações de GA não proporcionou efeitos satisfatórios em comparação aos demais tratamentos, respondendo positivamente apenas ao tratamento com uma concentração elevada de GA, proporcionando um aumento de seis dias de vida de vaso na pós-colheita das hastes.

Já Brackmann et al. (2005), também utilizando uma solução contendo GA constatou que houve uma significativa redução na vida das flores. Observando ainda que as cultivares sem o uso de solução com GA, apresentaram uma longa vida de vaso, sendo que as flores

só senesceram após um período de 27 dias. O crisântemo 'chá repin' conduzido somente em água manteve-se também dentro dos resultados de Brackmann, apresentando a senescência das flores após um período de 26 dias pós-colheita.

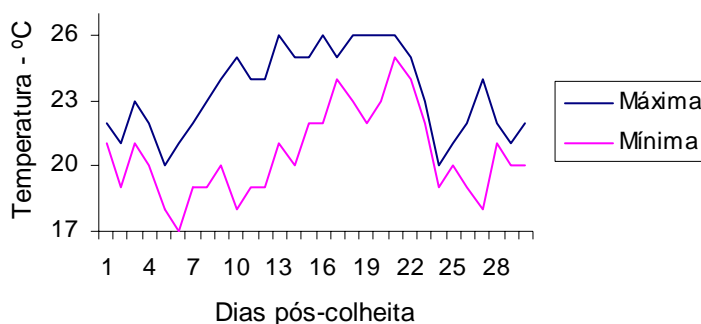


Figura 1. Avaliação da Temperatura ambiente durante o experimento.

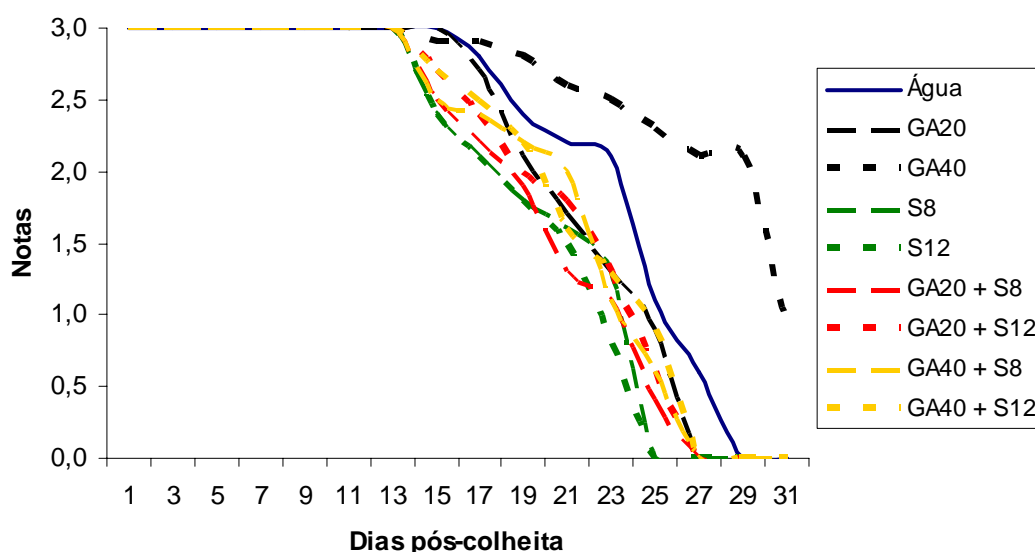


Figura 2. Qualidade das flores das hastes da cultura do crisântemo var. 'Chá Repin' em resposta aos diversos tratamentos pós-colheita.

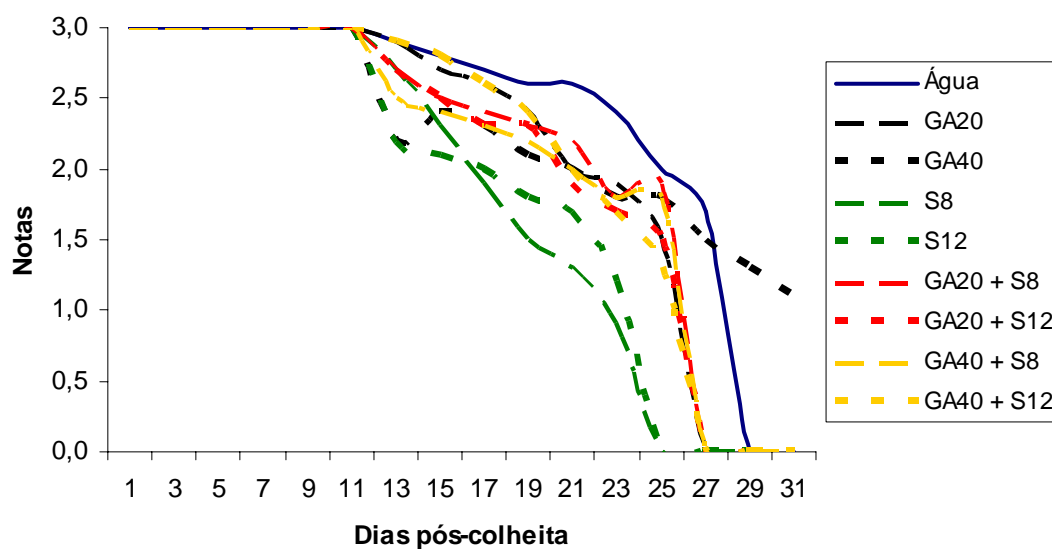


Figura 3. Qualidade das folhas das hastes da cultura do crisântemo var. 'Chá Repin' em resposta aos diversos tratamentos pós-colheita.

Comparando a Fig. 1 com as demais, observa-se claramente que a partir dos 21 dias pós-colheita, houve uma significativa queda da temperatura, refletindo diretamente sobre a qualidade das folhas e flores, apresentando uma curva em ligeiro declínio conforme as Fig. 2 e 3.

Nota-se na Fig. 2 e 3 que tanto as flores como as folhas demonstraram uma resposta fisiológica muito parecida para todos os tratamentos à que foram submetidos, apresentado assim uma senescência uniforme entre todos os componentes das hastes, onde diferenciava-se de outras cultivares, que apresentam primeiramente uma desfolha, para mediante a mesma começarem a perderem as suas flores.

De acordo com Brackmann et al. (2005), a ação do GA, quando aplicado em pós-colheita, pode acelerar o metabolismo e não reduzi-lo. As deficiências de nutrição veiculadas pela solução conservante e intensidade luminosa, são capazes de suprimir os assimilados, podendo assim causar a aceleração dos processos de senescência das hastes florais com o aumento das doses de ácido giberélico, entretanto o uso da dosagem de 40mg L<sup>-1</sup> para o crisântemo 'chá repin' apresentou um aumento significativo no período de pós-colheita de 6 dias em relação as demais soluções de GA e Sacarose, e de 4 dias a mais do que o tratamento contendo apenas água.

## CONCLUSÃO

Ficou evidente que a utilização de uma solução contendo baixas concentrações de GA e sacarose em qualquer dosagem, ou ainda a mistura entre GA e sacarose, promoveram a aceleração da senescência, tanto de flores como de folhas, apesar dos resultados contraditórios, observados na maioria da bibliografia consultada. No entanto, de acordo com alguns autores a ação das giberelinas pode variar de acordo com a espécie (LASCHI et al., 1999), o local de aplicação e o tipo de GA usada, o que pode explicar o aumento da longevidade pós-colheita de crisântemos tratados com GA em pré-colheita. Contudo, pode-se concluir que o crisântemo var. 'Chá Repin' respondeu com sucesso à indução de suas hastes por meio de 'pulsing' em uma solução de GA com concentração de 40 mg L<sup>-1</sup>, sendo assim, uma boa opção para a utilização desta solução por produtores de crisântemo, tendo em vista que este tratamento proporcionou uma longevidade de quatro dias a mais, que o tratamento onde utilizou-se apenas água.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRACKMANN, A. et al. Qualidade pós-colheita de crisântemos (*Dendranthema grandiflora*) mantidos em soluções de ácido giberélico **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, p.1451-1455, nov-dez, 2005.

FOLEGATTI, M. V. et al. Efeitos da cobertura plástica sobre os elementos meteorológicos e evapotranspiração da cultura de crisântemo em estufa **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 5, n. 2, p. 155-163, 1997.

LASCHI, D. et al. Efeito de ácido giberélico, GA3 e GA4 + GA7, em pós-colheita de crisântemo e solidago. **Revista Brasileira de Horticultura e Ornamentais**, Campinas, v.5, n.2, p.143-149, 1999.

LIMA, J. D.; MORAES, W. da S.; SILVA, C. M. da; Tecnologia pós-colheita de flores de corte **Anais - XIV Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico – Plantas Ornamentais** Pariquera-açu – SP, Abril, p. 39 - 45 2006.

NARDI, C. et al. Qualidade de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzevelev.) cv. Snowdon em diferentes populações e épocas de plantio **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p.957-961, 2001.

## PALAVRAS-CHAVES

Crisântemo var. 'Chá Repin'; Pulsing; Pós-colheita; Sacarose; Ácido giberélico.

## Longevidade pós-colheita de flores de rosa, tratadas com 1-MCP em câmara fria.

Batista, Raimundo Junior da Rocha<sup>1</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>2</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Finger, Fernando Luiz<sup>3</sup>; Ribeiro Júnior, José Ivo<sup>4</sup>; Matiello, Hediberto Nei<sup>5</sup>; Barbosa, Gustavo Caldeira Victor<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa-MG, Avenida PH Rolfs,s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, e-mail: [rayrok2000@yahoo.com.br](mailto:rayrok2000@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da UFV, e-mails: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br); [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br); <sup>3</sup>Professor de Fisiologia Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da UFV, e-mail: [ffinger@ufv.br](mailto:ffinger@ufv.br); <sup>4</sup>Professor de Estatística do Departamento de Informática da UFV, e-mail: [jivo@dpi.ufv.br](mailto:jivo@dpi.ufv.br); <sup>5</sup>Estudante de Doutorado em Fitotecnia da UFV; <sup>6</sup>Estudante de Mestrado em Fitotecnia da UFV.

O armazenamento refrigerado visa basicamente contornar os problemas de conservação, transporte e distribuição de flores. O armazenamento de flores permite regularização da oferta do produto aos mercados consumidores, transporte do produto a maiores distâncias, redução do descarte de flores não-comercializáveis pelo atacadista e varejista, melhor programação da produção para atender aos períodos de alta demanda e concentração da produção nas épocas mais favoráveis à comercialização. A combinação do uso de 1-MCP e armazenamento a baixas temperaturas tem se mostrado como excelente opção para viabilizar a exportação marítima e aérea de flores e frutas tropicais, possibilitando, assim, a abertura de novos mercados para os países produtores, como o Brasil. Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito do 1-MCP durante armazenamento refrigerado sobre a longevidade de flores cortadas de rosa (*Rosa hybrida* L.). Flores das cultivares Grand' Gala e Konfete, foram colhidas na Chácara São Sebastião, localizada no município de Barbacena-MG, no período da manhã e transportadas para o Laboratório de Pós-colheita de Flores do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. As hastes foram padronizadas em comprimentos de 60 cm para a cultivar Grand' Gala e 50 cm para a cultivar Konfete. Em seguida, no interior da câmara fria a 10 °C, as hastes foram mantidas em vasos com água deionizada e distribuídas nas câmaras herméticas para tratamento com 1-MCP na concentração de 0 e 1,5 gm<sup>-3</sup>. O experimento foi constituído pelos seguintes tratamentos: controle e aplicação de 1-MCP. O armazenamento foi realizado por um período de cinco dias e em seguida as flores foram colocadas para observação no laboratório de pós-colheita, onde diariamente foram avaliadas a longevidade e abertura floral. As cultivares tratadas com 1-MCP na concentração de 1,5 gm<sup>-3</sup> apresentaram maior longevidade pós-tratamento em armazenamento refrigerado, em relação aos demais tratamentos, apresentando valor médio de longevidade de 9,4 e 12,0 dias para as cultivares Grand' Gala e Konfete, respectivamente. Para a característica abertura do botão floral, não houve diferença significativa entre os tratamentos uma vez que as hastes não apresentaram abertura floral completa. Para a cultivar Konfete, os tratamentos com aplicação de 1-MCP e sem aplicação, apresentaram abertura floral completa, diferindo do tratamento controle.

### PALAVRAS-CHAVES

*Rosa hybrida* L.; 1-MCP (1-metilciclopropeno); armazenamento refrigerado.

## **Efeito da solução de fortificação com sacarose na alteração de parâmetros físico e físico-químicos em *Dendranthema grandiflorum* (Ramat) Tzvelev.**

Robson Assunção Cavalcante<sup>1</sup>; José Luiz Mosca<sup>2</sup>; Denise Josino Soares<sup>1</sup>; Antônia Alaís da Silva Correia<sup>1</sup>; Maria Nenmaura Gomes Pessoa<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará – Departamento de Fitotecnia; <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza - CE (agrobson@gmail.com).

O presente trabalho teve como objetivo realizar a quantificação de compostos fenólicos e carboidratos em diferentes partes de plantas de Crisântemo (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat) Tzvelev) identificando possíveis alterações físicas e físico-químicas após tratamento em solução de fortificação em sacarose. O material estudado foi colhido no início da manhã em área de produção localizada no Maciço de Baturité, Ceará. Após a colheita, o material foi transportado sob refrigeração para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, localizado em Fortaleza – CE. As hastes ficaram armazenadas nas condições de transporte até completar 24h após a colheita para então serem submetidas aos seguintes tratamentos: a) T0 – hastes utilizadas como testemunhas, sendo analisadas 24 horas após o momento da colheita; b) T1 - hastes submetidas a quatro horas de acondicionamento em água destilada (analisadas 28 horas após o momento da colheita); c) T2 - hastes condicionadas por quatro horas em solução de fortificação com sacarose a 3%. O experimento foi conduzido em (DIC) sendo composto por 3 tratamentos representados por 5 repetições. As análises foram compostas por variação da massa fresca das hastes florais e análises destrutivas da lígula e de fragmento de 10 cm do caule das hastes referentes a teor relativo de água, açúcares solúveis totais, amido e compostos fenólicos oligoméricos, dímeros, poliméricos. Entre os tratamentos não foi observada variação na massa fresca comportamento que não se repetiu na determinação do teor relativo de água mensurado nas lígulas, apresentando maior percentual em hastes tratadas com sacarose 96,97% enquanto que nas tratadas em água apresentaram 85,75%, porém o mesmo não foi verificado no teor relativo de água nas hastes, não tendo sido observada diferenças entre os tratamentos. O percentual de SST nas lígulas apresentou aumento significativo em hastes florais mantidas em água, porém nas hastes, não mostrou efeito significativo, porém, as hastes tratadas em sacarose apresentaram decréscimo na concentração. O percentual de amido e compostos fenólicos na lígula e nas hastes não apresentou variação. Nas condições analisadas no experimento, a solução sacarose influenciou na variação da massa fresca e SST.

Palavras Chave: Crisântemo, Pós-colheita, Solução de fortificação.

## **Alterações físicas e físico-químicas em *Heliconia bihai* L. após tratamento com solução de fortificação em sacarose.**

Robson Assunção Cavalcante<sup>1</sup>; José Luiz Mosca<sup>2</sup>; Juliana Nascimento da Costa<sup>1</sup>; Maria Nenmaura Gomes Pessoa<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará – Departamento de Fitotecnia, <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza - CE (agrobson@gmail.com).

Este trabalho objetivou identificar possíveis alterações físicas e físico-químicas após tratamento com solução de fortificação com sacarose em brácteas e região periférica e externa do caule de hastes florais de *Heliconia bihai*. O material estudado foi colhido no início da manhã em área de produção localizada na região do Maciço de Baturité -CE. Após a colheita, o material foi hidratado e transportado para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, localizado em Fortaleza – CE. As hastes ficaram armazenadas à seco até completar 24h após a colheita, para então serem submetidas aos seguintes tratamentos: a) T0 – hastes utilizadas como testemunhas, sendo analisadas 24h após o momento da colheita; b) T1 - hastes submetidas a quatro horas de acondicionamento em água destilada (analisadas 28h após o momento da colheita); c) T2 - hastes condicionadas por quatro horas em solução de fortificação com sacarose a 30%. O experimento foi conduzido no DIC sendo composto por 3 tratamentos e 5 repetições. As análises foram compostas por variação da massa fresca das hastes florais e análises destrutivas das brácteas e de fragmentos de 10cm da região periférica e externa do caule das hastes florais referentes a teor relativo de água, sólidos solúveis totais, amido e compostos fenólicos oligoméricos, dímeros, poliméricos. As hastes submetidas a solução de sacarose não apresentaram diferenças significativas em variação da massa fresca, no teor relativo de água das hastes e brácteas, do percentual de SST. A região periférica das hastes apresentou maior percentual de amido (3,35%), porém, não apresentou variação após o tratamento e nem diferença significativa entre tratamentos. O percentual de compostos fenólicos oligoméricos apresentou acréscimo na região periférica do caule após o tratamento em água. Nas condições e parâmetros avaliados neste experimento não foi possível identificar efeito benéfico da utilização da sacarose em solução de fortificação para flores de corte de *Heliconia bihai*.

Palavras chave: Floricultura tropical, Pós-colheita, Solução de fortificação.

## **Efeitos de diferentes tratamentos na pós colheita de Gérbera ( *Gérbera jamensonii* ) de corte.**

Laschi, D<sup>1</sup>.; Hulshof, T<sup>1</sup>.; Carribeiro, L.S<sup>1</sup>.; Pires, N. C. da C<sup>1</sup>.; Sanches, L. V. C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Produção Vegetal-horticultura/FCA-Unesp;CX Postal 237;CEP 18.603-970;Botucatu;SP;Brasil;Email:laschi@fca.unesp.br

### **1.INTRODUÇÃO**

O gênero *Gérbera* tem origem na África do Sul na Província do Transval, por isso, também é conhecida como “Margarida do Transval”. Inclui mais de 30 espécies de plantas herbáceas perenes, é comumente utilizada para fins comerciais sendo originada a partir de cruzamentos genéticos de híbridos. Pertence a família asteraceae, possui porte herbáceo, podendo atingir até cerca de 40cm de altura. As folhas são basais e as flores reunidas em capítulos solitários, multiflores, medindo cerca de 10cm de diâmetro. São intensamente coloridos, variando de branco a vermelho e sua morfologia é bastante variável. A floração ocorre o ano todo, tendo o seu auge no final do inverno e início da primavera. É considerada a quinta flor de corte mais vendida no mundo.

São muito populares e muito utilizadas como plantas decorativas de exterior e para produção de flores de corte, porém as hastes florais destinadas ao mercado não dependem apenas da qualidade estética e produção, mas também da vida útil pós-colheita (HALEVY & MAYAK, 1979). A longevidade pós-colheita das flores de corte pode ser melhorada pelo tratamento com conservantes que mantêm a qualidade e prolongam a vida das hastes florais, pelo fornecimento de açúcares e germicidas diluídos em água, para proporcionar a hidratação e translocação nos tecidos (GONZAGA et al., 2001).

Segundo MORAES et al., (1999) a turgescência associadas a soluções com conservantes é necessária para o desenvolvimento dos botões florais e da continuidade da atividade metabólica da flor cortada. Os açúcares desempenham papel importante na manutenção da qualidade de flores de corte, pois quantidade de açúcares nelas contida é limitada (ICHIMURA, 1999). Dentre os açúcares utilizados destaca-se a sacarose, que segundo CASTRO et al., (1982), tende a favorecer o balanço hídrico das flores cortadas, acumulando-se nas flores, aumentando a concentração de solutos osmoticamente ativos e, conseqüentemente, favorecendo a manutenção da turgescência das pétalas.

As soluções conservantes podem ser um meio de conservação da longevidade das hastes em tratamentos de pós-colheita, utilizam-se normalmente a mistura de produtos, principalmente, açúcares e germicidas, podendo-se incluir outros ingredientes.



O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes conservantes combinados com o uso de refrigeração em pós-colheita de hastes de gérbera.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório do Departamento de Produção Vegetal/Horticultura da FCA/ UNESP/Botucatu. O experimento foi instalado no dia 29 de maio de 2006. Hastes de gérberas da variedade Dakota (de coloração branca), foram obtidas em Paranapanema-SP. Os tratamentos conservantes utilizados foram: T1: água de torneira (testemunha); T2: solução de Sulfato de Prata 5mg/L + 4% sacarose; T3: Sulfato de Prata 10mg/L + 4% sacarose; T4: Solução de Hipoclorito 0,6 ml/L; T5: Solução de Hipoclorito 0,3 ml/L. Hastes submetidas aos tratamentos 1, 2 e 3 permaneceram na solução por 24h, enquanto que hastes tratadas com hipoclorito de sódio (T4 e T5) permaneceram nesta solução por quatro horas. Nas 24 horas após o início dos tratamentos, todas as hastes foram mantidas em câmara fria. Após este período, metade das hastes foi retirada da câmara fria e colocada em recipientes contendo 500ml de água corrente. A outra metade das hastes permaneceu na câmara fria por mais dois dias (três dias de câmara fria), depois deste período estas hastes foram submetidas ao mesmo procedimento descrito acima. As avaliações foram diárias e feitas de acordo com a tabela de avaliações de gérbera (Tabela 1). A cada dois dias foi realizado o corte das bases das hastes e a troca da água dos recipientes.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco soluções e dois períodos de refrigeração, perfazendo oito tratamentos, cada tratamento com cinco repetições e cinco hastes por repetição.

**Tabela 01. Avaliação pós-colheita de gérberas:**

Notas	Aspecto visual
5	Pétalas com coloração boa, com brilho, haste ereta e firme
4	Pétalas com manchas e queimaduras nas bordas de até 10%
3	Pétalas com manchas e queimaduras nas bordas de até 30%
2	Pétalas com manchas e queimaduras nas bordas de até 50%
1	Pétalas com manchas e queimaduras nas bordas de até 70% - descarte

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gráficos abaixo contem dados relativos a notas obtidas pelas hastes de gérbera, ao longo da condução do experimento.

No gráfico 01 apresenta-se o comportamento de hastes mantidas em câmara fria por um dia. Observa-se que o tratamento com hipoclorito de sódio (300ml/L), manteve as hastes com boa qualidade de comercialização (notas 5 e 4) por mais tempo. Enquanto que os outros tratamentos testados apresentaram comportamentos semelhantes.

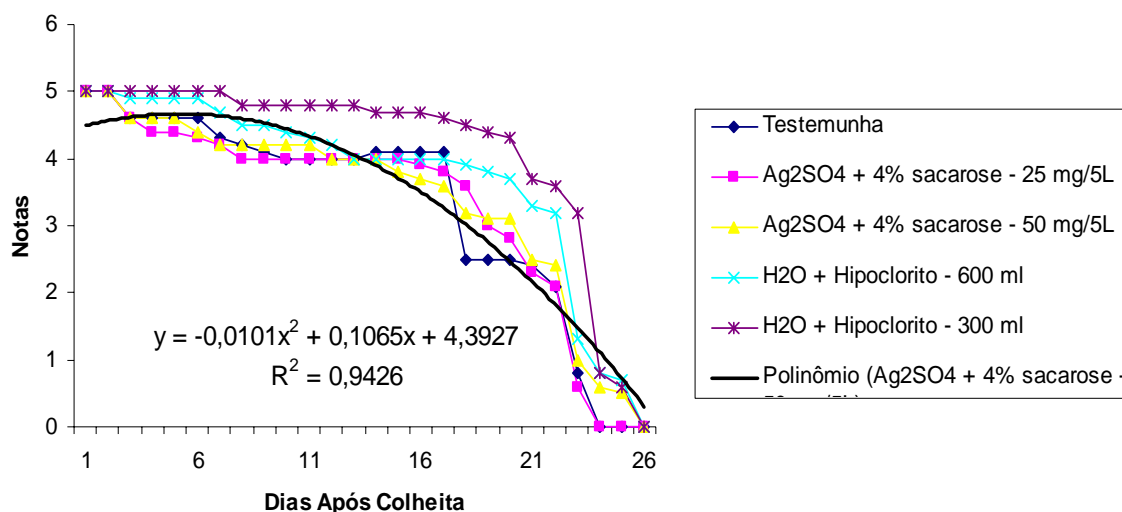


Gráfico 01. Notas dadas às hastes de gérbera, armazenadas por um dia em câmara fria, no decorrer do experimento. Botucatu-2007.

No gráfico 02, os dados referem-se ao comportamento pós-colheita, em relação a nota, de hastes de gérbera mantidas por três dias em câmara fria. Observa-se que nestas condições, o uso hipoclorito de sódio na concentração de 300mL/L, apesar de manter notas maiores por mais tempo, não teve muita diferença quando comparado ao mesmo produto em concentração maior (600mL/L).

O uso de outros conservantes (sacarose e sulfato de prata) não apresentou respostas satisfatórias, assemelhando-se bastante à testemunha, especialmente em armazenamento refrigerado por três dias.

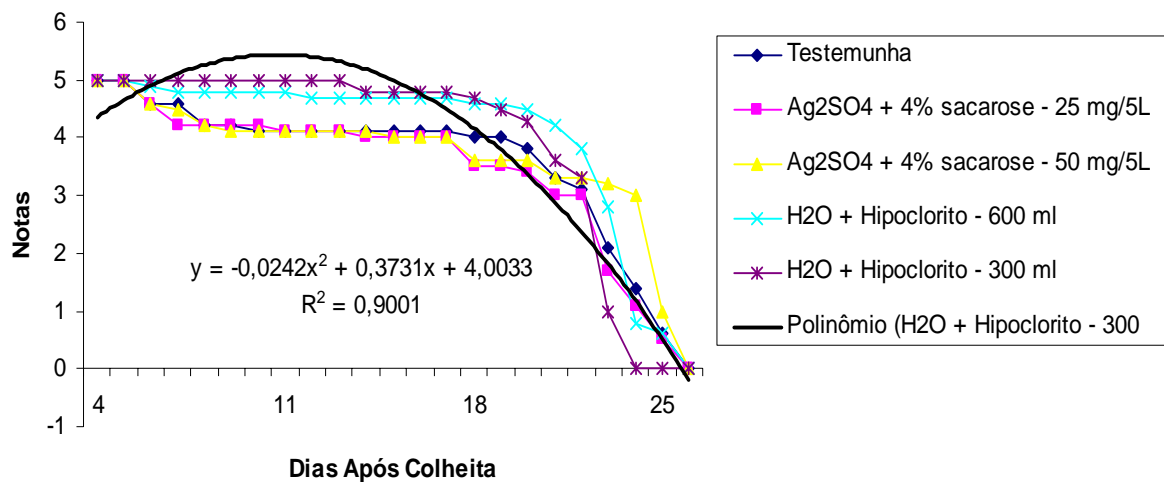


Gráfico 01. Notas dadas às hastes de gérbera, armazenadas por três dias em câmara fria, no decorrer do experimento. Botucatu-2007.

A tabela 02 contém médias relativas a número de dias de vida de vaso, das hastes de gérbera avaliadas. Nota-se, através dos resultados obtidos, que apesar do gráfico de notas indicar que o uso de hipoclorito de sódio (300mL/L) manteve as hastes com qualidade por maior tempo, este resultado não se refletiu no número de dias. Este resultado indica que é necessário, em trabalhos pós-colheita, não apenas o número de dias até o descarte das hastes avaliadas, mas como estes tratamentos interferem na manutenção da qualidade.

Tabela 02. Número de dias de vaso de hastes de gérbera, submetidas aos tratamentos pós-Colheita. Botucatu-2007.

Tratamentos	Um dia de câmara. fria	Três dias de câmara fria
TESTEMUNHA	23,0 B	25,0 A
Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 25mg/5L + 4% sac	23,0 B	25,0 A
Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50mg/5L + 4% sac	25,0 A	25,0 A
H <sub>2</sub> O Mais Hipoclorito 0,6 ml/L	25,0 A	25,0 A
H <sub>2</sub> O Mais Hipoclorito 0,3 ml/L	25,0 A	23,0 B
Média	<b>22,4</b>	<b>23,52</b>

#### 4. CONCLUSÕES:

- Os tratamentos com solução de hipoclorito de sódio (0,6 e a 0,3 ml/L) mantiveram a qualidade das flores por mais tempo que os demais tratamentos.
- O uso de sulfato de prata combinado com sacarose, apesar de resultar em maior longevidade das hastes, não conseguiu manter a qualidade destas, já que as curvas de notas ao longo do experimento obtidas nestes tratamentos se assemelharam muito com a testemunha, nos dois tempos de armazenamento.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C.E.F. de ; VIDIGAL, J.C.; GARCIA, J.L.M. Efeito da sacarose e do nitrato de prata na durabilidade de rosas cultivar "Pascali". **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, p. 161-177,1982

HAVELY, A.H. & MAYAK, S. Senescence and post harvest physiology of cut flowers – part 1. **Horticulture Review**. Westport, v.1, p. 204-236, 1979.

MORAES, P.J. Efeito da refrigeração e do "pulsing" com sacarose sobre o teor relativo de água nas sépalas das flores de ave-do-paraiso (*Strelitzia reginae* Ait.) In:  
CONGRESSO  
BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS. **Anais**  
Jaboticabal, p.33, 1999

6. PALAVRAS-CHAVES: Gérbera, pós-colheita, conservantes e refrigeração.

## **Pós-colheita de rosas: cv. Vegas e Sayonara.**

Pereira, Gabriela.L.<sup>1</sup>; Dias-Tagliacozzo, Gláucia .M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>;aluna de graduação- Esalq – USP – Av. Pádua Dias, 11 CP 9 13418-9000 – Piracicaba, SP – (19) 3429-4100 – [glpereir@esalq.usp.br](mailto:glpereir@esalq.usp.br).

<sup>2</sup> Pesquisadora - IAC – Centro de Engenharia e Automação - Rod. Gabriel Paulino Bueno Couto, Km 65 – 13021-970 – Jundiaí, SP- (11) 45828155- [glaucia@iac.sp.gov.br](mailto:glaucia@iac.sp.gov.br)

### **INTRODUÇÃO**

A rosa, de diferentes cultivares, é uma das principais flores de corte comercializadas no país. Mesmo com o manejo adequado no campo, a qualidade do produto que chega ao mercado consumidor está intimamente ligada aos tratos pós-colheita.

O presente trabalho teve como objetivos: a) avaliar a pós-colheita de rosas, cultivar Sayonara, que está sendo introduzida no mercado e comparar com a cultivar Vegas, uma das mais tradicionais no mercado. b) avaliar a eficácia da solução comercial e da solução manipulada em laboratório na manutenção da vida pós-colheita das rosas.

### **METODOLOGIA**

As flores para esse trabalho foram obtidas de um produtor na cidade de Caldas – MG. Rosas das cultivares “Vegas” e “Sayonara”, produzidas em estufas, com hastes de 50cm, foram utilizadas neste trabalho. As hastes colhidas receberam o tratamento na propriedade e foram transportadas para o laboratório de Pós Colheita do IAC, onde foram conduzidos os experimentos em duas fases. A temperatura ambiente no laboratório apresentou máxima de 27°C e mínima de 25°C.

Na primeira fase, foram estabelecidos os seguintes tratamentos: 1) Água; 2) Sacarose à 2% e ácido cítrico à 350mg.L<sup>-1</sup>; 3) Sacarose a 4% e ácido cítrico à 350 mg.L<sup>-1</sup>; 4) Sacarose à 8% e ácido cítrico à 350 mg.L<sup>-1</sup>; 5) Flower à 10%. As hastes foram colocadas nos tratamentos imediatamente após a colheita. Permaneceram nas soluções por 24 hs à temperatura ambiente, com exceção do tratamento com Flower em que as hastes permaneceram por 48 hs na solução com a intenção de aproximação ao tempo médio a que são submetidas ao produto normalmente durante a comercialização.

Após esse tempo as hastes foram cortadas na base e foram distribuídas por delineamento inteiramente casualizado em vasos contendo apenas água. Foram utilizadas quatro repetições de cinco hastes cada uma, totalizando 100 hastes de cada cultivar. A cada dois dias a água dos vasos foi trocada e para cada repetição foi atribuída uma nota, para avaliação de seus aspectos qualitativos (cor das pétalas, turgescência da flor, amarelecimento das folhas, turgescência das hastes e coloração das sépalas), de acordo com os seguintes critérios: cor das pétalas: nota 2 = cor viva; nota 1 = cor levemente desbotada. Turgescência das pétalas: nota 2 = túrgida; nota 1 = levemente murcha; nota 0 = murcha. Amarelecimento das folhas: nota 1 = folhas com coloração viva; nota 0 = folhas amareladas. Turgescência das hastes: nota 2 = túrgida; nota 1 = levemente murcha; nota 0 = murcha. Coloração das sépalas: nota 2 = cor viva; nota 1 = cor levemente desbotada.

Com o objetivo de avaliar a perda de peso as repetições foram pesadas a cada dois dias, nestes dias também foram avaliados o número de plantas com pedúnculo curvado de cada tratamento e a abertura dos botões de acordo com os seguintes estágios: estágio 1 = botões totalmente fechados; estágio 2 = início do desprendimento das pétalas; estágio 3 = botões parcialmente abertos; estágio 4 = botões totalmente abertos.

A segunda fase teve o objetivo de avaliar as hastes mantidas em soluções de “pulsing” por 48h e soluções conservantes.

Foram estabelecidos os seguintes tratamentos: Manutenção: 1) Água; “Pulsing” 2) Flower (48h); 4) Sacarose a 4% e Ácido cítrico à 350 mg.L<sup>-1</sup> (48h); 3) Flower constante (manutenção com Flower durante toda a fase); 5) Solução de manutenção contendo 1% de água sanitária, sacarose à 2% e ácido cítrico à 150 mg.L<sup>-1</sup>. “As hastes foram colocadas nos tratamentos imediatamente após a colheita e mantidas sob refrigeração de 5°C durante 48h. Esse procedimento foi feito com o objetivo de simular exatamente o que ocorre no processo de comercialização de rosas

Após o tratamento de “pulsing” foram transportadas para o laboratório onde as hastes tiveram 5cm da base cotada e a seguir foram distribuídas em vasos Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições com cinco hastes cada uma, totalizando 100 hastes de cada cultivar.

As hastes dos tratamentos 1,2 e 4 foram colocadas em vasos contendo apenas água que foi trocada a cada dois dias, e as hastes dos tratamentos 3 e 5 foram mantidas nas soluções durante todo o experimento.

Para cada repetição foi atribuída uma nota conforme descrito na fase anterior.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Observou-se que a cv. sayonara tem longevidade menor que a cv. vegas.

Para as variáveis coloração das pétalas e das sépalas, amarelecimento das folhas, turgescência das hastes e média das perdas de peso, não foram observadas diferenças entre os tratamentos em nenhum dos experimentos e em nenhuma das cultivares.

Na fase 1, para as duas cultivares o melhor tratamento foi o de 4% de sacarose, considerando-se melhores resultados quanto à abertura de botões e à característica de pedúnculo curvado (Figura 1 e 2), além do aspecto visual, razão pela qual esse tratamento foi repetido no segundo experimento.

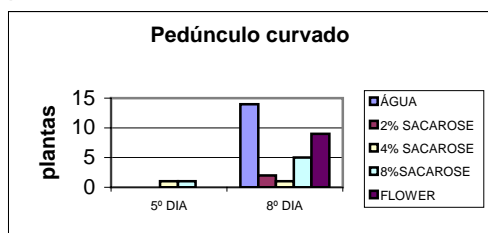


Figura 1: Número de plantas com pedúnculo curvado. Cultivar Sayonara

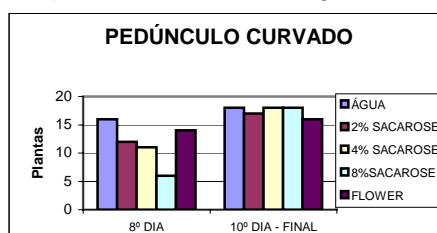


Figura 2: Número de plantas com o pedúnculo curvado. Cultivar Vegas.

Quanto à abertura dos botões na cultivar “Vegas”, tanto na primeira quanto na segunda fase, as diferentes soluções conservantes não influenciaram significativamente na abertura dos botões. O que se observou é que, na primeira fase, as plantas submetidas a 4% estavam visivelmente com um aspecto melhor e, na segunda, os botões abriram mais rapidamente quando submetidos ao tratamento de 48h com “Flower”.

Para a cultivar “Sayonara”, observou-se que o tratamento com 4% de sacarose mostrou-se mais favorável em relação à característica de pedúnculo curvado na primeira fase e o tratamento com água apresentou maior número de plantas com essa característica. Já na segunda fase o tratamento com solução conservante preparada apresentou o maior número de plantas com pedúnculo curvado e o tratamento com Flower 48h não apresentou nenhuma planta com tal característica.

Na primeira fase, não se observou diferença entre os tratamentos na abertura dos botões da cultivar “Sayonara”, somente que o tratamento com 4% de sacarose foi que apresentou maior número de botões totalmente abertos. Na segunda fase, o tratamento com solução de manutenção preparada apresentou grande número de plantas que murcharam com os botões ainda fechados e, nos demais tratamentos não se observou diferença significativa quanto a essa característica de abertura dos botões.

Quanto à turgescência das flores, na primeira fase as plantas da cultivar “Sayonara” não apresentaram diferença entre os tratamentos e, na segunda fase, o tratamento com 4% de sacarose manteve uma boa turgescência das flores. Os tratamentos com solução de manutenção preparada e com Flower constante foram os que menos mantiveram essa turgescência.

Na segunda fase, para a cultivar “Sayonara” não houve um tratamento que tenha se destacado de forma significativa, porém, os tratamentos com solução de manutenção preparada e Flower constante foram os que apresentaram os menores resultados (figura 3). Para a cultivar Vegas, o tratamento com 4% de sacarose foi o que apresentou resultados mais satisfatórios, principalmente quanto à turgescência da flor e ao aspecto visual ( Figura 4).

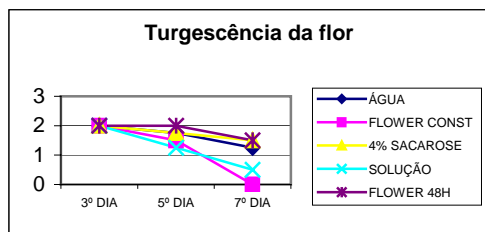


Figura 3: Média das notas de turgescência das flores. Cultivar Sayonara.

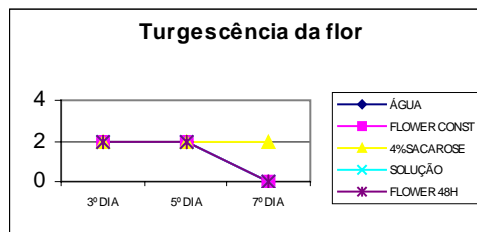


Figura 4: Média das notas de turgescência das flores. Cultivar Vegas.

## CONCLUSÃO

Para a cultivar Vegas o produto Flower deve ser usado por 48hs e, não recomenda-se o uso deste produto como solução de manutenção. Solução de pulsing contendo sacarose a 4% e ácido cítrico à 350 mg.L<sup>-1</sup> podem ser usadas em substituição ao Flower.

Para a cultivar Sayonara não foi possível estabelecer uma solução conservante com os testes realizados e novos testes devem ser realizados com esse objetivo.

A cultivar Vegas apresentou, de uma forma geral, maior durabilidade em relação a cultivar Sayonara.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASTRO. C.E.F. Armazenamento de flores. **Casa da Agricultura**, v.7, n.4, p. 18-21, 1985.
- CASTRO, C.E.F. **Helicônias como flores de corte: adequação de espécies e tecnologia pós-colheita**. 1993. 191f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.
- FERNANDO FINGER, UFV. Comunicação pessoal (2007).
- GARIBALDI, E. A. e DEAMBROGIO, F. Effect of sucrose on Postharvest physiology of rose cv.. “Serena”. II International Symposium on the Development of New Floricultural Crops.
- HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Improved of cut flower quality opening and longevity by pre-shipment treatments. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.43, p. 335-347, 1974.
- HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. Part 2. **Horticultural Reviews**, New York, v.3, p. 59-143, 1981.
- HALEVY, A.H.; KOFRANEK, A.M.; BESEMER, S.T. Postharvest handling methods for bird-of-paradise (*Strelitzia reginae* Ait). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, New York, n.103, p. 165-169, 1978a.
- HALEVY, A.H.; BYRNE, T.G.; KOFRANEK, A.M.; FARNHAM, D.S.; THOMPSON, J.F.; HARDENBURG, R.E. Evaluation of postharvest handling methods for transcontinental truck shipments of cut carnations, chrysanthemum, and roses. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, New York, n.103, p. 151-155, 1978b.

- HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florists and nursery stocks.** Washington: U.S.D.A., Agricultural Research Service, 1990, 130p.
- MOE, R.; KRITOFFERSEN, T. The effect of temperature and light on growth and flowering of Rosa "Baccarah" in greenhouses. **Acta Horticulturae**, v.14, p. 157-165, 1969.
- MOR, Y.; JOHNSON, F.; FARAGHER, J.D. Preserving the quality of cold-stored Rose flower with ethylene antagonists. **HortScience**, Alexandria, v.24, n.4, p.640-641, 1989.
- NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plants.** Portland: Timber Press, 1990, 210p.
- NOWAK, J.; GOSZCZYNSKA, M.D.; RUDNICKI, R.M. Storage of cut flowers and ornamental plants: present status and future prospects. Postharvest News and Information. **Research Institut of Pomology and Floriculture**, Skierniewice, v.2, n.4, p. 255-260, 1991.
- OLIVEIRA, M.J.G. **Manual sobre Pós-colheita de rosas**, Holambra – São Paulo. Veiling Holambra, 1995, 42p.
- PRINCE, T.A.; CUNNINGHAM, M.S. Response of tubers of begonia x tuberhybrida to cold temperatures, ethylene, and low-oxygen storage. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.2, p.252-254, 1987.
- SALINGER, J.P. **Procucción comercial de flores.** Zaragoza: Acribia, p.371, 1991.
- TJIA, B.; MAROUSKY, F.J.; STAMPS, R.H. Response of cut Gerbera flowers to fluoridated water and floral preservative. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.5, p.896-897, 1987.
- VAN DOORN, W.G. Water relations of cut flowers. II. Some species of tropical provenance. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.482, 1999.
- VAN DOORN, W.G.; WITTE, Y.D. Effect of dry storage on bacterial counts in stems of cut rose flowers. **HortScience**, Virginia, v.12, n.26, p.1521-1522, 1991.

#### PALAVRAS-CHAVE

Rosa sp.; pós-colheita; soluções de condicionamento



## Potencial ornamental de hastes de priprioca (*Cyperus articulatus*).

Robles, Rafael Capello<sup>1\*</sup>; Matthes, Luiz Antônio Ferraz<sup>2</sup>; May, André<sup>3</sup>; Dias-Tagliacozzo, Gláucia M.<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup>, IAC - Centro de Horticultura - Av. Barão de Itapura, 1481, Caixa Postal 28, CEP 13001-970, Campinas, SP – (19) 32419091 – e-mails: ; <sup>1</sup>[rafael.robles@agr.unicamp.br](mailto:rafael.robles@agr.unicamp.br) <sup>2</sup>[matthes@iac.sp.gov.br](mailto:matthes@iac.sp.gov.br) ; <sup>3</sup>[amay@iac.sp.gov.br](mailto:amay@iac.sp.gov.br);

<sup>4</sup> IAC – Centro de Engenharia e Automação - Rod. Gabriel Paulino Bueno Couto, km 65 – 13021-970 – Jundiaí, SP - (11) 45828155 – e-mail: [glaucia@iac.sp.gov.br](mailto:glaucia@iac.sp.gov.br)

### INTRODUÇÃO

A espécie *Cyperus articulatus*, conhecida vulgarmente com priprioca, planta da família das *Cyperaceae*, a mesma do junco e do papiro, ocorre em solos encharcados da região amazônica do Estado do Pará (SANTOS *et al*, 2003), onde é utilizada pela população local como contraceptivo, analgésico e no tratamento de diarreias. Mais recentemente está sendo utilizada, por uma grande empresa do mercado nacional, na produção de óleos essenciais devido ao agradável aroma do óleo essencial obtido dos seus rizomas (ZOGHBI *et al*, 2003).

Durante o processo de obtenção deste óleo, a parte aérea da planta, que possui potencial ornamental, é descartada. Visando aproveitar as hastes de *Cyperus articulatus* que são descartadas durante o processo de obtenção do óleo essencial, esse trabalho tem como objetivos: avaliar o potencial ornamental da priprioca e fazer uma relação comparativa com outras espécies da família das *Cyperaceae* comercializadas no mercado de ornamentais, possibilitando assim, agregação de valor à cultura da priprioca.

### METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido em três fases. Em todas as fases descritas a seguir as para se determinar a massa fresca as hastes foram pesadas e mantidas em água (trocada a cada dois dias) até senescerem. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições, que continham três hastes por repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade.

Fase-1 (Caracterização do Material): Avaliou-se a longevidade, a perda de massa fresca e os principais sinais de senescência das hastes. Após a constatação da capacidade ornamental das hastes, elaborou-se o critério de notas a seguir para avaliação da manutenção da qualidade da priprioca.

Nota 3 – hastes túrgidas, verdes e eretas.

Nota 2 – hastes túrgidas, com regiões de amarelecimento e eretas.

Nota 1 – hastes com perda da turgidez, totalmente amarelecidas e apresentando curvatura.

Nota 0 – hastes murchas (secas), curvadas, descarte.

Nas fases seguintes foi considerado como índice de durabilidade comercial: média igual ou superior a 2.

Fase-2 (Ponto de Colheita): Na primeira etapa foram avaliados dois estádios de desenvolvimento (hastes novas e hastes velhas). Na segunda etapa, visto que as hastes velhas apresentaram durabilidade comercial muito curta, foram avaliadas hastes novas e hastes intermediárias.

Hastes novas são caracterizadas por possuírem aproximadamente 1,0 m de comprimento, apresentarem as flores no estágio inicial de abertura e possuírem coloração clara. As hastes intermediárias são as que apresentam comprimento não superior a 1,50 m, com todas as flores totalmente abertas apresentando coloração mais escura. As hastes velhas apresentam comprimento superior a 1,50 m e coloração das flores bastante escuras.

---

\* Agradecimentos: agradecemos ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida ao estagiário Rafael Capello Robles, orientado de Gláucia Dias-Tagliacozzo

Fase-3 (Comparação Junco - Priprioca): Nesta fase foram realizados testes comparativos com outras espécies da família das *Cyperaceae* que já possuem um potencial ornamental e, junto às floriculturas, analisou-se o resultado ornamental das hastes de priprioca em arranjos florais através da estética dos arranjos e das respostas assinaladas no questionário proposto (Figura 1).

**Questionário de avaliação do potencial ornamental da Priprioca**  
(*Cyperus Articulatus*)

Nome do entrevistado: \_\_\_\_\_  
 Nome da Floricultura: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1- Podem-se substituir as hastes de junco pelas hastes de priprioca?  
 Sim  Não

Se não qual o motivo?  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

2- A priprioca é fácil de se manusear?  
 Sim  Não

Se não qual o motivo?  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

3- Como é preferível utilizar as hastes de priprioca nos arranjos?  
 Inteiras com as flores  Só as hastes sem as flores

Comentários: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

4- Como você classificaria o resultado final da priprioca nos arranjos?  
 Ruim  Razoável  Bom  Ótimo

Comentários: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

5- Quanto tempo, com aspecto comercial, as hastes de Priprioca duraram nos arranjos?  
 7 dias  Entre 7 e 15 dias  15 dias

Comentários: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

6- Como você classificaria esta durabilidade comercial?  
 Ruim  Aceitável  Ótima

Comentários: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

7- Em qual comprimento você prefere receber e manusear as hastes?  
 0,50 m  1 m  1,5 m (máximo)

Comentários: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Figura 1: Questionário fornecido às floriculturas para avaliação do potencial ornamental da priprioca.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fase-1 (Caracterização do Material): A longevidade pós-colheita foi de 16 dias e após este período ocorreu 25% de perda de massa fresca em relação ao início das análises.

Fase-2 (Ponto de Colheita): Na primeira etapa desta fase, concluiu-se, que para se atingir uma maior durabilidade pós-colheita das hastes priprioca, as mesmas não poderiam estar no seu ponto de desenvolvimento máximo, ou seja, acima de 1,50 m e com as flores escurecidas, pois as hastes novas obtiveram durabilidade comercial 45% maior se comparadas com as hastes velhas.

Na segunda etapa compararam-se hastes novas e intermediárias. As hastes novas possuíam tamanho médio de aproximadamente 0,90 m e as hastes intermediárias 1.30 m. Observou-se que não há diferença significativa entre os pontos de colheita analisados (figura 2), ficando a critério do mercado qual o melhor tamanho das hastes para a comercialização da priprioca.

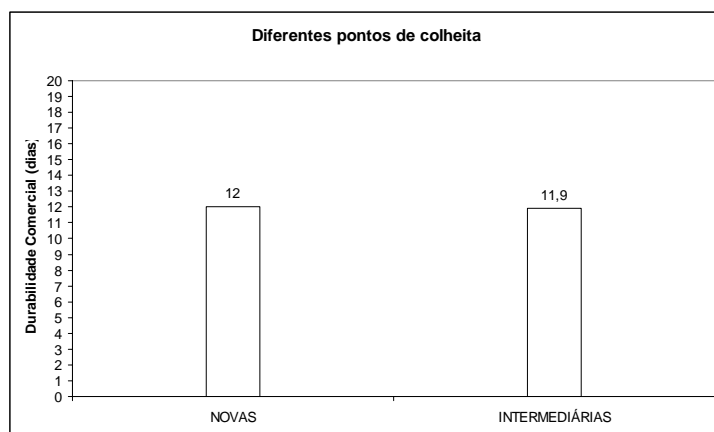


Figura 2. Durabilidade comercial (dias) de hastes de priprioca em dois pontos de colheita. Não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Fase-3 (Comparação Junco - Priprioca): Nesta fase comparou-se a durabilidade comercial da priprioca com duas variedades comerciais de junco. Pode-se perceber que não houve diferença significativa na durabilidade comercial entre a priprioca e as variedades de junco mais utilizadas comercialmente (Figuras 3 e 4).

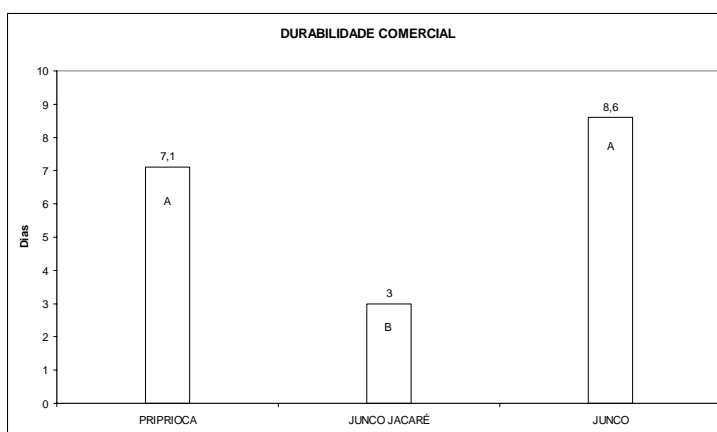


Figura 3. Durabilidade comercial (dias) de hastes de priproica, junco e junco jacaré. Médias com a mesma letra não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



Figura 4. (Da direita para a esquerda) Hastes de priproica, junco jacaré e junco.

Outra etapa desta fase foi analisar o resultado ornamental das hastes de priprioca em arranjos florais, junto às floriculturas. Seis floriculturas foram contatadas, respondendo o questionário da figura 1 e tendo seus arranjos fotografados (Figura 5).



Figura 5. Arranjos florais contendo hastes de priprioca.

Em relação às perguntas do questionário, todas as floriculturas responderam que as hastes de priprioca podem substituir as de junco em arranjos florais e que são fáceis de se manusear. Já quando questionadas quanto à forma preferível de se utilizar as hastes de priprioca nos arranjos, 3 preferiram as hastes tanto com, quanto sem flores e 3 preferiram as hastes somente sem as flores. Em relação ao resultado final dos arranjos 5 floriculturas classificaram-no como bom e 1 classificou como ótimo. A durabilidade comercial das hastes foi de 7 a 15 dias e todas as floriculturas classificaram esta durabilidade como adequada para os arranjos.

## CONCLUSÃO

A priprioca tem potencial ornamental e pode ser utilizada comercialmente em substituição ao junco visto que, apresentou durabilidade igual a este e obteve aceitação das floriculturas nos arranjos florais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SANTOS, P.P.; MACEDO, E.G.; SILVA, R.J.F.; POTIGUARA, R.C.V. Anatomia de Rizomas, Colmo e Folhas de *Cyperus articulatus* L. (*Cyperaceae*). ([www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/r0176-2.htm](http://www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/r0176-2.htm)), 54º congresso nacional de botânica, 2003. Acesso em: 18 dez. 2006

ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; CARREIRA, L.M.M.; OLIVEIRA, J.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; ROCHA, A.E.S. Composição Química dos Óleos Essenciais de Priprioca (*Cyperus articulatus* L. e *Kyllinga* sp.) no Estado do Pará. ([www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0935-2.htm](http://www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0935-2.htm)), 54º congresso nacional de botânica, 2003. Acesso em: 18 dez. 2006

## PALAVRAS CHAVE

*Cyperus articulatus*, Priprioca, potencial ornamental.

## Efeito do GA<sub>3</sub> e de diferentes períodos sem hidratação após a colheita na durabilidade comercial de hastes de priprioca (*Cyperus articulatus*).

Robles, Rafael Capello<sup>1\*</sup>; Matthes, Luiz Antônio Ferraz<sup>2</sup>; May, André<sup>3</sup>; Dias-Tagliacozzo, Gláucia M.<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup> IAC - Centro de Horticultura - Av. Barão de Itapura, 1481, Caixa Postal 28, CEP 13001-970, Campinas, SP – (19) 32419091 – e-mails: ; <sup>1</sup>[rafael.robles@agr.unicamp.br](mailto:rafael.robles@agr.unicamp.br) <sup>2</sup>[matthes@iac.sp.gov.br](mailto:matthes@iac.sp.gov.br) ; <sup>3</sup>[amay@iac.sp.gov.br](mailto:amay@iac.sp.gov.br);

<sup>4</sup> IAC – Centro de Engenharia e Automação - Rod. Gabriel Paulino Bueno Couto, km 65 – 13021-970 – Jundiaí, SP - (11) 45828155 – e-mail: [glaucia@iac.sp.gov.br](mailto:glaucia@iac.sp.gov.br)

### INTRODUÇÃO

A espécie *Cyperus articulatus*, conhecida vulgarmente com priprioca, planta da família das *Cyperaceae*, a mesma do junco e do papiro, ocorre em solos encharcados da região amazônica do Estado do Pará (SANTOS *et al.*, 2003), onde é utilizada pela população local como contraceptivo, analgésico e no tratamento de diarreias. Mais recentemente está sendo utilizada, por uma grande empresa do mercado nacional, na produção de óleos essenciais devido ao agradável aroma do óleo essencial obtido dos seus rizomas. (ZOGHBI *et al.*, 2003)

Durante o processo de obtenção deste óleo, a parte aérea da planta, que possui potencial ornamental, é descartada. Visto que giberelinas utilizadas em soluções de condicionamento contribuíram para retardar o amarelecimento de folhas de hastes florais cortadas (NOWAK & MYNETT, 1985; SONG *et al.*, 1996; JORDI, *et al.*, 1995) retardando efetivamente a senescência foliar (KAPPERS *et al.*, 1997) e efeitos semelhantes foram observados por GOSZYNSKA & MICHALCZUC (1988) em *Alstroemeria*, NOWAK *et al.* (1991) em mini-gadíolos e DIAS-TAGLIACOZZO *et al.* (2005) em lírio, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do GA<sub>3</sub> e do período sem hidratação em hastes de priprioca.

### METODOLOGIA

As hastes de priprioca utilizadas no presente trabalho foram coletadas no campo experimental do IAC, na Fazenda Santa Elisa. O trabalho foi desenvolvido em quatro fases e para a avaliação da manutenção da qualidade de hastes de priprioca nas diversas fases foi utilizado o critério de notas, descrito a seguir:

Nota 3 – hastes túrgidas, verdes e eretas.

Nota 2 – hastes túrgidas, com regiões de amarelecimento e eretas.

Nota 1 – hastes com perda da turgidez, totalmente amarelecidas e apresentando curvatura.

Nota 0 – hastes murchas (secas), curvadas, descarte.

Foi considerado como índice de durabilidade comercial: média igual ou superior a 2.

Fase-1 (Ácido Giberélico): Visando solucionar o amarelecimento das hastes de priprioca foram testadas soluções de *pulsing* por 24h, contendo diferentes concentrações do ácido giberélico (0, 50, 100 e 200 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>).

Fase-2 (Tempo sem hidratação): Com o objetivo de se determinar qual a influência que o período sem hidratação após a colheita tinha sobre a durabilidade comercial de hastes de priprioca foram testados seis tratamentos diferentes: Controle (imediate hidratação após a colheita), meia hora sem hidratação, uma hora sem hidratação, duas horas sem hidratação, três horas sem hidratação e 24 horas sem hidratação.

Fase-3 (Ácido Giberélico associado ao tempo sem hidratação): Considerando os resultados obtidos na fase 1, optou-se por testar cinco tratamentos sobre a influência do

---

\* Agradecimentos: agradecemos ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida ao estagiário Rafael Capello Robles, orientado de Gláucia Dias-Tagliacozzo.

tempo sem hidratação depois da colheita: Controle (imediate hidratação após a colheita), meia hora sem hidratação, uma hora sem hidratação, duas horas sem hidratação e três horas sem hidratação, associados ao tratamento com solução de *pulsing* (24h) que obteve melhor resultado (100 mg.L<sup>-1</sup> de GA) na fase 1.

Fase-4 (Ácido giberélico em solução ou pulverizado): Nesta fase avaliou-se dois diferentes modos de aplicação de ácido giberélico (solução e pulverização) a 100 mg.L<sup>-1</sup>, associados ao uso de hastes inteiras com flores e cortadas na sua região apical, sem flores.

Em todas as fases as hastes foram pesadas e a água dos vasos trocada a cada dois dias até senescerem. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições, que continham três hastes por repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fase-1 (Ácido Giberélico): Nesta fase observou-se diferença significativa na durabilidade comercial de hastes de priproica tratadas com ácido giberélico em relação ao controle (figura 1). Os tratamentos com ácido giberélico prolongaram a durabilidade comercial das hastes em mais de 60%, quando comparados com o controle.

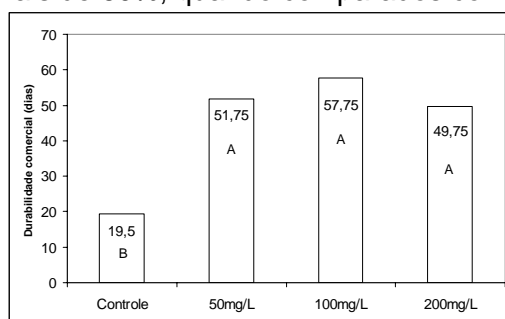


Figura 1. Durabilidade comercial (dias) de hastes de priproica submetidas a tratamentos de soluções de *pulsing* por 24 horas com diferentes concentrações de ácido giberélico (50, 100 e 200 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>). Médias com a mesma letra não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A melhor manutenção da qualidade comercial foi observada quando se utilizou ácido giberélico a 100 mg.L<sup>-1</sup>. Apesar de, as concentrações de 50, 100 mg.L<sup>-1</sup> e 200 mg.L<sup>-1</sup> não apresentarem diferença significativa entre si na durabilidade comercial de hastes de priproica, sob 100 mg.L<sup>-1</sup>, as hastes ficaram verdes por um período maior de tempo quando comparado com os demais tratamentos.

Fase-2 (Tempo sem hidratação): Nota-se que o tempo sem hidratação após a colheita prejudica a durabilidade comercial (Figura 2) e a longevidade pós-colheita das hastes.

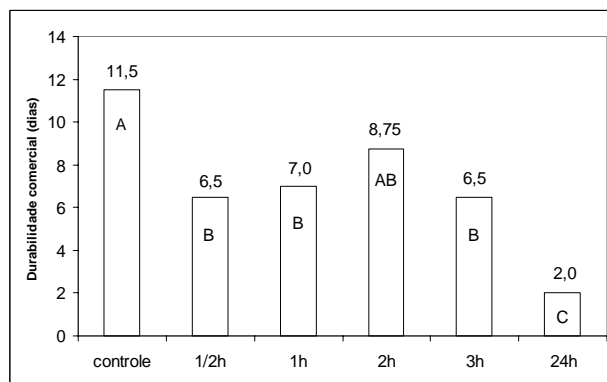


Figura 2. Durabilidade comercial (dias) de hastes de priproica submetidas a tratamentos com diferentes períodos de não hidratação pós-colheita. Médias com a mesma letra não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. (Índice de durabilidade comercial: média igual ou superior a 2).



Fase-3 (Ácido Giberélico associado ao tempo sem hidratação): Nesta fase em todos os tratamentos sob diferentes períodos de não hidratação pós- colheita, quando utilizado solução *pulsing* com concentração de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$ , a durabilidade comercial foi maior (Figura 3), assim como, a massa fresca final, indicando uma possível ação do  $\text{GA}_3$  na manutenção do turgor das hastes.

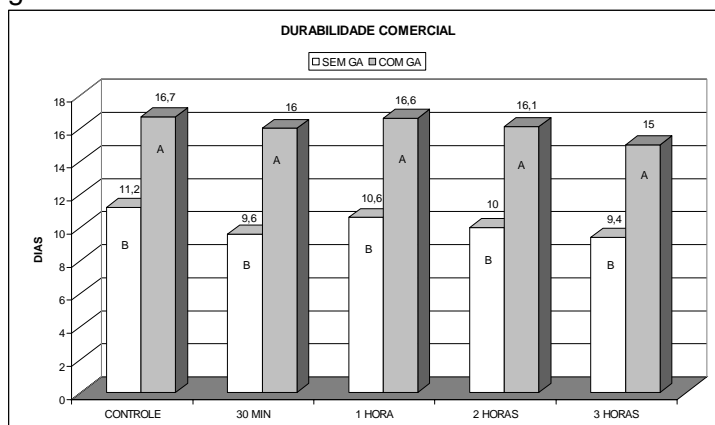


Figura 3. Durabilidade comercial (dias) de hastes de priproica mantidas em água e em solução de *pulsing* ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  por 24 horas) em diferentes períodos de não hidratação pós-colheita. Médias com a mesma letra não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Fase-4 (Ácido giberélico em solução ou pulverizado): Nesta fase testou-se 2 modos de aplicação de ácido giberélico (solução e pulverização) em hastes inteiras com flores e cortadas sem as flores.

Não há diferença entre os dois modos de aplicação do  $\text{GA}_3$  sobre as hastes, porém em relação às hastes inteiras e cortadas (sem a parte apical das flores), estas últimas obtiveram melhor durabilidade comercial. (Figura 4)



Figura 4. Hastes de priproica inteiras e cortadas, pulverizadas ou mantidas por 24h em solução contendo  $100 \text{ mg.L}^{-1}$   $\text{GA}_3$ , após 18 dias do tratamento

O processo de amarelecimento das hastes com as flores difere das hastes sem as flores. Quando as hastes possuem flores o amarelecimento inicia-se na região apical das hastes alastrando-se por toda ela em poucos dias. Já quando as flores são retiradas o amarelecimento dá-se somente na região apical, não se alastrando com rapidez por toda a haste. Deste modo pode-se, depois de um determinado período, retirar poucos centímetros amareladas das hastes cortadas conferindo novamente às mesmas aspecto comercial.

## CONCLUSÃO

Para uma adequada manutenção da qualidade das hastes de priproica e uma maior durabilidade comercial, as mesmas devem ser hidratadas imediatamente após a colheita sem a parte apical (flores), e acondicionadas em solução de *pulsing* por 24h contendo ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ ) na concentração de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOSZCZYNSKA, D.M.; MICHALCZUC, B. Postharvest physiology of alstroemeria flowers. Evaluation of keeping quality of cut alstroemeria flowers after chemical treatment. *Rosliny Ozdobne*, n.12, 1988.

JORDI, W.; STOPEN, G.M.; KELEPOURIS, K. & VANDERKRIEKEN, W.M. Gibberellin-induced delay of leaf senescence of Alstroemeria cut flowering stems is not caused by increase in the endogenous cytokinin content. *J. Plant Growth Regul.*, New York, v.14, n.3, p.121-127, 1995.

KAPPERS, I.F.; JORDI, W.; MAAS, F.M.; VAN DER PLAS, L.H. Gibberelins in leaves of *Alstroemeria hybrida*: identification and quantification in relation to leaf age. *Journal Plant Growth Regulation*, New York, v.16, p.219-225, 1997.

NOWAK, J.; GOSZCZYNSKA, M.D.; RUDNICKI, R.M. Storage of cut flowers and ornamental plants: present status and future prospects. *Postharvest News and Information*. Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, v.2, n.4, p.255-260, 1991.

NOWAK, J. & MYNETT, K. The effect of growth regulation on postharvest characteristics of cut Liliium "Prima". *Acta Hort.*, Leuven-Belgium, v.167, p.109-116, 1985.

SANTOS, P.P.; MACEDO, E.G.; SILVA, R.J.F.; POTIGUARA, R.C.V. Anatomia de Rizomas, Colmo e Folhas de *Cyperus articulatus* L. (*Cyperaceae*). ([www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/r0176-2.htm](http://www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/r0176-2.htm)), 54º congresso nacional de botânica, 2003. Acesso em: 18 dez. 2006

SONG, C.Y.; BANG, C.S.; CHUNG, S.K. & KIM, Y.J. Effects of postharvest pretreatments and preservative solutions on vase life and flower quality of asiatic hybrid lily. *Acta Hort.*, Leuven-Belgium, v.414, p.277-285, 1996.

ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; CARREIRA, L.M.M.; OLIVEIRA, J.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; ROCHA, A.E.S. Composição Química dos Óleos Essenciais de Priprioca (*Cyperus articulatus* L. e *Kyllinga* sp.) no Estado do Pará. ([www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0935-2.htm](http://www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0935-2.htm)), 54º congresso nacional de botânica, 2003. Acesso em: 18 dez. 2006

PALAVRAS CHAVE: Priprioca, pós-colheita, solução de *pulsing*.



## Conservação pós-colheita de *Ixora vermelha* sob diferentes soluções conservantes e condições de armazenamento.

Silva, Leirson Rodrigues da<sup>1</sup>; Araújo, Emmanuelle Rodrigues<sup>1</sup>; Castro, Juliana Pereira de<sup>1</sup>; Silva, Silvana de Melo<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Aluno do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFPB-PB), Centro de Ciências Agrárias, Caixa Postal 04, CEP 58397-000, Areia, Paraíba, fone (83) 3362-2300, email: [leirsonrodrigues@yahoo.com.br](mailto:leirsonrodrigues@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Professora Ph.D, Departamento de Ciências Fundamentais e Sociais, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, CEP 58397-000, Areia, Paraíba, fone (83) 3362-2300, email: [silvasil@cca.ufpb.br](mailto:silvasil@cca.ufpb.br).

### INTRODUÇÃO

A *Ixora* (*Ixora coccínea* L.), vulgarmente conhecida como *Ixora*, *ixora-coral* ou equisósea, é um arbusto que pode atingir aproximadamente 1,5-2,5m de altura com ramagem densa e florescimento vistoso. Esta é uma espécie nativa das Índias Orientais, pertencente a família Rubiaceae e possui os sinônimos *Ixora bandhuca* Roxbg e *Ixora grandiflora* ker-Gaw. Esta espécie foi introduzida no Brasil em 1809, onde a planta rapidamente se adaptou, passando a ocupar lugar de destaque nos jardins das regiões Norte e Nordeste, sobretudo, em razão de permanecer florida por quase a metade do ano (LORENZI et al., 1995).

A aplicação conjunta ou separada de tratamentos com produtos químicos no manejo pós-colheita é uma alternativa para ampliar a longevidade e o período de comercialização de flores de corte, sobretudo em condições onde o acesso à refrigeração é limitada. As soluções conservantes para flores devem possuir composição tal que bloqueie o desenvolvimento microbiano ou a síntese do etileno. Um dos componentes fundamentais destas soluções conservantes são os açúcares, estes entram nesta composição pelo fato de repor os carboidratos consumidos durante a respiração (HARDENBURG et al., 1986). O Nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>), por sua vez, é um dos sais de prata mais comuns, usados em soluções conservantes comerciais, apresenta efeito germicida e age como inibidor da ação do etileno (ROGERS, 1973; BEYER JR., 1976; HARDENBURG et al., 1986), possibilitando um possível aumento na longevidade das flores (PAULL, 1987).

O armazenamento é considerado uma das etapas mais importantes para manutenção do equilíbrio entre mercado distribuidor e consumidor de flores de corte (TAGLIACCOZZO & CASTRO, 2002). Pelo fato das plantas ornamentais, particularmente flores de corte, ter uma vida útil muito limitada; as flores se deterioram rapidamente como ocorre com frutas e hortaliças por causa de processos fisiológicos catabólicos que ocorrem mais intensamente após a colheita (HARDENBURG et al., 1988); portanto, exigem técnicas de conservação que contribuam para manter a qualidade floral pós-colheita.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito de diferentes soluções conservantes e condições de armazenamento na qualidade de hastes florais de *Ixora* vermelha.

### MATERIAL E MÉTODOS

*Ixoras* vermelhas (*Ixora coccínea* L.) foram colhidas de um jardim particular na cidade de Campina Grande-PB, localizada na microrregião da Borborema. As flores foram colhidas pela manhã, no ponto de colheita comercial e transportadas para o laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-colheita, do Departamento de Ciências Fundamentais e Sociais (DCFS), do Centro de Ciências Agrárias - CCA/ UFPB, Areia - PB.

Realizou-se inicialmente a eliminação da folhagem basal e corte da base da haste floral sob água, sendo estas uniformizadas com aproximadamente 30 cm de comprimento e uniformizadas quanto ao estágio comercial (Flores totalmente abertas ou próximas da abertura total) (Fig 1).



**Figura 1.** Ponto de colheita comercial de *Ixora coccínea* utilizados no experimento (Areia-PB, 2006).

Os tratamentos empregados foram: 0,2 mL/L de hipoclorito de sódio + corte da base da haste em bisel; 0,1 g/L de Nitrato de Prata + corte da base das haste em bisel; 30 g/L de sacarose em água destilada fervida com corte da base da haste; 30 g/L de sacarose em água destilada fervida sem corte da base da haste e água destilada sem corte (controle), armazenadas sob refrigeração de 10°C por três dias e depois expostas às condições ambiente 24 ± 2°C e 85 ± 2% UR.

As avaliações foram realizadas diariamente, durante 20 dias, até a inviabilização para comercialização ou senescência das flores. Foram realizadas as seguintes avaliações: Aparência Geral (1-9), onde: 1 - Inaceitável; 3 - Ruim; 5 - Regular; 7 - Bom; 9 - Excelente e Murchamento das flores (1-9): avaliado através de um índice de murchamento que variou de 1 a 9, conforme a intensidade do murchamento, sendo 9 - sem murchamento até início do enrolamento das pétalas; 7 - até 30% das pétalas murchas; 5 - de 31% até 60% das pétalas murchas; 3 - 61% das pétalas murchas e 7 - mais de 61% das pétalas murchas. O grau 4 indicava o limite de aceitação da flor quando era observada perda do valor ornamental e comercial. As soluções eram substituídas a cada três dias, onde as hastes recebiam cortes da base, na região obstruída.

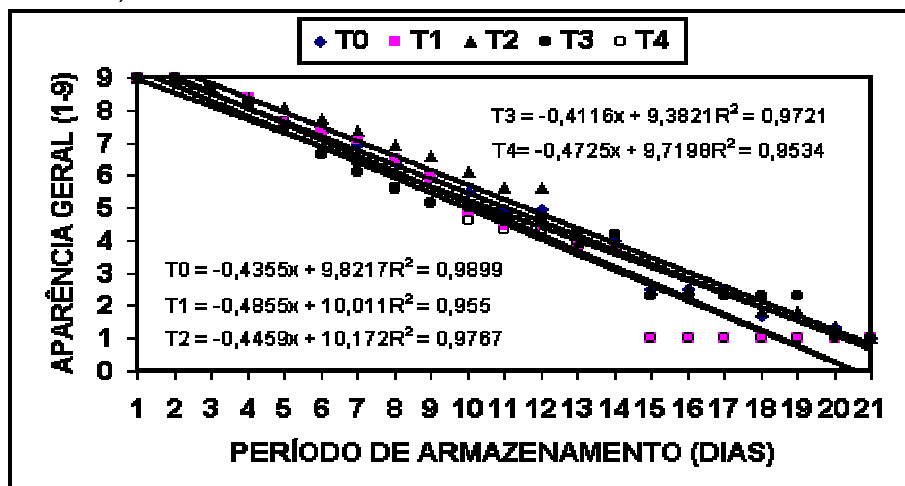
O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 3 repetições, sendo três hastes por cada vaso. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias dos fatores qualitativos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Nos fatores quantitativos, foram feitas análises de regressão.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A resposta das flores às concentrações das soluções de condicionamento com produtos químicos não diferiu significativamente do controle. A aparência geral das flores de *Ixoras* foi de quatro dias de armazenamento quando mantidas sob refrigeração, nos tratamentos de condicionamento com 0,2 mL/L de hipoclorito de sódio + picote das base das hastes; 0,1 g/L de Nitrato de Prata + picotes da base das hastes ; 30 g/L de sacarose em água destilada fervida com picote da haste; 30 g/L de sacarose em água destilada fervida sem picote da haste e água destilada sem corte (controle). Em todos os tratamentos foi observado o aparecimento de necrose na base das hastes e pétalas, e início de murchamento das hastes após o sexto dia da colheita. Ichimura e Suto (1999) observaram

que a sacarose aplicada na forma de solução de condicionamento ou em solução de vaso reduziu a longevidade de flores de ervilha, causando rachaduras nas pétalas, decréscimo na absorção de água e aumento da produção de etileno. Neste experimento a aplicação de soluções conservantes não resultou na extensão da qualidade das flores da mesma forma que em orquídeas do gênero *Oncidium* (YOUNG & ONG, 1979), em ciclame (KOHL, 1975) e estátice (DOI & REID, 1995). Evidenciou-se, assim, que as hastes que receberam o corte na base apresentaram, nos primeiros dias após a colheita, maior absorção de água pelas hastes e hidratação das flores, e aumento da capacidade de retenção de água pelos tecidos florais até a saturação, seguido por um período de decréscimo da massa fresca em virtude da senescência (ROGERS, 1973).

Na avaliação dos dados da senescência das flores observa-se que durante o armazenamento sob refrigeração não houve diferença entre os tratamentos, quando comparadas com a conservação sob condições ambientes. Estes resultados são explicados pelo retardamento dos processos fisiológicos a baixa temperatura. Ao avaliar-se o efeito das soluções conservantes sobre o processo de senescência (Fig. 2), observou-se que a solução de sacarose foi a que mais acelerou o processo, possivelmente porque a sacarose serviu de alimento para microorganismos, que se desenvolveram na água, já que nela não havia nenhum produto bactericida ou fungicida. Este resultado contraria CASTRO (1987), que constatou que as concentrações de sacarose de 8 a 16% promoveram um aumento na durabilidade comercial em aproximadamente três vezes em relação ao controle (água destilada sem corte).



**Figura 2.** Aparência geral (1-9) em ixoras vermelhas mantidas sob refrigeração de 10°C e depois expostas às condições ambientes de 24 ± 2°C e 85 ± 2% UR.

O resultado da análise do parâmetro murchamento está representado na Figura 3. Observa-se que a senescência das folhas se manifestou através de uma seqüência de eventos ao longo do tempo: primeiro ocorreu o murchamento, seguido do amarelecimento e terminando com a necrose foliar. O surgimento de tais sintomas parecem estar ligados a temperatura de armazenamento, pois notou-se um efeito significativo do fator temperatura na velocidade de surgimento da senescência, para todas as soluções testadas. A temperatura de 10°C atrasou o surgimento de murcha. Tais resultados podem ser explicados pelo fato de, sob menor temperatura, ter havido maior redução da mobilização de reservas e como conseqüência a ação de seus metabólitos. O murchamento das flores foi o sintoma mais evidente da senescência, não havendo até os quatro dias após a colheita murchamento das pétalas e das folhas, o que foi inicialmente observado para todos os tratamentos. No oitavo dia de armazenamento, as flores apresentavam-se inviáveis para comercialização, apresentando cerca de 60 % de flores com murchamento a partir do nono dia de armazenamento; entretanto, a partir do décimo dia as flores mantidas nestes tratamentos tenderam a apresentar menor longevidade até o período final do

armazenamento. No décimo quinto dia de armazenamento, observou-se uma percentual de 90% de flores com murchamento acentuado, tornando-as totalmente inaceitáveis para comercialização.

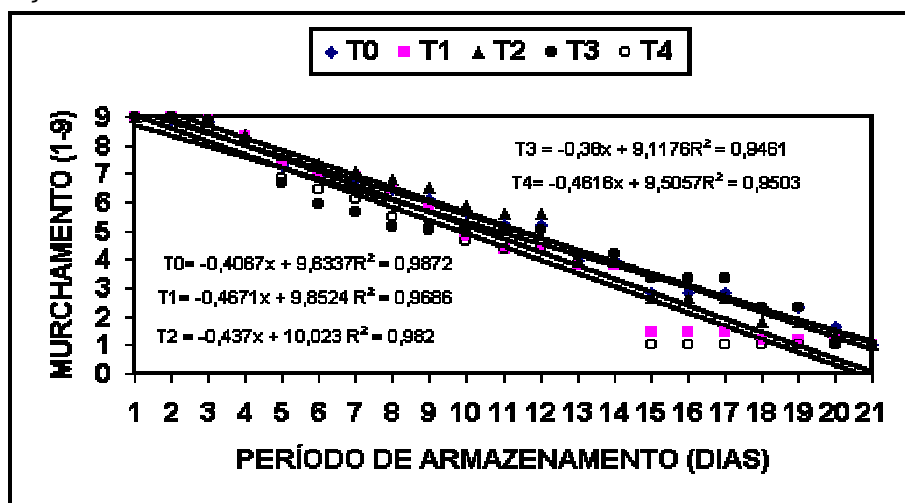


Figura 3. Murchamento (1-9) em ixoras vermelhas mantidos sob refrigeração de 10°C e depois expostas às condições ambientes de 24 ± 2°C e 85 ± 2% UR.

## CONCLUSÕES

As flores de *Ixoras* vermelhas apresentaram longevidade em vaso de aproximadamente quatro dias, tendo, portanto, potencial para utilização como flor de vaso. O condicionamento das flores sob refrigeração de 10°C resultou em manutenção da qualidade floral, retardando o murchamento de pétalas e folhas. O corte periódico da base das hastes foi efetivo na melhoria da hidratação das flores, resultando em maior longevidade. O condicionamento das flores sob condições ambientes nas diferentes soluções conservantes não foi efetivo na manutenção da qualidade floral.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEYER JUNIOR, E. Silver ion; a potent antiethylene agent in cucumber and tomato. **HortScience**, Alexandria, v.11, n.3, p.195-196, 1976.

CASTRO, C.E.F. de, LUCHESI, A.A., CASTRO, J.V. et al. Manutenção da qualidade pós-colheita de cravo 'Scania Red Sim'. I. Efeito da sacarose e da 6-Benzil-Aminopurina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 6, 1987, Campinas, **Anais...** Campinas, 1987, p.144-157.

DOI, M.; REID, M. S. Sucrose improves the postharvest life of cut flowers of a hybrid *Limonium*. **HortScience**, Alexandria, v. 30, p. 1058-1060, 1995.

HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y. *Almacenamiento comercial de frutas, legumes y existencias de floriesterias y viveros*. Costa Rica: IICA, 1988. p.91-121.

ICHIMURA, K.; SUTO, K. Effects of the time of sucrose treatment on vase life, soluble carbohydrate concentrations and ethylene production in cut sweet pea flowers. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v. 28, n. 2, p. 117-122, 1999.

KOHL, H. C. **Cyclamen as cut flowers**. California: Flower Nurs, 1975. 60 p.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. Plantas Ornamentais no Brasil: **Arbustivas, Herbáceas e Trepadeiras**, Nova Odessa, S.P., Ed. Plantarum, p.637,1995.

PAULL, R.F. Effect of storage duration and temperature on cut anthurium flowers. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.3, p.459-460, 1987.

ROGERS, M.N. An historical review of postharvest physiology research on cut flowers. **HortScience**, Alexandria, v.8, n.3, p.189-194, 1973.

TAGLIACOZZO, M. D.; CASTRO, C. E. F. de. Fisiologia Pós-Colheita de Espécies Ornamentais. In: Wachowicz, C. M.; Carvalho, R. I. N. de. Fisiologia Vegetal - Produção e Pós-Colheita. Curitiba: Champagnat, 2002, 359-382p. il.

YOUNG, H. C.; ONG, H. T. Effects of chemical applied to cut stalks on the shelf life on *Oncidium* Goldiana flowers. **Orchid Reviews**, v. 87, n. 1035, p. 292-295, 1979.

**PALAVRAS-CHAVE:**

*Ixora coccínea* L.; pós-colheita; soluções conservantes; armazenamento; murchamento.

## Condicionamento em pós-colheita de *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith

Lima, Juliana Domingues<sup>1</sup>; Nomura, Edson Shigueaki<sup>2</sup>; Moraes, Wilson da Silva<sup>2</sup>; Souza, Neurilene Aparecida David de<sup>3</sup>; Terashima, Mario<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professora Assistente Doutora, UNESP, Campus Experimental de Registro, Rua Tamekishi Takano, 05, Registro, São Paulo, CEP 11900-000, fone (13) 38282900, e-mail: [judlima@registro.unesp.br](mailto:judlima@registro.unesp.br);

<sup>2</sup>Pesquisador Científico do Pólo Regional de Desenvolvimento Sustentável dos Agronegócios do Vale do Ribeira, Rod. BR-116, Km 460, C.P. 122, Registro, São Paulo, CEP 11900-000, fone (13) 38561656, e-mail: [edsonnomura@aptaregional.sp.gov.br](mailto:edsonnomura@aptaregional.sp.gov.br), [wilson@registro.unesp.br](mailto:wilson@registro.unesp.br); <sup>3</sup>Técnica de Apoio à Pesquisa do Laboratório de Sanidade Animal e Vegetal do Pólo Regional de Desenvolvimento Sustentável dos Agronegócios do Vale do Ribeira, Av. Wild José de Souza, 454, Registro, São Paulo, CEP 11900-000, fone (13) 38212282; <sup>4</sup>Engenheiro Agrônomo da Empresa GRUPOTEC - Empreedimentos, Assessoria e Consultoria Agrícola Ltda, Rua dos Rouxinóis, 50, Registro, São Paulo, CEP 11900-000, e-mail: [marioterashima@uol.com.br](mailto:marioterashima@uol.com.br).

*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith é uma espécie florística tropical com grande potencial de cultivo no Vale do Ribeira, porém ainda pouco explorada. Possuem inflorescências grandes de forma cônico-piramidal, com brácteas e flores vermelhas. Para atender a demanda crescente do consumo de flores tropicais é necessária informação técnica de colheita e pós-colheita, a fim de minimizar as perdas e manter a qualidade do produto. Deste modo, este trabalho teve como objetivo estudar a longevidade de hastes de *E. elatior* variedades Red Torch (vermelha) e Pink Torch (rosa), após imersão em solução de condicionamento. Foi instalado o experimento em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (variedade x soluções de condicionamento - água, 5% de sacarose e 300 mg.L<sup>-1</sup> de ácido cítrico) em quatro repetições e quatro hastes cada. As hastes foram colhidas em área de produção comercial e uniformizadas em tamanho (75±5 cm de comprimento) e ponto de colheita, distribuídas ao caso nos tratamentos. O condicionamento foi realizado por meio da imersão da base da haste em 1,5 L da solução de condicionamento por 24 horas e, posteriormente, mantidas em igual volume em água destilada e renovada a cada dois dias. A senescência das hastes foi detectada pela descoloração e necrose das brácteas e pela deterioração das flores da inflorescência seguindo a seguinte escala de notas: 0-ausência de sintomas de senescência; 1-sintoma inicial de senescência (descoloração da bráctea); 2-escurecimento das flores, intensa descoloração da bráctea; 3-senescência das flores, enrolamento e morte de células da bráctea; (necrose). As variedades vermelha e rosa apresentaram, respectivamente, longevidade total média de 8,8 e 4,3 dias, com hidratação após o condicionamento nas três soluções, mas sem apresentar diferenças significativas entre elas. Na variedade vermelha ocorreu perda de água somente após 96 horas da colheita, e ao final do período de avaliação, as hastes condicionadas com ácido cítrico mostraram-se mais hidratadas em relação aos demais tratamentos após 168 horas da colheita. Na variedade rosa, a perda de água iniciou 60 horas após a colheita e as hastes condicionadas com sacarose obtiveram maior hidratação, chegando a senescência após 120 horas da colheita. Em conjunto, os resultados mostram a necessidade de novos experimentos para estabelecer uma recomendação mais adequada do ponto de colheita para o produtor e tentar prolongar a vida pós-colheita, especialmente da variedade rosa.

### PALAVRAS CHAVES

bastão do imperador; longevidade pós-colheita



## **Eficiência na absorção de água de rosas variedade Tineke mantidas em diferentes conservantes florais.**

Almeida, Elka Fabiana Aparecida<sup>1</sup>; Salvador, Elisabete Domingues<sup>1</sup>; Garcia, Cecília Souza Gontijo<sup>2</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadora, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) CTSM-FERN, BR 494 – Km 02, Colônia do Bengo – CTAN, Cep 36300-000, São João Del Rei, MG, fone (32)3379-2649, e-mail: [elka@epamig.br](mailto:elka@epamig.br); [elisabete@epamig.br](mailto:elisabete@epamig.br); <sup>2</sup>Graduanda, Agronomia, Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, (UFLA), Caixa Postal, 3037, Cep 37200-000, Lavras, MG, fone (35)3829-1781, e-mail: [cissasgg@hotmail.com](mailto:cissasgg@hotmail.com); <sup>3</sup>Professora, Departamento de Agricultura da UFLA, Caixa Postal, 3037, Cep 37200-000, Lavras, MG, fone (35)3829-1786, e-mail: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br).

### **INTRODUÇÃO**

A murcha de flores de corte, durante a senescência, é o resultado da diminuição na circulação de água devido à obstrução dos vasos do xilema, com inibição parcialmente ou totalmente na condução de líquidos (Paulin, 1983).

De modo geral, as soluções para conservação de flores cortadas contêm substâncias anti-sépticas que, na maioria das vezes, são acidificantes e previnem a atuação dos microrganismos responsáveis pela obstrução do xilema (Paulin, 1983).

O que se verifica, na prática, é que alguns preservativos florais são mais eficientes para determinadas espécies, mas ineficientes para outras. Dessa forma, é importante realizar-se experimentos que avaliem se o conservante floral é ou não adequado, para uma determinada espécie, antes de utilizá-lo em larga escala (Nowak & Rudnicki, 1990). Este trabalho teve como objetivo analisar a eficiência na absorção de água de rosas 'Tineke' mantidas em oito diferentes conservantes florais.

### **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia da Fazenda experimental de Lavras da Epamig/CTSM em Lavras, Minas Gerais. Rosas da variedade Tineke, classe A1 e hastes de 70 cm, foram colhidas no início da manhã, em Barbacena, e imediatamente transportadas dentro de baldes plásticos contendo água pura, em veículo fechado. Ao chegarem ao laboratório, as rosas foram selecionadas, sendo descartadas as que sofreram qualquer tipo de injúria. Após, as rosas foram imediatamente colocadas nos respectivos tratamentos, utilizando-se recipientes plásticos transparentes com um litro de solução de manutenção. Como soluções de manutenção utilizaram-se oito diferentes tratamentos: (1) água potável (testemunha); (2) ácido cítrico (200 mg L<sup>-1</sup>); (3) hipoclorito de sódio (50 mg L<sup>-1</sup>); (4) conservante floral Original Floralife® (Floralife) na concentração de 10 g L<sup>-1</sup>; (5) conservante floral Crystal Clear® (Floralife) na concentração de 16 ml L<sup>-1</sup>; (6) bactericida Hidrosan® (HidroAll) na concentração de 400 mg L<sup>-1</sup>; (7) sacarose (2%); (8) *pulsing* com o hidratante floral de ação prolongada Hydraflor-100® (Floralife) na concentração de 7,5 ml L<sup>-1</sup> com posterior manutenção das rosas em água potável. As rosas permaneceram em ambiente fechado durante o período experimental com temperatura média de 22°C ± 1. Diariamente ocorreu reposição da solução de manutenção ou água, sendo registrada a quantidade necessária para completar o volume de cada tratamento. A leitura de absorção de água ou solução foi realizada a partir do volume total restituído em cada tratamento durante o período experimental. Não houve controle da perda de água por transpiração. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos, quatro repetições e cinco flores por parcela, totalizando cento e sessenta hastes.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Hastes mantidas em solução com o produto Original Floralife® mantiveram uma absorção constante de água até o final do experimento. Absorveram diariamente, em média,

132 ml do produto (Figura 01), um resultado muito superior aos demais tratamentos avaliados.

Totalizou um valor acumulado de solução com Original Floralife® nos oito dias de análise de 1055 ml (Figura 02), ou seja, as hastes absorveram mais do que o volume colocado no início do experimento, que era de 1000 ml. Esse valor total (1055 ml) é mais que o dobro da testemunha (água pura) e da sacarose, e quase o dobro dos valores acumulados nos produtos Hydraflor 100®, Hydrosan®, ácido cítrico e hipoclorito.

Quando se analisou o desempenho dos demais conservantes florais utilizados na pós-colheita de hastes florais de rosas variedade Tineke foi possível observar um padrão constante de comportamento, ou seja, houve um incremento no volume de solução absorvida até o terceiro a quarto dia, quando ocorreu um declínio do volume absorvido.

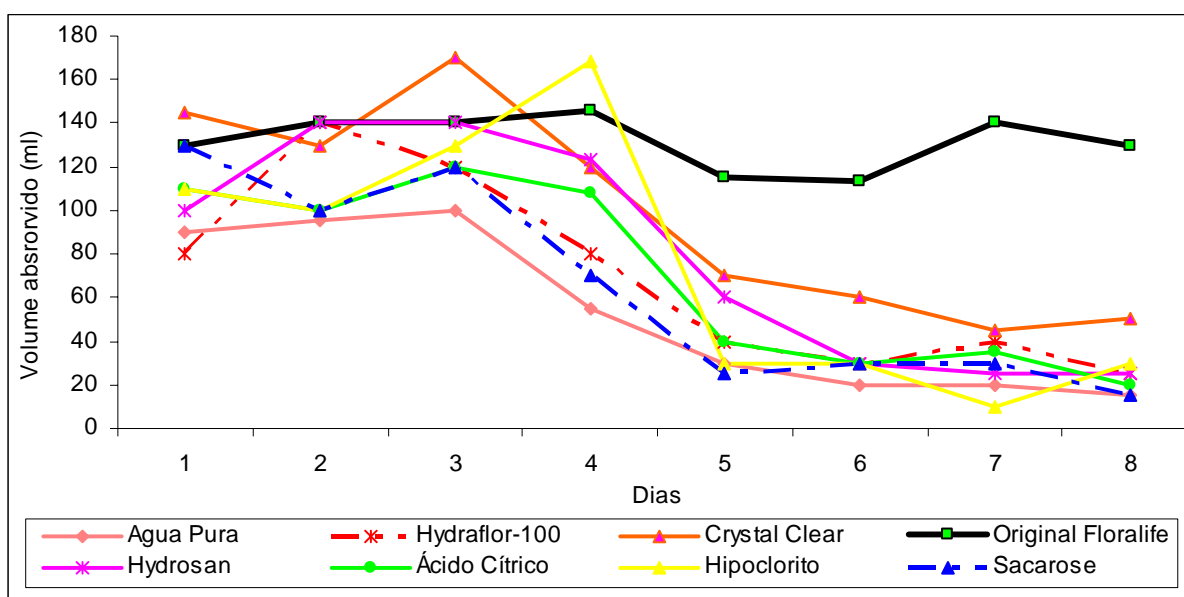


Figura 01. Volume absorvido diariamente de oito diferentes soluções de manutenção utilizadas na pós-colheita de hastes florais cortadas de rosas variedade Tineke.

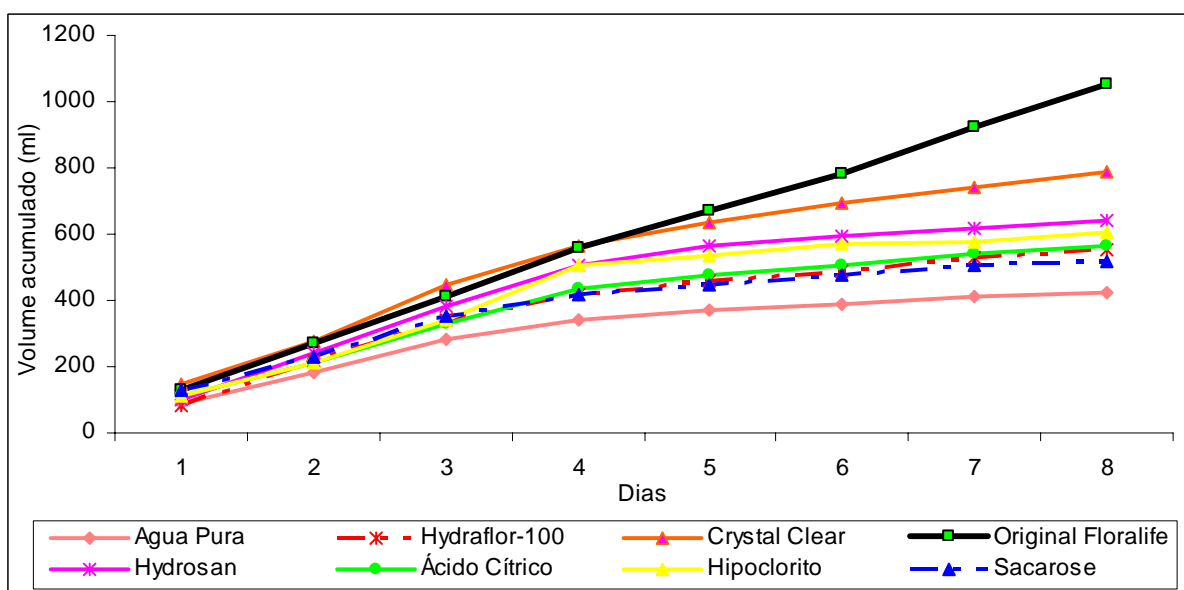


Figura 02. Volume acumulado durante oito dias de oito diferentes soluções de manutenção utilizadas na pós-colheita de hastes florais cortadas de rosas variedade Tineke.



## **CONCLUSÃO**

A solução com 10 g L<sup>-1</sup> do produto comercial Original Floralife® proporcionou os melhores resultados nas características volume de solução absorvida diariamente e volume absorvido acumulado, quando se avaliou a eficiência de absorção de hastes de flores cortadas de rosas variedade Tineke, durante sua vida de vaso.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

NOWAK, J.; RUDNICKI, R. M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plants**. Portland: Timber Press, 1990. 210 p.

PAULIN, A. Improvement in the preservation of cut flowers. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 138, p. 299-305, 1983.

## **PALAVRAS-CHAVE**

*Rosa* sp., Pós-colheita, Flor-de-corte.

## Manejo pós-colheita de *Phormium tenax* em água e sintomas indicadores de perda de valor comercial.

Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>1</sup>; Santos, Glaucio Leboso Alemparte Abrantes dos<sup>2</sup>; Pinto, Sabrina Aparecida<sup>3</sup>; Matos, Marco Rodrigo<sup>3</sup>; Barbosa, Gustavo C. VICTER<sup>3</sup>.

Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 9319-1914, email: [glaucioalemparte@gmail.com](mailto:glaucioalemparte@gmail.com)

<sup>2</sup> Professor Adjunto II, PhD, Universidade Federal de Viçosa – Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura, Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 3899-1168, e-mail: [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br)

<sup>3</sup> Estudante de Mestrado da Universidade Federal de Viçosa Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 8441-4186, e-mail: [sabris\\_ap@hotmail.com](mailto:sabris_ap@hotmail.com)

### INTRODUÇÃO

As folhagens tropicais apresentam características favoráveis à comercialização como beleza, exotismo, variedade de cores e formas, resistência ao transporte, durabilidade pós-colheita e além de grande aceitação no mercado externo (Junqueira & Peetz, 2002). Entre os principais problemas que os produtores de flores e folhagens para corte têm que superar está o manejo pós-colheita inadequado. Ainda faltam conhecimentos e tecnologia de colheita e pós-colheita para a efetiva redução de perdas, que no Brasil chega a atingir 40% da produção (Dias & Castro, 2002). Assim, o abastecimento contínuo e com qualidade deve ser uma preocupação constante durante todas as fases do processo produtivo. As perdas pós-colheita podem ser causadas por danos mecânicos, armazenamento impróprio, manuseio excessivo, transporte inadequado e grande tempo de exposição no varejo. A utilização de técnicas simples de pós-colheita nessas folhagens reduziria significativamente as perdas, garantindo a qualidade e o prolongamento da vida pós-colheita, favorecendo a comercialização. Uma das folhagens muito utilizadas em arranjos e ornamentação de jardins é *Phormium tenax*, pertencente à família Agavaceae. É planta herbácea, palustre, de folhas lineares semelhantes a uma espada, podendo chegar a dois metros de altura. É originária da Nova Zelândia, sendo chamada de “linho-da-Nova-Zelândia” (Missouri, 2001-2007). Este trabalho tem como objetivo avaliar os sintomas das folhas na vida pós-colheita do *Phormium tenax* sobre efeito de diferentes tratamentos.

### METODOLOGIA

O experimento foi montado no setor de floricultura, Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa em ambiente fechado com luz fluorescente dia e noite. O delineamento foi em blocos casualizados com 3 repetições, sendo 2 folhas por unidade experimental, 5 tratamentos (Figura 1).

- ✓ T1 testemunha cega;
- ✓ T2 cortar os pecíolos 2/2 dias e completar o volume de água;
- ✓ T3 cortar os pecíolos e trocar a água a cada 2 dias;
- ✓ T4 trocar a água a cada 2 dias;
- ✓ T5 completar o volume de água a cada 2 dias.

Os recipientes utilizados foram garrafas pet cortadas ao meio e lavadas. A água era deionizada no volume total de 750 ml por garrafa, em temperatura ambiente. As folhas foram coletadas no próprio setor de floricultura, às 7 horas da manhã do dia 15/02/2007, sendo cortadas e colocadas em baldes com água. Logo após o término da colheita as folhas foram padronizadas de acordo com o tamanho da base fechada (bainha) e tamanho da haste total: R1 4 cm de base e 102 cm de haste total, R2 sem base e 95 de haste total e R3 8 cm de base e 70 cm de haste total (Figura 2).



Figura 1. Visualização da montagem do experimento.



Figura 2. Padronização de folhas de fórmio: A. tamanho do pecíolo; B. tamanho total da folha.

As temperaturas médias, ao dia, variaram de 28,2°C (máxima) e a 23,10° (mínima) e a evaporação foi em média 2,1% ao dia.

Foram avaliadas a longevidade, cloroses, queima de bordas, encurvamento das folhas por perda d'água, murcha, turbidez da água, temperatura máxima e mínima e evaporação de água. As avaliações foram acompanhadas por imagens fotográficas para melhor visualização e demonstração dos sintomas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *Phormium tenax* tem vida pós-colheita adequada ao uso como folhagem de corte, o que pode verificar na tabela 1. Nesta se percebe que em todos os tratamentos para todas as variáveis pouco expressivas, como a queima de ápice, os sintomas apenas começam a se manifestar após o 17° dia. Para a variável de perda de mercado 'clorose', a manifestação ocorre após o 22° dia (Figura 3).

Foram considerados sintomas de perda de valor comercial o encurvamento das folhas por perda d'água e a queima de ápices.

Foi considerada perda de prateleira (descarte) quando as folhas perdiam pigmentação, sintoma este observado de um dia para outro.

Para as duas variáveis pouco expressivas – queima de ápice e encurvamento das folhas por perda d'água –, não houve diferença estatística para os tratamentos aplicados. Já para a variável de perda de mercado – a clorose – ocorreu diferença estatística. O T3 foi o tratamento que obteve melhores médias, porém somente diferiu estatisticamente do T4. Deve-se, entretanto, levar em consideração que apesar de não diferir da testemunha, obteve uma média superior em aproximadamente 10 dias da mesma.

**Tabela 1.** Análise de variância para as variáveis: QUE – Queima do ápice, CLO – clorose e ECU – encurvamento das folhas por perda d’água (unidade), ao decorrer do experimento devido aos procedimentos adotados para a manutenção pós-colheita das folhas de fórmio. Média de três repetições, duas folhas por unidade experimental.

TRAT/ VARIÁVEIS	QUE	CLO	ECU
unid	dias	dias	dias
T1	25.67 A	30.00 A B	26.00 A
T2	17.33 A	29.00 A B	27.00 A
T3	19.67 A	39.67 A	25.00 A
T4	22.33 A	22.00 B	28.67 A
T5	22.67 A	28.50 A B	26.33 A
CV%	27.922	19.384	17.760
GLR	8		
M	21.53	29.83	26.60

Os valores da mesma coluna com letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Sintomas diversos foram observados no decorrer do experimento (Figura 3). Alguns foram considerados como sintomas de perda de valor comercial (A, B e C), um como perda de prateleira (E), sintoma principal deste experimento e os demais como sintomas pós-perda de prateleira D, F e G.

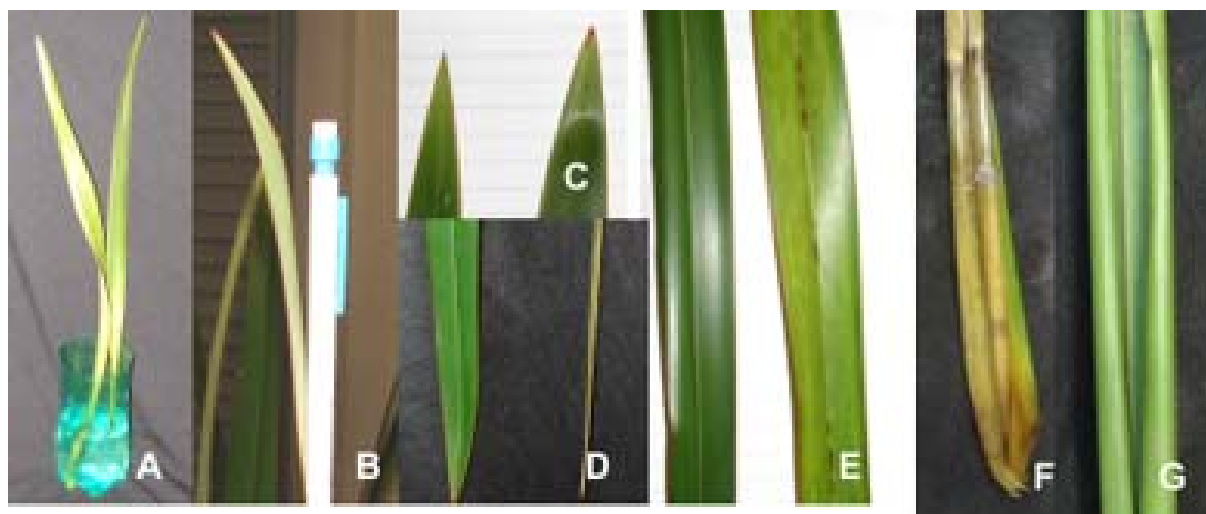


Figura 3. Sintomas observados no decorrer do experimento: A. torção das folhas, B. encurvamento das folhas por perda d’água, C. queima apical, D. seca com enrolamento apical das folhas, E. clorose generalizada nas folhas, F. apodrecimento da base das folhas e G. enrolamento do limbo foliar.

O sintoma A foi observado após 15 dias da colheita em todos os tratamentos, exceto o T3. O T3 apenas manifestou este sintoma após 28 dias da colheita. Já os sintomas B e C foram observados em média aos 27 dias após a colheita em todos os tratamentos. O sintoma F apenas foi observado nos tratamentos 1,2 e 5, devido à ação bacteriana, que resultou no apodrecimento da base (Figura 4A). Os sintomas D e G apenas foram observados no T3, que, na maioria das repetições, não manifestou clorose antes do 40º dia.

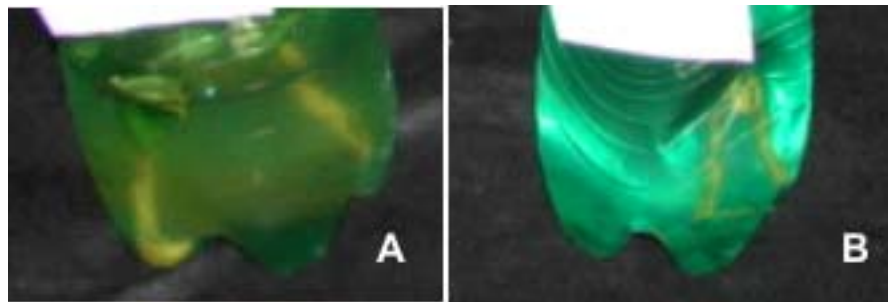


Figura 4. A. Turbidez da água devido à deposição de fontes bacterianas; B. Água sem turbidez.

### CONCLUSÕES

O fórmio é uma folhagem de alta durabilidade pós-colheita. Procedimentos pós-colheita simples como cortar os pecíolos e trocar a água a cada dois dias (T3) aumentam a vida de prateleira de *Phormium tenax*. Apenas um sintoma observado (clorose generalizada nas folhas) foi caracterizado como fator de diminuição de vida de prateleira, outros apenas como perda de valor comercial (torção das folhas, encurvamento das folhas por perda d'água, queima apical).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. Os pólos da produção de flores e plantas ornamentais do Brasil: Uma análise do potencial exportador. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.8, n.1/2, p. 25-47, 2002.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M; CASTRO, C.E.F. Fisiologia da pós-colheita de espécies ornamentais. In: WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, R.I.N. (Org.). **Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Champagnat, 2002. p.359-382. (Coleção Agrária).

[http://www.mobot.org/gardeninghelp/plantfinder/Plant.asp?code=A541#lbl\\_culture.](http://www.mobot.org/gardeninghelp/plantfinder/Plant.asp?code=A541#lbl_culture.), **Missouri Botanical Garden**, 2001-2007,. Pesquisado dia 29/05/07

### PALAVRAS-CHAVES

*Phormium tenax*; fórmio; pós-colheita; sintomas; senescência.

## Efeito do tipo de armazenamento na durabilidade pós-colheita de hastes florais de *Heliconia* spp.

Felix, Ana Maria Souza<sup>1</sup>; Costa, Andreza Santos da<sup>2</sup>; Oliveira, Cynara Moura de<sup>3</sup>; Guimarães, Walma Nogueira Ramos<sup>4</sup>; Verona, André Luiz<sup>5</sup>; Prazeres, Janaina Nicanuzia<sup>6</sup> Loges, Vivian<sup>7</sup>;

<sup>1</sup> Graduanda em Biologia - UFRPE, PIBIC/CNPq, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6250, e-mail: [felix.ana@gmail.com](mailto:felix.ana@gmail.com); <sup>2</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica – UFRPE, email: [andreza.costa@gmail.com](mailto:andreza.costa@gmail.com); <sup>3</sup> Graduanda em Agronomia - UFRPE, PIC, email: [cynara\\_moura@yahoo.com.br](mailto:cynara_moura@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Mestre em Melhoramento Genético de Plantas, Bolsista FACEPE, e-mail: [walmalamo@gmail.com](mailto:walmalamo@gmail.com); <sup>5</sup> Graduando em Agronomia - UFRPE, e-mail: [gauchoufrpe@gmail.com](mailto:gauchoufrpe@gmail.com); <sup>6</sup> Empresa Cargofresh AG, An der Strusbek 60-62 D-22926 Ahrensburg, Alemanha, e-mail: [janaina.prazeres@gmail.com](mailto:janaina.prazeres@gmail.com); <sup>7</sup> Professora Adjunta DEPA/UFRPE, Laboratório de Floricultura, e-mail: [vloges@yahoo.com](mailto:vloges@yahoo.com)

### INTRODUÇÃO

A durabilidade pós-colheita das flores cortadas de helicônia é importante para o sucesso da comercialização desse produto, sobretudo no tocante à exportação. Na pós-colheita, dois fatores determinam o período de armazenamento: características genéticas e condições de armazenamento como temperatura, umidade, luz e circulação do ar (NOWAK & RUDNICKI, 1990). O armazenamento de flores de corte é um importante procedimento para regulação da oferta e da demanda (HALEVY & MAYAK, 1981), além de, possibilitar a manutenção da qualidade do produto o que permite a exportação.

A utilização da temperatura baixa ou refrigeração é importante, pois o frio diminui a perda de água, as infecções bacterianas e fúngicas, e inibe os diferentes processos em relação à senescência das plantas e flores (CORBINEAU, 1992). No entanto, a exposição à temperatura inadequada por longos períodos é a maior causa de descarte na floricultura em geral (SONEGO & BRACKMANN, 1995). Entre os métodos de armazenamento, a refrigeração é método mais econômico sob temperatura controlada (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

A atmosfera controlada (AC) é um método utilizado com sucesso para armazenamento de frutas e de algumas flores como cravos e rosas (HALEVY & MAYAK, 1981; NOWAK & RUDNICKI, 1990). O método é baseado na preservação de órgãos vegetais através do controle preciso da mistura de gases, principalmente gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e oxigênio (O<sub>2</sub>). Geralmente, há um aumento de CO<sub>2</sub> e um decréscimo de O<sub>2</sub> (NOWAK & RUDNICKI, 1990; CHITARRA & CHITARRA, 2005) e isso proporciona a redução da respiração, dos processos destrutivos da oxidação (HALEVY & MAYAK, 1981), do crescimento de fungos, inibição da produção e ação de etileno, e prevenção da injúria por frio (REID & SEREK, 1999). O armazenamento de antúrios a 12,5°C em 2% O<sub>2</sub> por duas semanas, aumentou a vida de vaso em 50 % (REID, 2004b).

As flores tropicais, como as helicônias, não devem ser armazenadas em temperaturas abaixo de 10 °C, porque são sensíveis à injúria por frio (REID, 2004a). Para alguns produtos, os efeitos da injúria por frio podem ser superados pelo uso da AC. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a durabilidade de hastes florais de espécies de helicônia armazenadas em atmosfera controlada e refrigeração.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de 28 de junho a 21 de julho de 2006. Hastes florais de *Heliconia bihai*, *H. stricta*, *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Adrian e cv. Golden Torch, *H. psittacorum* cv. Red Opal e cv. Suriname Sassy foram doadas

pela RECIFLORA (Associação dos Produtores de Flores e Plantas Tropicais). Estas foram colhidas no horário da manhã e padronizadas em 90 cm de comprimento.

As hastes florais, após serem pesadas, foram acondicionadas em caixas comerciais de papelão (1,15 m x 0,45 m x 0,20 m) e submetidas a três tratamentos: AC - contêiner com atmosfera controlada à temperatura de 12°C, 5,5% de O<sub>2</sub> e 97% de UR; RF - refrigeração à temperatura de 12°C e 73% de UR; Controle - ambiente do laboratório à  $\pm 22,71^\circ\text{C}$  e  $\pm 59\%$  de UR. O contêiner utilizado para armazenamento das hastes florais foi disponibilizado pela Cargofresh AG, no porto de SUAPE. O refrigerador tipo expositor e as flores mantidas em ambiente permaneceram no Laboratório de Floricultura, DEPA/UFRPE, durante todo o ensaio. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com no mínimo seis repetições (hastes florais) para cada tratamento, totalizando 3 tratamentos.

Após 12 dias as hastes florais mantidas em AC e RF foram removidas das caixas e colocadas em condição de laboratório com a base imersa em água destilada. Para o tratamento Controle aplicou-se a escala de notas desde o início do experimento. A cada dois dias a base das hastes florais foi cortada e a qualidade avaliada de acordo com a seguinte escala de notas: Nota 0 – nenhum dano nas brácteas; Nota 1 – leve descoloração; Nota 2 – alguma descoloração, mas ainda em ponto comercial; Nota 3 – 10% de descoloração, ponto não comercial, porém satisfatório para vaso; Nota 4 – 20% de descoloração, vida de vaso questionável; Nota 5 – 30% de descoloração, não própria para vaso (descarte). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As hastes florais dos genótipos submetidos aos tratamentos apresentaram diferença quanto à durabilidade. Das hastes florais submetidas, por 12 dias, ao tratamento de refrigeração (RF) apenas as cultivares Golden Torch e Red Opal não foram descartadas logo após a retirada da RF (Figura 1). A cv. Golden Torch foi descartada com menos de quatro dias e a cv. Red Opal com menos de oito dias. Na *H. psittacorum* cv. Red Opal ocorreu perda progressiva de água, enquanto que a cv. Golden Torch com massa fresca (88,9%) logo após sair do RF atingiu a massa de (90,8%) na avaliação seguinte. As hastes florais das demais espécies apresentaram tecido das brácteas com aparência de queimado, manchas escuras na inserção das brácteas na ráquis e murchamento das extremidades dos pecíolos das folhas e da base das hastes. Estes sintomas foram semelhantes aos descritos por Bezerra et al. (2005) em helicônias submetidas a baixas temperaturas.

Inflorescências de *H. psittacorum* cv. Sassy submetidas à temperatura de 12°C e avaliadas aos 12 dias não apresentaram injúria por frio, enquanto as mantidas nas temperaturas de 8°C e 10°C apresentaram distúrbio fisiológico causado pelo frio, como escurecimento das brácteas e das estruturas florais, abscisão floral e perda de firmeza estrutural (MATTIUZ et al., 2005).

As hastes florais da cv. Suriname Sassy e *H. stricta* foram descartadas logo após a retirada da AC (Tabela 1). As hastes florais das demais espécies apresentaram ótima qualidade assim que foram retiradas da AC, no entanto, após 48 horas demonstraram perda de qualidade, sendo descartada em menos de sete dias. Os sintomas observados nas hastes florais foram semelhantes aos descritos por Bezerra et al. (2005). As espécies mantidas em AC também apresentaram perda de massa fresca durante o armazenamento, contudo significativamente inferiores àquelas mantidas em RF (COSTA et al., 2006). Logo após a retirada da AC foi observada pequena recuperação da massa fresca, com exceção da *H. bihai* (Figura 1).

As hastes florais de todas as espécies submetidas ao tratamento controle tiveram perda de água progressiva, com exceção da *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy, que possuía 89,2% de massa fresca e na avaliação seguinte apresentou 91,3%. O descarte das hastes florais foi realizado com no mínimo nove dias após o início das avaliações.

A *H. bihai* apresentou maior durabilidade na condição de laboratório e na atmosfera controlada. A injúria por frio foi observada quando as hastes florais foram retiradas do

refrigerador, enquanto que na atmosfera controlada a injúria por frio não foi observada logo após a remoção das hastas florais do container, sendo observada após 48 horas.

Tabela 1. Durabilidade (Dias) de hastas florais de genótipos de helicônia, em condições de laboratório (Controle) e após 12 dias em atmosfera controlada (AC). UFRPE, PE, 2006

Espécie	Controle	AC
<i>H. bihai</i>	15,6 Aa	7,1 Ab
<i>H. psittacorum</i> cv. Red Opal	11,0 Ba	1,6 Cb
<i>H. psittacorum</i> cv. Sassy	9,8 Ba	0,0 Db
<i>H. psittacorum</i> x <i>H. spathocircinata</i> cv. Golden Adrian	11,7 Ba	4,9 Bb
<i>H. psittacorum</i> x <i>H. spathocircinata</i> cv. Golden Torch	11,4 Ba	4,9 Bb
<i>H. stricta</i> cv. Fire bird	10,7 Ba	0,0 Db
CV(%)	24,1	

0\*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo Teste de Scott e Knott P<0,05.

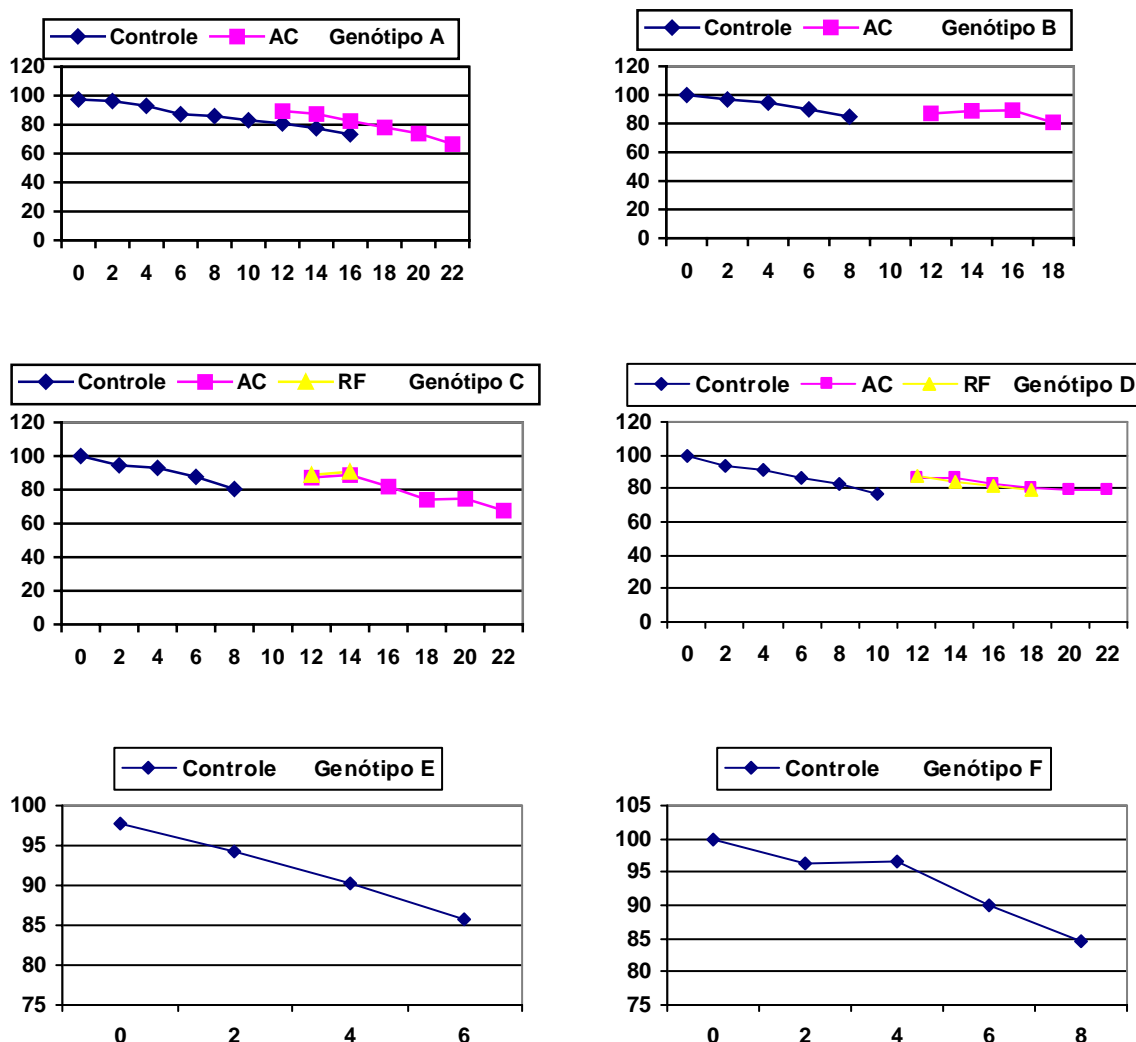


Figura 1. Perda de massa fresca (%) em hastas florais dos genótipos *H. bihai* (A), *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cultivares Golden Adrian (B) e Golden Torch (C), *H. psittacorum* cv. Red Opal (D) e cv. Sassy (E) e *H. stricta* (F), mantidas em Laboratório (Controle), Atmosfera Controlada (AC) e Refrigerador (RF).



## CONCLUSÃO

As espécies de helicônia avaliadas apresentaram diferença quanto à durabilidade. Foi observado sinais de injúria nas hastes florais mantidas em atmosfera controlada, o que a necessidade de condução de mais experimentos para avaliar melhor o efeito do armazenamento sob essas condições.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, A.S.; GUIMARÃES, W.N.R.; PRAZERES, J.N.; VERONA, A.L.; OLIVEIRA, C.M.; BRAUER, B.; WILLADINO, L.; LOGES, V. Perda de massa fresca de hastes florais de *Heliconia* bihai em diferentes condições de armazenamento. In: VI JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – VII SIMPÓSIO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO, 2006, Recife. Anais... Recife: UFRPE, 2006.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CORBINEAU, F. *El enfriamiento de flores y plantas*. Universidad de Pierre y Marie Curie, Paris y CNRS. Meudon, Francia, p.62-90, 1992.

BEZERRA, G.J.S.M.; VERONA, A.L.; MOTTA, R.M.; LOGES, V. Sintomas da Injúria por frio em *Heliconia* sp. In: V JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – XV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2005, Recife. Anais...Recife: UFRPE, 2005.

HALEVY, H.A; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers – Part 2. *Horticultural Reviews*. v.1, p.59-143, 1981.

MATTIUZ, C.F.M.; MATTIUZ, Ben-Hur; DURIGAN, M.F.B.; RODRIGUES, T.J.D.; BONACIN, G.A. Efeito do armazenamento refrigerado em inflorescências cortadas de *Heliconia psittacorum* 'Sassy'. *Revista Horticultura Brasileira*. v.23, n.2, p.562, 2005.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R.M. *Postharvest handling and storage of cut flowers, Florist greens and potted plant*. Timber Press, Portland, Ore. 1990.

REID, M. S.; SEREK, M. *Guide to Food Transport. Controlled Atmosphere*. Ed. Mercantila Publishers, Copenhagen, Denmark. 1999, 153 p.

REID, M.S. *Produces Facts Heliconia, Parrot Flower*. Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. Postharvest Technology Research & Information Center. University of California, Davis. 2004a.

REID, M.S. *Produce Facts Anthurium Flamingo Flower Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*. Postharvest Technology Research & Information Center. University of California, Davis. 2004b.

SONEGO, G.; BRACKMANN, A. Conservação pós-colheita de flores. *Ciência Rural*, Santa Maria. v.25, n.3, p.473-479, 1995.

PALAVRAS-CHAVES: pós-colheita; durabilidade; senescência; injúria por frio.

## Envolvimento das enzimas peroxidase e polifenoloxidase no escurecimento de inflorescências de *Heliconia bihai*.

Guimarães, Adriana Andrade<sup>1</sup>; Finger, Fernando Luiz<sup>2</sup>; Mosca, José Luiz<sup>3</sup>; Gallão, Maria Izabel<sup>4</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Guimarães; Andréa Andrade<sup>5</sup>; Souza, Alan Bernard Oliveira de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa - MG /Tel.: (31) 3899-2200 Fax: (31) 3899-2108 E-mail: [adrianaguimaraes@vicosa.ufv.br](mailto:adrianaguimaraes@vicosa.ufv.br); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa - MG /Tel.: (31) 3899-2200 Fax: (31) 3899-2108 E-mail: [adrianaguimaraes@vicosa.ufv.br](mailto:adrianaguimaraes@vicosa.ufv.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical - R. Dra. Sara Mesquita, 2270 Planalto Pici Cep.: 60511-110 Fortaleza (85) 3299 1800 Fax (85) 3299 1833; <sup>4</sup> Professora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará - Campus Central Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza - CE/ Fone: (85) 3366. 7300 / CEP: 60020-181; <sup>5</sup> Graduanda em Agronomia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - BR 110 - Km 47 Bairro Pres. Costa e Silva CEP 59625-900 Mossoró - Rio Grande do Norte; <sup>6</sup> Graduando em Agronomia da Universidade Federal do Ceará - Campus Central Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza - CE/ Fone: (85) 3366. 7300/CEP: 60020-181

Os sintomas de senescência em *Heliconia bihai* são evidenciados por manchas escuras nas brácteas, que acarretam na perda do valor comercial das inflorescências e ainda reduz sua longevidade. Essas manchas escuras podem ser de natureza enzimática ou não-enzimática. No escurecimento enzimático, os principais fatores envolvidos são dentre outros a atividade das enzimas peroxidase (POD) que utiliza O<sub>2</sub> como substrato e polifenoloxidase (PPO) a qual utiliza H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, promovendo respectivamente oxidação e peroxidação dos compostos fenólicos resultando em manchas escuras na superfície do produto. Diante do exposto, foi proposto nesse trabalho verificar a influência de ambas enzimas no escurecimento de inflorescências de *H. bihai*. Para tal finalidade, as inflorescências foram colhidas quando apresentavam de duas a três brácteas abertas mais o ponteiro e mantidas em solução de *pulsing* de 0 (testemunha); 10 e 15 mM de 2-mercaptoetanol (inibidor de ambas as enzimas) durante seis horas, transcorridos esse período as inflorescências foram transportadas para vasos contendo água destilada, onde permaneceram até o final do período experimental. Diariamente foram avaliadas: aparência visual obtida por meio de escala subjetiva variando de 0 = nota de descarte e 3 = excelente: inflorescência com aspecto de recém colhida e longevidade floral que compreendeu o número de dias entre a colheita até onde as inflorescências obtiveram nota de descarte. Houve interação entre as doses de 2-mercaptoetanol e os períodos de armazenamento, onde as melhores notas da aparência visual foram obtidas em inflorescências tratadas com o inibidor enzimático. A longevidade foi estimada em oito dias para a testemunha e 10 dias para os demais tratamentos. Em relação às manchas de senescência o inibidor enzimático retardou parcialmente seu surgimento, havendo, porém necessidade de investigar mais detalhadamente a influência dessas enzimas sobre a senescência da referida espécie.

### PALAVRAS-CHAVES

*Heliconia bihai*; peroxidase, polifenoloxidase; escurecimento, senescência.

## Longevidade floral de *H. bihai* tratadas com solução de benziladenina.

Guimarães, Adriana Andrade<sup>1</sup>; Finger, Fernando Luiz<sup>2</sup>; Mosca, José Luiz<sup>3</sup>; Gallão, Maria Izabel<sup>4</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Guimarães; Andréa Andrade<sup>5</sup>; Cavalcante, Robson Assunção<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa - MG /Tel.: (31) 3899-2200 Fax: (31) 3899-2108 E-mail: [adrianaquimaraes@vicosa.ufv.br](mailto:adrianaquimaraes@vicosa.ufv.br); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa - MG /Tel.: (31) 3899-2200 Fax: (31) 3899-2108 E-mail: [adrianaquimaraes@vicosa.ufv.br](mailto:adrianaquimaraes@vicosa.ufv.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical - R. Dra. Sara Mesquita, 2270 Planalto Pici Cep.: 60511-110 Fortaleza (85) 3299 1800 Fax (85) 3299 18 33; <sup>4</sup> Professora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará - Campus Central Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza – CE/ Fone: (85) 3366. 7300 / CEP: 60020-181; <sup>5</sup> Graduanda em Agronomia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - BR 110 - Km 47 Bairro Pres. Costa e Silva CEP 59625-900 Mossoró - Rio Grande do Norte; <sup>6</sup> Mestrando em Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará - Campus Central Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza – CE/ Fone: (85) 3366. 7300 / CEP: 60020-181

O prolongamento da longevidade de muitas espécies de flores pode ser obtida pelo uso de fitormônios como a benziladenina (citocinina), responsáveis pelo retardo da senescência em virtude de melhor manutenção da coloração das inflorescências, além de manter os níveis de proteínas e RNA, o que dependerá da espécie, dosagem e época de aplicação. Assim objetivou-se nesse trabalho, verificar a influência da solução de benziladenina na longevidade floral de *Heliconia bihai*. Assim as inflorescências foram colhidas quando apresentavam de duas a três brácteas abertas mais o ponteiro e pulverizadas com 0 (testemunha); 150 e 300 mg. L<sup>-1</sup> de benziladenina. Durante todo o período experimental as inflorescências permaneceram em vasos contendo água destilada sob a temperatura de 25 °C e ± 80% de U. R. Diariamente foram avaliadas: aparência visual obtida por meio de escala subjetiva variando de 0 = nota de descarte e 3 = excelente: inflorescência com aspecto de recém colhida e longevidade floral que compreendeu o número de dias entre a colheita até quando as inflorescências obtiveram nota de descarte. Houve interação entre as doses de benziladenina e os períodos de armazenamento, onde as melhores notas da aparência visual foram obtidas em inflorescências tratadas com o fitormônio, porém, não houve diferença significativa entre as doses de 150 e 300 mg. L<sup>-1</sup>, onde a longevidade floral foi estimada em 12 dias para ambos os tratamentos e de 8 dias para a testemunha.

### PALAVRAS-CHAVES

*Heliconia bihai*; flores tropicais; citocinina, manejo pós-colheita.

## **Influência do revestimento biodegradável nos sintomas de injúria por frio em inflorescências de *Heliconia bihai*.**

Guimarães, Adriana Andrade<sup>1</sup>; Finger, Fernando Luiz<sup>2</sup>; Mosca, José Luiz<sup>3</sup>; Gallão, Maria Izabel<sup>4</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Guimarães; Andréa Andrade<sup>5</sup>; Moura, Suelane Medeiros de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa - MG /Tel.: (31) 3899-2200 Fax: (31) 3899-2108 E-mail: [adrianaquimaraes@vicosa.ufv.br](mailto:adrianaquimaraes@vicosa.ufv.br); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa - MG /Tel.: (31) 3899-2200 Fax: (31) 3899-2108 E-mail: [fffinger@ufv.br](mailto:fffinger@ufv.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical - R. Dra. Sara Mesquita, 2270 Planalto Pici Cep.: 60511-110 Fortaleza (85) 3299 1800 Fax (85) 3299 18 33 E-mail: [mosca@cnpat.embrapa.br](mailto:mosca@cnpat.embrapa.br); <sup>4</sup> Professora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará - Campus Central Av. da Universidade, 2853 - Benfica – Fortaleza – CE/ Fone: (85) 3366. 7300 /CEP: 60020-181; <sup>5</sup> Graduanda em Agronomia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - BR 110 - Km 47 Bairro Pres. Costa e Silva CEP 59625-900 Mossoró - Rio Grande do Norte; <sup>6</sup> Graduanda em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará - Campus Central Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza – CE/ Fone: (85) 3366. 7300 /CEP: 60020-181

A maioria das espécies de flores tropicais apresenta sensibilidade à injúria por frio quando mantidas sob temperatura abaixo de 10 °C, manifestando sintomas que diminuem seu valor comercial. No entanto, o aumento na umidade, redução na concentração de O<sub>2</sub> e acúmulo de CO<sub>2</sub> que podem ser obtidos através de embalagens e revestimentos como emulsões e ceras podem proporcionar redução e/ou retardo nos sintomas de injúria por frio. Desse modo, o presente trabalho objetivou avaliar a eficácia de película à base de galactomanana, glicerol e *Caesalpinia pulcherrima* em prevenir e/ou retardar os sintomas de injúria por frio em inflorescências de *Heliconia bihai*. A colheita das inflorescências deu-se quando essas apresentaram de duas a três brácteas abertas mais o ponteiro, que em seguida foram armazenadas em câmaras frias nas temperaturas de 25°C, 13°C e 7°C com e sem película. Durante todo o período experimental as inflorescências permaneceram em vasos contendo água destilada. Diariamente foram avaliadas: aparência visual obtida por meio de escala subjetiva constando das seguintes notas: 3 = Excelente: aspecto de recém-colhida; 2 = Bom: sinais de senescência pouco característico; 1 = Regular: início de murcha e pequenas manchas; 0 = Descarte: murcha acentuada, manchas e /ou necrose nos tecidos além da avaliação da longevidade floral que compreendeu o número de dias entre a colheita até onde as inflorescências obtiveram nota de descarte. Houve interação entre as temperaturas, uso ou não da película e períodos de armazenamento, onde as melhores notas da aparência visual foram obtidas em inflorescências mantidas a 25°C com cera. A longevidade foi estimada em 10 e 8 dias, respectivamente, para as inflorescências armazenadas a 25 °C com e sem cera, e de seis dias para os demais tratamentos. A película não foi efetiva em prevenir os sintomas de injúria por frio.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Heliconia bihai*; flores tropicais; injúria por frio, revestimentos biodegradáveis.

## **Conservação pós-colheita de *Spathyphyllum walisii* Regel com a utilização de solução de “Pulsing”.**

Mosca, José Luiz<sup>3</sup>; Sousa, Alan Bernard Oliveira de<sup>1</sup>; Moura, Suelane Medeiros<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduando de Agronomia (UFC) -- Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza – CE, CEP: 60020-181 - Fone: (85) 3366 7300, email: [alan2b@gmail.com](mailto:alan2b@gmail.com); <sup>2</sup> Graduanda em Engenharia de Alimentos (UFC); email: [suelanemmoura@gmail.com](mailto:suelanemmoura@gmail.com); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical - Rua Dra Sara Mesquita, 2270 - Planalto do Pici - CEP 60511-110 - Fortaleza – CE, Telefone: (0xx85) 3299-1800 - Fax: (0xx85) 3299-1833 e (0xx85) 3299-1803, email: [mosca@cnpat.embrapa.br](mailto:mosca@cnpat.embrapa.br)

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de solução sacarose (pulsing), aplicada em diferentes concentrações, na conservação de inflorescências de *Spathyphyllum walisii* Regel. As hastes utilizadas foram colhidas no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, localizada no município de Pacajus – CE. Utilizou-se como ponto de colheita espádice e espata totalmente brancas e sem sinais de injúrias. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos: T1-0%, T2-5% e T3-10% de sacarose durante duas horas. Durante todo o armazenamento as hastes permaneceram a seco e em ambiente refrigerado a 9° C + 2 e 80% UR. Foi avaliado o teor de massa fresca e a qualidade aparente das hastes com base em escala de notas subjetivas que variavam de 3 (melhor qualidade comercial) à 0 (descarte). A análise de variância mostrou que não houve interação significativa entre tratamento e tempo de armazenamento. T2 e T3 tiveram médias superiores no que diz respeito ao critério nota em relação a T1, indicando melhor estado de conservação aparente. Para o teor médio de perda de massa fresca, T1 obteve a maior média durante o armazenamento. A utilização de solução “pulsing” com 5% e 10% de sacarose na conservação de *Spathyphyllum walisii* Regel não diferem entre si, porém garantiu melhor aparência visual durante o experimento em relação a 0% de aplicação.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Spathyphyllum walisii* Regel.; pós-colheita; solução pulsing

## Vida pós-colheita de crisântemo com o uso da translocação de sacarose e solução Pulsing.

Sousa, Alan Bernard Oliveira de <sup>1</sup>; Moura, Suelane Medeiros<sup>2</sup>; Mosca, José Luiz <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduando de Agronomia (UFC) -- Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza – CE, CEP: 60020-181 - Fone: (85) 3366 7300, email: [alan2b@gmail.com](mailto:alan2b@gmail.com); <sup>2</sup> Graduanda em Engenharia de Alimentos (UFC); email: [suelanemmoura@gmail.com](mailto:suelanemmoura@gmail.com); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical - Rua Dra Sara Mesquita, 2270 - Planalto do Pici - CEP 60511-110 - Fortaleza – CE, Telefone: (0xx85) 3299-1800 - Fax: (0xx85) 3299-1833 e (0xx85) 3299-1803, email: [mosca@cnpat.embrapa.com](mailto:mosca@cnpat.embrapa.com).

O presente trabalho teve como objetivo analisar a aparência visual e a translocação de açúcar em hastes florais de crisântemos *Dendranthema grandiflora* (Ram.) Tzv. depois de submetidos a tratamentos com diferentes concentrações de sacarose durante duas horas e armazenados em água. Os crisântemos foram colhidos em propriedade localizada na cidade de Maranguape na região metropolitana de Fortaleza no estado do Ceará. As flores foram levadas ao laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, onde foram selecionadas e padronizadas com hastes de 45cm acondicionadas em temperatura ambiente (25°C) mantendo-se as hastes florais por duas horas em diferentes concentrações (0, 2, 4, 6 e 8 % de sacarose). Onde cada tratamento continha seis hastes florais, sendo 3 repetições para análise visual e 3 repetições para análise de translocação de sacarose. Posteriormente as 3 repetições de cada tratamento foram colocadas em recipiente com água, onde diariamente foram avaliadas a aparência visual das flores e folhas utilizando escala de notas subjetivas, compreendidas em: 0 - descarte, 1 – Regular, 2 - Bom e 3 – Excelente. Para a análise de translocação de açúcar, separou-se as 3 repetições que serviram como base para todos os tratamentos antes da colocação das hastes nas soluções e 3 repetições para cada tratamento submetidas as diferentes concentrações. Foram feitas análises destrutivas destas hastes que foram separadas em caule, folhas e flores. Essas partes foram processadas separadamente e submetidas as análises de açúcar solúvel total (AST) e sólidos solúveis totais (SST). As folhas apresentaram diferença estatística entre os tratamentos quanto ao AST, com a maior média para o tratamento com 8 % de sacarose. Os valores dos SST dos tratamentos não diferiram estatisticamente. A análise visual demonstrou que a concentração de 2 % de sacarose foi a que se manteve com melhor qualidade.

### PALAVRAS-CHAVES

crisântemo; pós-colheita; solução pulsing

## Utilização da solução “Pulsing” na conservação pós-colheita de *Heliconia wagneriana* Petersen.

Sousa, Alan Bernard Oliveira de <sup>1</sup>; Moura, Suelane Medeiros<sup>2</sup>; Mosca, José Luiz <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduando de Agronomia (UFC) -- Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza – CE, CEP: 60020-181 - Fone: (85) 3366 7300, email: [alan2b@gmail.com](mailto:alan2b@gmail.com); <sup>2</sup> Graduanda em Engenharia de Alimentos (UFC); email: [suelanemmoura@gmail.com](mailto:suelanemmoura@gmail.com); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical - Rua Dra Sara Mesquita, 2270 - Planalto do Pici - CEP 60511-110 - Fortaleza – CE, Telefone: (0xx85) 3299-1800 - Fax: (0xx85) 3299-1833 e (0xx85) 3299-1803, email: [mosca@cnpat.embrapa.com](mailto:mosca@cnpat.embrapa.com).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de solução “pulsing” (30% de sacarose) na manutenção da turgescência nas hastes florais de *heliconia wagneriana* Petersen. O “pulsing”, é um tratamento rápido de pré-armazenamento. As hastes florais foram colhidas nas dependências da Embrapa Agroindústria Tropical localizada em Fortaleza - CE e levadas ao laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita, onde foram acondicionadas na câmara fria. O ponto de colheita utilizado foi entre 7 a 10 brácteas abertas mais o ponteiro. Imediatamente a colheita foi colocada a base das hastes em água limpa para hidratação, onde permaneceram durante uma hora a temperatura de 25°C. Após, as hastes florais foram divididas em dois tratamentos, sendo o Tratamento1 (T1) colocado em recipiente com água e o Tratamento2 (T2) colocado em solução “pulsing” (30% de sacarose). Os tratamentos foram armazenados em câmara fria a temperatura de 15°C  $\pm$ 2 e 75% UR. Os tratamentos foram avaliados a cada dois dias. Realizou-se avaliação utilizando escala de notas subjetivas, onde foram dotadas de notas compreendidas em: 0 - descarte, 1 – Regular, 2 - Bom e 3 – Excelente, e avaliou-se da perda de massa. Os resultados mostram que não existe diferença significativa entre os tratamentos (T1) e (T2) para o aumento da duração da turgescência das hastes florais e não existe diferença significativa entre (T1) e (T2) para perda de massa. Sendo mais recomendada a utilização de água no lugar de solução de sacarose a 30%.

### PALAVRAS-CHAVES

helicônia; pós-colheita; “pulsing”

## **Pós-colheita de folhagem da falsa murta (*Murraya paniculata*) com a utilização de solução *Pulsing* de sacarose.**

Santos, Diogo Silva<sup>1</sup>; Machado, Pâmella Ribeiro<sup>1</sup>; Silva, Livia Cristina<sup>1</sup>, Pires, Larissa Leandro<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, emails: [diogotanaka@superig.com.br](mailto:diogotanaka@superig.com.br); [pamrm\\_j@hotmail.com](mailto:pamrm_j@hotmail.com); [livota@hotmail.com](mailto:livota@hotmail.com); <sup>2</sup>Docente da Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521.1549, email: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br).

### **INTRODUÇÃO**

A *Murraya paniculata*, conhecida por falsa murta, é um arbusto da família Rutaceae que apresenta excelentes características ornamentais. Quando adulta, essa espécie pode atingir de 4,0 m a 5,0 m de altura, mostrando tronco ereto e copa compacta, de formato arredondado (2,0 m a 3,0 m de raio). Apresenta folhas pinadas, compostas, alternas, de textura firme, ovaladas, coloração verde-escuro brilhante, variando de 2,0 cm a 4,0 cm de comprimento. A inflorescência é disposta na extremidade dos ramos, em panículas, durante quase todo o ano, com flores brancas bastante perfumadas (Lorenzi, 2001).

Além do uso no paisagismo e na arborização urbana, essa espécie vem sendo usada como folhagem de corte para decoração, propiciando a elaboração de belíssimos arranjos. Contudo, sabe-se que essa etapa de pós-colheita carece ainda de muitos estudos, pois são grandes as perdas existentes, levando a prejuízos nesse elo da cadeia da floricultura. Dentre as principais causas dessa deterioração, estão a exaustão das reservas, principalmente de carboidratos pelo processo respiratório; a produção de etileno; a perda excessiva de água e a ocorrência de bactérias e de fungos (Brackmann et al., 1998).

Em vista deste aspecto, técnicas de conservação, que contribuem para manter a qualidade do material vegetal, vêm sendo cada vez mais estudadas e avaliadas. Pesquisas têm demonstrado o efeito benéfico da adição de produtos químicos conservantes nas soluções de manutenção de flores de corte (Dias-Tagliacozzo et al., 2005; Mattiuz et al., 2005); porém, pouco ainda se conhece sobre sua ação nas folhagens. Estes produtos, constituídos principalmente por açúcares, germicidas e inibidores de etileno, podem duplicar ou triplicar a longevidade do material vegetal.

O fornecimento de açúcares, principalmente a sacarose, repõe os carboidratos consumidos pela respiração e reduz a transpiração das flores e folhas, uma vez que atua no fechamento dos estômatos e na regulação osmótica dos tecidos. A baixa temperatura de armazenamento também é um fator importante no retardamento da deterioração, por diminuir os processos metabólicos e o crescimento de patógenos, mantendo a qualidade do produto por mais tempo.

Como toda planta possui características próprias, pode-se afirmar que os sinais de senescência são sempre variáveis de uma espécie para outra. Assim, deve-se primeiramente, caracterizar o material em estudo, para que, em seguida, possa ser feita a análise mais precisa da conservação pós-colheita da espécie desejada.

Por serem escassas as pesquisas nessa área, esse trabalho objetivou avaliar a longevidade de folhagens da falsa murta na fase de pós-colheita, em diferentes ambientes e tratamentos de conservação.

### **METODOLOGIA**

O presente trabalho foi realizado na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. Trabalhou-se com folhagens de falsa murta (*Murraya paniculata*) obtidas diretamente de plantas em condições naturais.

Hastes novas da planta foram colhidas no período matutino, com, aproximadamente, 55 cm de comprimento. Fez-se uma seleção do material, eliminando-se aquele danificado. Em seguida, fez-se uma limpeza das hastes com sabão neutro e água corrente. Um



tratamento preventivo contra fungos foi realizado, utilizando-se o fungicida Mancozeb em solução (20g/10 L de água) por 15 minutos, com posterior imersão das hastes em água destilada para a retirada do excesso do produto. As hastes foram padronizadas em tamanho, permanecendo com 50 cm de comprimento.

Os tratamentos avaliados foram: água destilada (controle, 0%); sacarose a 1%; sacarose a 2% e sacarose a 4%. Para o condicionamento com sacarose, cerca de 10 cm das hastes permaneceram imersos nessa solução de *Pulsing* por 24 horas, mantidas em condição ambiente, à temperatura média de 28°C. Após esse período, as hastes foram submetidas a dois ambientes de conservação: em câmara fria (10°C; 65% UR) e em ambiente natural. Na câmara fria, as hastes foram armazenadas em caixas de papelão; já, em ambiente natural, permaneceram com a base imersa em água destilada (400 mL), trocada no momento de cada avaliação.

As avaliações foram realizadas de três em três dias, a partir do início do condicionamento com a solução, por meio dos parâmetros: massa fresca da haste, obtida por meio de pesagem e; por meio de uma escala de notas, avaliou-se o aspecto geral, a coloração e a turgescência das folhas e da haste (folhagem). Para a atribuição de notas, foram adotados os seguintes critérios: Nota 4 - aspecto geral excelente, folhas túrgidas, com brilho; Nota 3 - aspecto geral bom, início da perda de turgescência; Nota 2 - aspecto geral regular, com perda de turgescência, hastes inclinadas, com muitas folhas secas; Nota 1 - aspecto geral ruim, maioria das folhas caindo e seca e; Nota 0 - descarte das hastes.

Cada tratamento era composto por três hastes de folhas, em quatro repetições. O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, no total de doze hastes por tratamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferenças significativas entre os dois ambientes de conservação de folhagens da falsa murta, tanto em termos de avaliação do aspecto geral, coloração e turgescência (Tabela 1), como em termos de massa fresca do material (Tabela 2). Contudo, notam-se perdas de qualidade e de massa fresca das folhagens ao longo do período de conservação, com comportamento semelhante entre as hastes armazenadas tanto em ambiente natural, como em câmara fria.

Tabela 1. Avaliação do aspecto geral, coloração e turgescência de hastes de falsa murta (*Murraya paniculata*), por meio de escala de notas, conservadas em ambiente natural e em câmara fria.

Tratamentos	Nota da escala de avaliação				
	1 dia	4 dias	7 dias	10 dias	13 dias
Ambiente natural	4,0 a*	3,0 a	2,19 a	1,69 a	0,88 b
Câmara fria	4,0 a	3,0 a	2,07 a	1,75 a	1,38 a

\*Valores significativos, dentro da coluna, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Massa fresca de hastes de falsa murta (*Murraya paniculata*), conservadas em ambiente natural e em câmara fria.

Tratamentos	Massa fresca da folhagem (g)				
	1 dia	4 dias	7 dias	10 dias	13 dias
Ambiente natural	30,630 a*	24,269 a	21,417 a	18,888 a	16,739 a
Câmara fria	30,367 a	25,030 a	20,585 a	18,425 a	16,304 a

\*Valores significativos, dentro da coluna, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Analisando aspecto geral, coloração e turgescência de hastes de falsa murta, observam-se que as folhagens mostraram o mesmo padrão de comportamento até o quarto dia do armazenamento, independentemente do ambiente de conservação e da

concentração de sacarose na solução de *Pulsing*. Após o quarto dia, as folhagens mostraram um decréscimo mais intenso de qualidade, o que perdurou até o final do experimento, após 13 dias (Tabela 3). A partir desse momento, essas hastes tornaram-se inadequadas para o uso na decoração como folhagem de corte.

Tabela 3. Avaliação do aspecto geral, coloração e turgescência de hastes de falsa murta (*Murraya paniculata*) por meio de escala de notas, ao longo da conservação em ambiente natural e em câmara fria.

Concentração de sacarose	Nota da escala de avaliação				
	1 dia	4 dias	7 dias	10 dias	13 dias
<b>Ambiente natural</b>					
0%	4,0	3,0	2,5	2,0	1,5
1%	4,0	3,0	1,8	1,8	1,0
2%	4,0	3,0	2,0	1,3	0,5
4%	4,0	3,0	2,3	1,5	0,5
<b>Ambiente refrigerado</b>					
0%	4,0	3,0	2,8	1,8	1,8
1%	4,0	3,0	2,0	2,0	1,0
2%	4,0	3,0	1,5	1,5	1,3
4%	4,0	3,0	2,0	1,8	2,0

Houve uma tendência decrescente da qualidade (Tabela 4) e da massa fresca (Tabela 5) das folhagens com o aumento da concentração de sacarose na solução de *Pulsing*.

Tabela 4. Avaliação do aspecto geral, coloração e turgescência de hastes de falsa murta (*Murraya paniculata*), por meio de escala de notas, ao longo do período de conservação em ambiente natural e em câmara fria.

Concentração de sacarose	Nota da escala de avaliação				
	1 dia	4 dias	7 dias	10 dias	13 dias
0%	4,0 a*	3,0 a	2,63 a	1,88 ab	1,63 a
1%	4,0 a	3,0 a	2,00 b	2,00 a	1,00 ab
2%	4,0 a	3,0 a	1,75 b	1,38 b	0,88 b
4%	4,0 a	3,0 a	2,13 ab	1,63 ab	1,00 ab

\*Valores significativos, dentro da coluna, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Massa fresca de folhagens de falsa murta (*Murraya paniculata*) ao longo de período de conservação em ambiente natural e em câmara fria.

Concentração de sacarose	Massa fresca da folhagem (g)				
	1 dia	4 dias	7 dias	10 dias	13 dias
0%	28,666 a*	24,890 a	21,679 a	19,135 a	16,915 a
1%	31,123 a	25,490 a	21,883 a	19,742 a	17,513 a
2%	30,521 a	24,503 a	20,394 a	17,929 a	15,712 a
4%	31,683 a	23,715 a	20,049 a	17,820 a	15,948 a

\*Valores significativos, dentro da coluna, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Nota-se que houve redução da qualidade das hastes, avaliada por meio de notas, ao longo do período de conservação, especialmente quando essas foram tratadas com

sacarose a 2% e a 4%. As soluções de *Pulsing* de sacarose não tiveram efeito positivo na durabilidade das hastes em relação ao controle (Tabela 4).

Não houve diferença significativa entre as concentrações de sacarose em termos de massa fresca das hastes da espécie em questão. Contudo, observa-se que houve perda de massa fresca em todos os tratamentos, acontecendo em maior intensidade logo nos primeiros dias após o início do experimento e se estabilizando após o sétimo dia. Essa perda se deve, provavelmente, à transpiração das hastes durante seu processo de senescência.

Essa perda mostrou-se tanto maior nas hastes, quanto mais elevada era a concentração de sacarose na solução de *Pulsing* avaliada, chegando ao máximo de 25% de perda aos quatro dias nas hastes condicionadas com 4% de sacarose (Tabela 5). Contrariamente, Dias-Tagliacozzo et al. (2005) em hastes florais de *Lilium longiflorum* e, Moraes et al. (1997) em hastes florais de *Chrysanthemum leucanthemum*, observaram diminuição da perda de massa e maior longevidade das hastes, respectivamente, com o aumento da concentração de sacarose como solução conservante.

## CONCLUSÃO

O condicionamento de folhagens de *Murraya paniculata* com solução de *Pulsing* de sacarose em concentrações de 1% a 4% não propicia maior longevidade das hastes, tanto em ambiente natural, como em câmara fria. As hastes de falsa murta com finalidade de uso como folhagem de corte podem ser conservadas em ambiente natural, sem o uso de solução condicionante, por um período de até quatro dias após o corte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARKMANN, Auri; BELLÉ, Rogério A.; BORTOLUZZI, Gláucia. Armazenamento de *Zinnia elegans* Jcq. em diferentes temperaturas e soluções conservantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 4, n. 1, p. 20-25, Jan-Abr., 1998.

DIAS-TAGLIACOZZO, Gláucia; GONÇALVES, Charleston; CASTRO, Carlos E. Ferreira de. Manutenção da qualidade pós-colheita de lírio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.11, n.1, p.29-34, 2005.

LORENZI, Harry. **Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 2001, 1088p.

MATTIUZ, Cláudia Fabrino Machado; MATTIUZ, Bem-Hur; RODRIGUES, Teresinha de Jesus Deléo; DURIGAN, José Fernando; PIVETTA, Kathia Fernandes Lopes. Efeito de agentes químicos na conservação pós-colheita de inflorescências de *Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.11, n.1, p.35-42, 2005.

MORAES, Paulo José de; FINGER, Fernando Luiz; BARBOSA, José Geraldo; SILVA, Derly José Henriques da. Efeito do "Pulsing" com sacarose sobre o índice de sobrevivência de *Chrysanthemum leucanthemum* L. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.2, p.80-84, 1997.

## PALAVRAS-CHAVE:

Planta ornamental; conservação; armazenamento.

## Efeito da fitotoxidez de antibióticos no controle de contaminações bacterianas no cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador

Silva Júnior, Jessé Marques;<sup>2</sup>; Paiva, Renato; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Lemos, Eurico Pinto<sup>4</sup>; Toyota, Márcia.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal (UFLA) bolsista CAPES, -mail: jesseagronomo@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Graduando em Agronomia (UFLA) bolsista CNPq; Professor Depto. De Fitotecnia e Fitossanidade CECA/UFAL; <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitopatologia (UFLA) bolsista CNPq.

O Nordeste Brasileiro, situado próximo a Linha do Equador, possui clima quente, com pequena variação no decorrer do ano e forte luminosidade, dispõe de regiões com condições que possibilitam o cultivo de numerosas espécies ornamentais, tanto a campo aberto, como sob proteção de casa-de-vegetação, viveiros ou estufas. A partir da última década do século XX, a floricultura na região Nordeste tem apresentando acentuado desenvolvimento, o mercado consumidor regional, antes abastecido em sua quase totalidade pela produção advinda de outras regiões tradicionalmente produtoras de flores de clima temperado, passou a ser abastecido, em maior proporção, com a produção local, além da introdução de maior quantidade de espécies de clima tropical (Brainer & Oliveira, 2006).

As principais doenças fitopatogênicas que acometem a família das *Zingiberaceae* são causadas pelos agentes *Ralstonia solanacearum* e *Rhizoctonia solani*, bactéria e fungo causadores de podridão de rizoma e de raízes e “damping off” respectivamente, além de murcha bacteriana, danificando toda a produção vegetativa e floral da planta, além de apresentar um agravante que é a disseminação rápida, pelo manuseio do material vegetativo, que basta um foco na produção para que esta seja toda comprometida (Thammakijawat, et al., 1999; Vudhivanich, 2002, Lins & Coelho, 2004). O objetivo deste trabalho foi avaliar efeito fitotóxico de antibióticos no controle de bactérias no cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Plantas provenientes do cultivo *in vitro*, após um certo tempo apresentaram intensa contaminação por bactérias provavelmente endofíticas. Para solucionar tal contaminação, as plântulas foram submetidas a 4 diferentes tratamentos contendo 2 diferentes antibióticos e 2 diferentes concentrações de cada um deles como pode ser vista na tabela 1.

Os antibióticos foram microfiltrados em MILLIPORI® 0,22 µm e adicionados ao meio MS acrescido de 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP após o resfriamento.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 15 repetições, cada repetição era composta por um tubo de ensaio e uma plântula.

Os dados das variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, sendo as avaliações diárias até o 30º dia de cultura, quando ocorreu o primeiro subcultivo e, posteriormente, a cada subcultivo mensal, observando o aparecimento ou não de contaminações.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para combater contaminação bacteriana.

Tratamento	Antibiótico	mg L <sup>-1</sup>
T1	Rifampicina	300
T2	Rifampicina	150
T3	Amoxicilina	500
T4	Amoxicilina	250

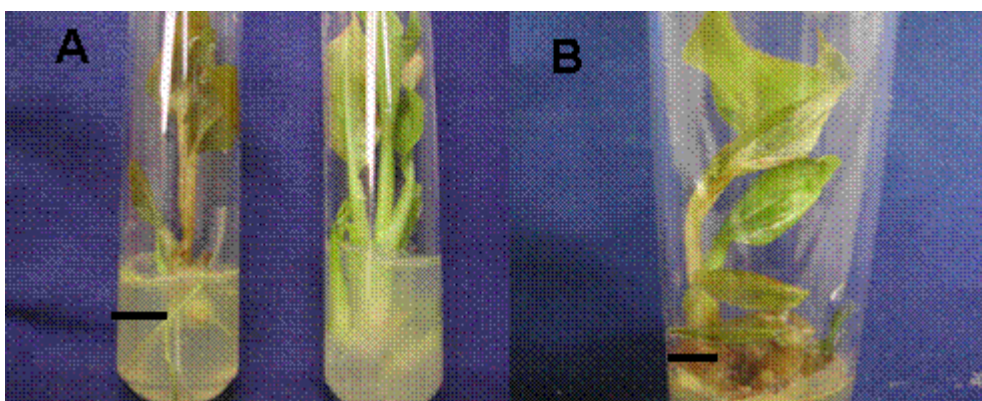


Figura 1. Aspecto do cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador. A) planta apresentando desenvolvimento bacteriano (esquerda), planta sadia (direita) e B) detalhe da contaminação bacteriana. A barra mede 1 cm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os antibióticos rifampicina e amoxicilina, testados neste trabalho foram eficientes no controle das contaminações bacterianas, mas com relação às concentrações, apenas os tratamentos T1 (Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup>) e T2 (Amoxicilina 500 mg L<sup>-1</sup>), obtiveram sucessos. Os outros dois tratamentos T2 (Rifampicina 150mg L<sup>-1</sup>) e T4 Amoxicilina 250 mg L<sup>-1</sup>), não controlaram a contaminação, o que provocou a morte das plântulas (Figura 1). Viana et al. (1997), utilizando rifampicina (300 mg L<sup>-1</sup>) para a descontaminação de explantes de mamoeiro proveniente do campo, obtiveram de 70 a 75% de explantes saudios.

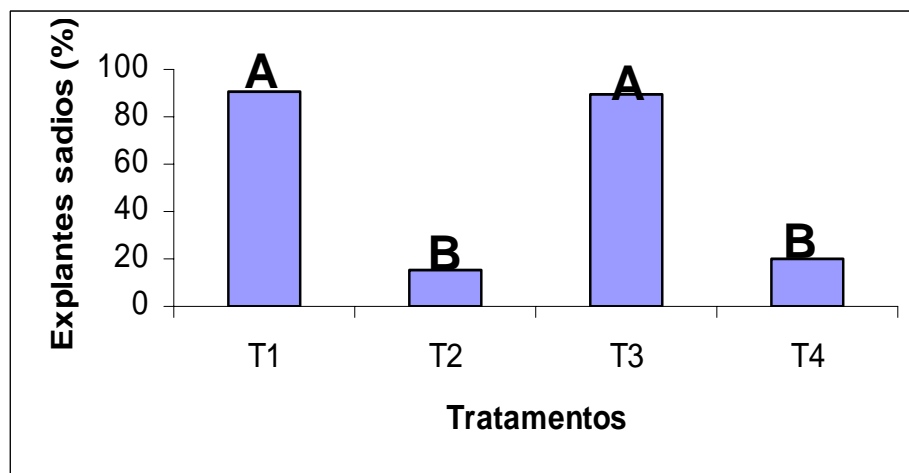


Figura 1- Eficiência dos antibióticos rifampicina nas concentrações (150 e 300 mg L<sup>-1</sup>) T2 e T1 respectivamente; e amoxicilina (250 e 500 mg L<sup>-1</sup>) T4 e T3 respectivamente, no controle das contaminações bacterianas em plântulas de bastão-do-imperador.

Muitos antibióticos podem causar diminuição na taxa de crescimento e multiplicação de plantas *in vitro* no decorrer dos subcultivos, porém dos tratamentos que foram eficientes no controle de bactérias testados neste trabalho, apenas T3 (500 mg L<sup>-1</sup>) ocasionou sensível redução no número médio de brotações (Figura 2).

Como pode ser observado na Figura 2, para o número médio de brotações, o tratamento com rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup> não interferiu no desenvolvimento de plântulas de bastão-do-imperador no decorrer dos subcultivos, o que está de acordo com trabalhos realizados por Young et al., 1984, os quais observaram que o antibiótico rifampicina tem sido considerado eficiente para controlar ou suprimir contaminação endofítica em cultura de tecidos de várias espécies de plantas e que apenas a rifampicina, entre seis antibióticos analisados, controlou a contaminação bacteriana sem alterar a taxa de divisão celular vegetal, em explantes de *Helianthus tuberosus*.

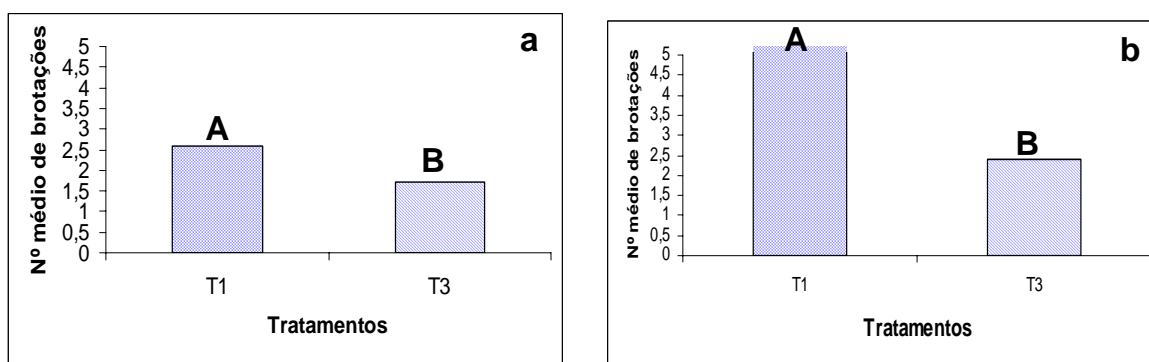


Figura 2a- Número médio de brotações no primeiro subcultivo aos 30 dias após tratamento com antibiótico. T1 (Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup>) e T2 ( Amoxicilina 500 mg L<sup>-1</sup>). 2b- Número médio de brotações no T1 (Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup>) e T2 ( Amoxicilina 500 mg L<sup>-1</sup>) no segundo subcultivo aos 60 dias após tratamento com antibiótico.

A utilização de antibióticos no cultivo *in vitro*, é interessante para o controle de contaminações bacterianas endógenas que frequentemente representam sérios

problemas no estabelecimento *in vitro* das culturas (Grattapaglia e Machado, 1998). No entanto, é consenso que mesmo assim, dificilmente se consegue eliminar completamente as bactérias, pois os antibióticos normalmente utilizados em cultura de tecidos vegetais possuem ação bacteriostática e não bactericida.

## CONCLUSÃO

Rifampicina 300 mg L<sup>-1</sup> é indicado para controle de bactérias em plântulas *in vitro* de bastão-do-imperador.

O cultivo dos explantes em meio nutritivo contendo amoxicilina com 500 mg L<sup>-1</sup> ocasionou sensível redução na taxa de multiplicação e sintomas de fitotoxidez nas plântulas.

Nas concentrações de 150 e 250 mg L<sup>-1</sup> de rifampicina e amoxicilina, respectivamente, não foram eficientes no controle das bactérias, quando adicionados ao meio de cultivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAINER, M<sup>a</sup>. S. C. P & OLIVEIRA, A. A. P. **Perfil da Floricultura no Nordeste Brasileiro**. Artigo apresentado no XLIV Congresso da Sober, realizado em Fortaleza no período de 23 a 27 de julho de 2006.

GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. & BUSO, A. J. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

LINS, S. R. O. & COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v 29, n. 3, Brasília, May/June, p. 332-335, 2004.

MACIEL, J. L. N.; DUARTE, V. & SILVEIRA, J. R. P. Densidade populacional de *Ralstonia solanacearum* em cultivares de batata a campo. **Ciência Rural**, v 34, n. 1, Santa Maria, Jan./Fev, p. 19-24, 2004.

VIANNA, G. R. ; COUTO, F A. A.; OLIVEIRA, A. B. de.; ZAMBOLIM L. & MARIA, J. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. **Bragantia** vol. 56 n. 2 Campinas 1997.

THAMMAKIJJAWAT, P.; THAVEECHAI, N.; PARADHONUWAT, A.; WANNAKAIROJ, S. & SUTHIRAWUT, S. Bacterial rhizome rot of patumma and detection of seed-borne rhizome. In: **37th Kasetsart University Annual Conference**, 3-5 February, Ed. Oates, C. G. Text and Journal Publication Co, Ltd, Bangkok, Thailand:. 295-302, 1999.

YOUNG, P. M.; HUTCHINS, A. S. & CANFIELD, M. L. Use of antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. *Plant Science Letters*, Limerick, **34**:203-209, 1984.

PALAVRAS CHAVES; *Zingiberaceae*, rifampicina, amoxicilina, cultura de tecidos.

## **Levantamento de pragas e caracterização de sintomas de infestação em plantas ornamentais no município de Ilha Solteira-SP.**

Pereira, Edson Gonçalves Junior<sup>1</sup>; Vieira, Marineide Rosa<sup>2</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Horticultura (FCA-UNESP), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3881-0748, email: [edsonjr@fca.unesp.br](mailto:edsonjr@fca.unesp.br);

<sup>2</sup> Docentes da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS-UNESP), Campus Ilha Solteira, Caixa Postal 31, CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (18) 3743-1000, email: [marineid@bio.feis.unesp.br](mailto:marineid@bio.feis.unesp.br); [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br).

### **INTRODUÇÃO**

A arborização em ruas e áreas verdes presta à paisagem um tratamento estético diferenciado, acarretando vários benefícios à população, sobretudo, quanto ao bem estar físico e mental, proporcionado pelo lazer (LIRA FILHO et al., 2001).

A cidade de Ilha Solteira - SP, designada por Estância Turística, desde 2001, apresenta-se satisfatoriamente arborizada, no que diz respeito ao volume de plantas ao longo das avenidas, praças, bairros e demais vias públicas, mas mostram a escassez de planejamento e manutenção da qualidade.

A qualidade das plantas ornamentais depende, em grande parte, do seu estado de sanidade, sendo assim a determinação e identificação do agente causador de danos, são fundamentais para escolha dos métodos mais adequados de controle de pragas e doenças de plantas ornamentais (IMENES e BERGMANN, 1995).

A floricultura, mais do que qualquer outra atividade agrícola, requer cuidados no combate a pragas e doenças, já que o produto final necessita de bom aspecto visual. Contudo, a literatura referente às pragas nessa área, no Brasil, é bastante rara e esparsa, uma vez que as pesquisas desenvolvidas visam ao controle apenas de pragas de culturas para alimentação humana ou animal (FAVERO, 1996).

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo identificar as pragas que ocorrem em plantas ornamentais no município de Ilha Solteira, caracterizar os sintomas e danos decorrentes, e produzir um registro fotográfico do assunto, que possa ser utilizado no manejo das pragas em jardins e áreas verdes.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi desenvolvido em plantas ornamentais presentes nas rotatórias e no canteiro central da Avenida Brasil, na Câmara Municipal, na área verde em frente aos Passeios Lapa e Sabará, nas calçadas dos Passeios Jaú, Corumbá, Lambari, Ladário, Campos, Monção, Correntes, Paranaguá e Icaraí e na área da Agronomia/UNESP-Campus Ilha Solteira, no período de 15 de dezembro de 2005 a 28 de setembro de 2006.

Foram realizadas amostragens mensais em seis espécies de plantas ornamentais, em duas etapas: a primeira denominada análise de campo e a segunda laboratorial, nas quais os resultados foram anotados e fotografados (Figura 1).

Em cada avaliação, para cada espécie, a ocorrência da praga recebeu uma nota para possibilitar uma comparação ao longo do ano, da seguinte forma: Nota 0 – ausência de praga; Nota 1 – Nível baixo: presença de poucos indivíduos; Nota 2 – Nível médio: presença de praga em nível significativo, ocasionando o início do aparecimento de sintomas; Nota 3 – Nível alto: grande incidência da praga, na maioria dos casos com a presença de sintomas significativos.

Os dados climáticos de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação no município de Ilha Solteira foram coletados na Estação Meteorológica da Área de Hidráulica e Irrigação do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos da UNESP - Campus Ilha Solteira.





*Hibiscus rosa-sinensis*



*Ixoracoccinea* "Compacta" L.



*Murraya paniculata* (L.) Jacq.



*Allamanda carthartica* L.



*Nerium oleander* L.



*Ficus benjamim* "Variegata" T.

Figura 1. Plantas ornamentais avaliadas quanto à ocorrência de pragas. Ilha Solteira - SP, 2005/2006.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação relativos observa-se que no período de dezembro a março favoreceram as espécies mais adaptadas a um clima úmido e de forma geral, o período de junho a setembro favoreceu as espécies com melhor desenvolvimento em clima seco (Figura 2).

Em *Hibiscus rosa-sinensis*, as principais pragas encontradas foram às cochonilhas escama farinha, que vivem de modo gregário na face inferior da folha, ocasionando uma descoloração no local e provocando a formação de mancha de coloração vermelha de halo amarelo na face superior em correspondência ao ponto de desenvolvimento da colônia; os ácaros tetraniquídeos encontrados em grupos na página inferior das folhas, sem manifestação de sintomas e as cochonilhas pardas, *Saissetia* sp. (Coccidae), formando colônias em ramos e folhas, alimentando-se pela sucção de seiva, na qual provocam o amarelecimento, queda de folhas e depauperamento da planta (Tabela 1).

As espécies mais significativas em *Ixora coccinea* "Compacta" foram à cochonilha *Orthezia* sp. (Ortheziidae), que vivem agrupadas em ramos e folhas, sugando seiva e injetam toxinas que prejudicam a planta e provocam uma descoloração com aspecto bronzeado; o pulgão verde de espécie não identificada, que formam densas colônias em ramos, flores e folhas novas, alimentam-se pela sucção de seiva e injeção de toxina provocando o amarelecimento das folhas e a cochonilha pardinha, desenvolve-se na face superior das folhas maduras, ao longo da nervura principal, na qual as folhas atacadas podem apresentar o limbo foliar amarelado (Tabela 2).

Em *Murraya paniculata* (Falsa Murta), as principais espécies encontradas foram os ácaros tetraniquídeos de espécie não identificada formando colônias na face inferior das folhas provocando descoloração nas duas faces foliares e as cochonilhas escama farinha, *Pinnaspis* sp. (Diaspididae), que vivem em grupo nos ramos e folhas, sugando seiva e causando depauperamento da planta (Tabela 3).

Na *Allamanda carthartica* (Alamanda), o *Erinnyis ello*, mandarová (Baculorividae), foi a principal praga encontrada, na qual as lagartas alimentam-se vorazmente do limbo foliar, provocando intensa desfolha nas plantas (Tabela 4).

As principais pragas encontradas em *Nerium oleander* (Espirradeira), foram os besouros verdes, *Eumolpus* sp. (Chrysomelidae), que alimentam-se de folhas, reduzindo a área fotossintética da planta; as cochonilhas pardinha, podendo ser encontrada, em pontos

isolados, na face superior de várias folhas, porém sem sintomas significativos e o pulgão amarelo, espécie não identificada (Aphididae), que encontram-se na forma de densas colônias nos órgãos vegetais, onde alimentam-se pela sucção de seiva (Tabela 5).

As folhas de *Ficus benjamim* "Variegata" apresentam grande quantidade de cochonilha pardinha, *Selenaspidus articulatus* (Diaspididae) e cochonilha preta, *Parlatoria ziziphi* (Diaspididae), distribuídas na face superior do limbo foliar, na qual as folhas tendem a amarelar e cair (Tabela 6).

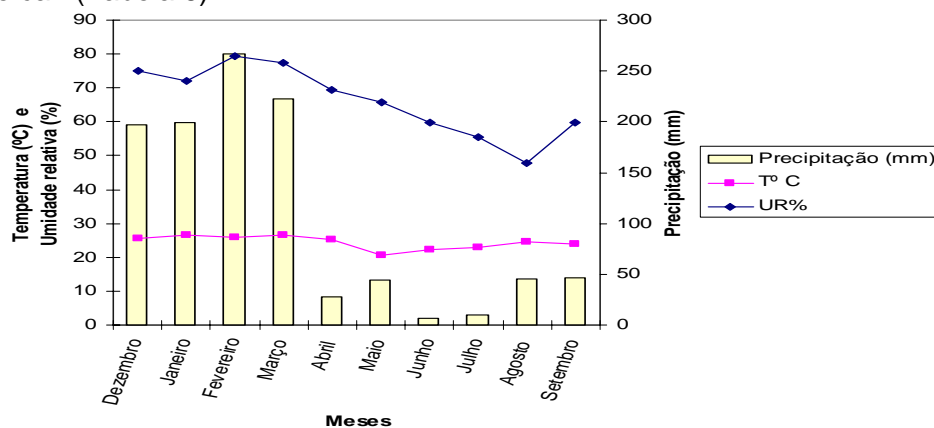


Figura 2. Dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação. Ilha Solteira-SP, 2005/2006.

Tabela 1. Notas atribuídas ao nível de infestação de pragas em *Hibiscus rosa-sinensis* (Hibisco). Ilha Solteira-SP 2005/2006.

Espécies	20/12	25/01	22/02	25/03	29/04	03/06	13/07	22/08	20/09
Ácaro tetraniquídeo	2	2	1	0	0	0	0	0	0
Cochonilha escama farinha	2	2	2	0	0	1	3	3	1
Cochonilha parda	3	3	3	2	0	0	0	0	0
Total	7	7	6	2	0	1	3	3	1

Nota 0: ausência de pragas; Nota 1: nível baixo; Nota 2: nível médio; Nota 3: nível alto.

Tabela 2. Notas atribuídas ao nível de infestação de pragas em *Ixora coccinea* "Compacta" (Mini ixora). Ilha Solteira-SP 2005/2006.

Espécies	20/12	25/01	22/02	25/03	29/04	03/06	13/07	22/08	20/09
Cochonilha pardinha	3	3	2	2	1	2	2	3	2
Pulgão verde	0	0	0	0	0	0	3	0	2
Cochonilha <i>Orthezia</i> sp.	0	0	0	0	0	1	1	2	2
Total	3	3	2	2	1	3	6	5	6

Nota 0: ausência de pragas; Nota 1: nível baixo; Nota 2: nível médio; Nota 3: nível alto.

Tabela 3. Notas atribuídas ao nível de infestação de pragas em *Murraya paniculata* (Falsa Murta). Ilha Solteira-SP 2005/2006.

Espécies	20/12	26/01	23/02	01/04	06/05	10/06	14/07	31/8	26/09
Ácaro tetraniquídeo	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Cochonilha escama farinha	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	6	1

Nota 0: ausência de pragas; Nota 1: nível baixo; Nota 2: nível médio; Nota 3: nível alto.

Tabela 4. Notas atribuídas ao nível de infestação de pragas em *Allamanda carthartica* (Alamanda amarela). Ilha Solteira-SP 2005/2006.

Espécies	20/12	25/01	22/02	25/03	29/04	03/06	13/07	22/08	20/09
Mandarová	3	3	2	2	2	0	0	0	0
Total	3	3	2	2	2	0	0	0	0

Nota 0: ausência de pragas; Nota 1: nível baixo; Nota 2: nível médio; Nota 3: nível alto.

Tabela 5. Notas atribuídas ao nível de infestação de pragas em *Nerium oleander* (Espirradeira). Ilha Solteira-SP 2005/2006.

Espécies	20/12	25/01	22/02	25/03	29/04	03/06	13/07	22/08	20/09
Cochonilha	1	1	1	1	1	1	1	1	1
pardinha									
Pulgão	1	0	0	0	0	3	0	3	3
amarelo									
Besouro verde	3	1	0	0	0	0	0	0	0
Total	5	2	1	1	1	4	1	4	4

Nota 0: ausência de pragas; Nota 1: nível baixo; Nota 2: nível médio; Nota 3: nível alto.

Tabela 6. Notas atribuídas ao nível de infestação de pragas em *Ficus benjamim* "Variegata" (*Ficus*). Ilha Solteira-SP 2005/2006.

Espécies	15/12	24/01	21/02	18/03	21/04	25/05	12/07	17/8
Cochonilha pardinha	2	2	1	1	1	1	2	2
Cochonilha preta	0	0	0	0	3	2	2	2
Total	2	2	1	1	4	3	4	4

Nota 0: ausência de pragas; Nota 1: nível baixo; Nota 2: nível médio; Nota 3: nível alto.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais, conclui-se que muitas espécies de insetos e ácaros foram registradas em plantas ornamentais. Algumas, em função da baixa intensidade não causaram danos significativos. Entretanto, várias delas ocorreram com intensidade suficiente para serem consideradas como pragas de importância.

São elas: ácaros tetrâniquídeos e cochonilha escama farinha em *Hibiscus rosa-sinensis*; cochonilha pardinha em *Ixora coccinea* "Compacta"; *Ficus benjamim* "Variegata" e *Nerium oleander*; pulgão amarelo em *Nerium oleander*; cochonilha *Orthezia* sp. em *Ixora coccinea* "Compacta" e mandarová em *Allamanda carthartica*.

As informações geradas pelo presente trabalho devem auxiliar os profissionais da área no reconhecimento das pragas e seus sintomas, embasando as decisões a serem tomadas no manejo de pragas em áreas verdes e jardins.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IMENES, S.D.L.; ALEXANDRE, M.A.V. (Coord.) **Pragas e doenças em plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Biológico, 2001. CD-ROM.

LIRA FILHO, J.A.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W. **Paisagismo princípios básicos**. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 2001. 163p.

FAVERO, S. **Pragas de plantas ornamentais**. Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Norte Fluminense, 1996. 16p. (Boletim Técnico da Universidade Estadual do Norte Fluminense, 3).

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa: Plantarum, 2001. 1088p.

## PALAVRAS-CHAVES

Plantas ornamentais; pragas; insetos; ácaros; arborização.

## FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE *ZANTEDESCHIA* SP.

Bruno Trevenzoli<sup>1</sup>, Viviane Talamini<sup>2</sup>, [Aline Segeren Fonseca](#)<sup>3</sup> Monique Inês Segeren<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante do curso de Agronomia, ESALQ, Piracicaba e estagiário da ProClone;

<sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, Fitopatologista, e-mail: [vivianetalamini@yahoo.com.br](mailto:vivianetalamini@yahoo.com.br);

<sup>3</sup>ProClone Biotecnologia e produção de mudas matrizes de Laboratório Ltda <sup>4</sup>ProClone Mudas Matrizes de Laboratório, Rua dos Girassóis, 70 Caixa Postal 157, CEP 13.825-000, Holambra, São Paulo, fone: (19) 3802-1787, e-mail: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br)

*Zantedeschia* spp., conhecida como copo-de-leite é uma monocotiledônea ornamental pertencente a família Araceae, nativa do continente africano. Há espécies que produzem flores brancas (*Z. aethiopica*) e também coloridas (*Z. albomaculata*, *ellittiana*, *jacunda*, *odoratum*, *pentlandii* e *rehmannii*), variando de rosa, amarelo até o marrom. Esta cultura vem sendo explorada comercialmente nas principais regiões produtoras de ornamentais do Brasil. Uma das principais doenças desta cultura é a podridão-mole causada pela bactéria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. O controle químico desta doença é bastante difícil e uma alternativa seria o controle biológico utilizando microorganismos endofíticos isolados do próprio copo-de-leite. Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi isolar fungos endofíticos de plantas de *Zantedeschia* sp.. Este trabalho foi desenvolvido na empresa ProClone Mudas Matrizes de Laboratório localizada em Holambra/SP. Para tanto, fragmentos de 3 a 5mm, retirados de bulbos de *Zantedeschia* spp. foram submetidos a assepsia pela imersão em álcool 70% por um minuto, em hipoclorito 3% por 4 minutos e novamente em álcool 70% por 30 segundos, e após lavados em água destilada esterilizada. Após a assepsia os fragmentos foram plaqueados em meio batata, dextrose, ágar, (BDA) e a seguir incubadas a 24°C. A partir do terceiro dia de incubação, pequenos fragmentos de ágar com hifas dos fungos recém desenvolvidos foram transferidos para tubos de ensaios contendo meio BDA inclinado. Os fungos foram identificados por meio da observação das estruturas vegetativas e reprodutivas dos isolados em microscópio óptico e comparação com literatura específica. Foram identificados seis isolados fúngicos, um do gênero *Colletotrichum* sp. e os restantes do gênero *Fusarium* spp.. Estes isolados serão utilizados em futuros testes para controle da podridão-mole em copo-de-leite.

Palavras-chave: Controle Biológico; *Zantedeschia* spp.; fungos endofíticos.

## Toxidez causada por óleo mineral em *Laelia purpurata* (Orquidaceae).

EUCLIDES, Thais Moraes<sup>1</sup>; RAMOS, Rachel Soares<sup>2</sup>; NOVAIS, Roberto Ferreira<sup>3</sup>; RODRIGUES, Donizetti Tomaz<sup>4</sup>; ALVAREZ V., Victor Hugo<sup>5</sup>;

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UFV), Avenida P H Rolfs, sem n.º., Campus Universitário, Departamento de Solos, CEP 36.570-000, Viçosa, MG, fone (31) 9303-4005, e-mail: [thaiseuclides@yahoo.com.br](mailto:thaiseuclides@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Graduanda em Agronomia (UFV), fone (31) 3885-2123, e-mail: [raquelsoaresufv@yahoo.com.br](mailto:raquelsoaresufv@yahoo.com.br);

<sup>3</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630 e-mail: [rfovais@ufv.br](mailto:rfovais@ufv.br) ;

<sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Solos, fone (31) 9207-2811, e-mail: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630, e-mail: [vhav@ufv.br](mailto:vhav@ufv.br).

### INTRODUÇÃO

Constituída por mais de 1.800 gêneros e cerca de 35.000 espécies (Watanabe, 2002) as orquídeas se destacam entre as plantas mais evoluídas e apresentam diferentes respostas a diferentes defensivos. O uso de óleo mineral (uma mistura de hidrocarbonetos parafínicos, ciclo parafínicos e aromáticos saturados e insaturados provenientes da destilação do petróleo) é uma prática comum para o controle de pragas e como adjuvante.

Ao agir como adjuvante, o óleo mineral facilita o contato do inseticida ao dissolver as gorduras componentes da cutícula e membranas celulares (Fleck, 1993). Quando utilizado como inseticida, recobre o corpo do inseto, obstruindo os espiráculos e causando morte por asfixia.

Com o uso inadequado de defensivos a planta responde de diferentes maneiras, podendo até mesmo morrer em situações extremas. Entre os sintomas mais comuns de fitotoxidez está queimadura das folhas, podendo em casos severos atingir toda a lâmina foliar; perda de clorofila em partes das folhas; morte de áreas foliares; alteração na coloração foliar; degeneração de tecidos entre outros. Estes danos podem ser irreversíveis. O uso do óleo mineral aplicado de forma excessiva ou sob condições ambientais inadequadas não foge a essa regra e pode causar sintomas de fitotoxidez.

São escassos os trabalhos que relacionam diversas doses de defensivos aos sintomas de fitotoxidez causados por estes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos tóxicos causados por óleo mineral em plantas de *Laelia purpurata* por meio de sintomas visuais, medidas da massa foliar e cortes anatômicos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, em que foram avaliadas diferentes doses de óleo mineral de uso agrícola (0, 5, 10, 100, 250 e 1.000 mL L<sup>-1</sup>). As doses foram distribuídas em blocos ao acaso com três repetições.

Foi pincelada uma camada das doses nas duas primeiras folhas completamente desenvolvidas. Esta aplicação foi realizada apenas em uma das metades longitudinais do limbo foliar. Também foi pincelada uma camada das doses em uma das raízes desenvolvidas de cada planta.

As plantas foram irrigadas duas vezes ao dia e fertilizadas utilizando adubo mineral completo.

A avaliação foi feita considerando sintomas visuais, massa do limbo foliar e observações em cortes anatômicos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se toxidez nas doses utilizadas, variando de 5 a 1.000 mL L<sup>-1</sup>. Na face abaxial, a massa foliar e espessura do limbo mostraram diminuição, possivelmente por

perda de água, resultante da toxidez. A cutícula nessa região é menos espessa e apresenta maior número de estômatos, estando a folha mais sujeita aos efeitos de toxidez em relação à face adaxial, apresentando sintomas mais precocemente.

Os danos identificados estão relacionados na Tabela 1, com o respectivo tempo após a aplicação do óleo mineral.

Com o aumento da dose (5 a 1.000 mL L<sup>-1</sup>) houve agravamento dos sintomas. A temperatura exerce grande influência, pois acelera e agrava o surgimento dos sintomas. A incidência de luz afeta diretamente os sintomas, pois onde a incidência de luz foi menor, o surgimento de sintomas visuais foi mais tardio.

Os cortes anatômicos mostraram perda de cutícula e danos na parede periclinal das células da epiderme (Figura 1). Nas raízes houve degeneração do tecido (Figura 2).

Tabela 1. Sintomas visuais apresentados pela planta de acordo com o tempo após aplicação do óleo mineral.

Tempo	Sintoma observado
<b>dias</b>	
3	Nas doses de 250 e 1.000 mL L <sup>-1</sup> surgiram os primeiros sintomas visuais caracterizados por manchas escuras e com grande variação de aspecto, que se apresentaram desde pequenos pontos até cobertura parcial ou total do limbo foliar na área aplicada.
10	As plantas submetidas à dose de 10 mL L <sup>-1</sup> (dose recomendada comercialmente) já apresentaram sintomas de estresse evidenciados por manchas roxas. Até mesmo na metade da dose recomendada comercialmente, apareceram estes sintomas (Figura 3A e 3B).
14	Nas doses de 250 e 1.000 mL L <sup>-1</sup> surgiram protuberâncias e ocorreu destruição do tecido superficial na área aplicada (Figura 3C).
25	Notou-se agravamento dos sintomas em todas as doses e aparecimento dos primeiros sintomas na face adaxial.
45	Onde houve acúmulo do óleo mineral no pseudobulbo, houve morte de tecido e conseqüente queda da folha (Figura 4).
270	Evidenciada clorose da planta, devido à degradação de clorofila (Figura 5).



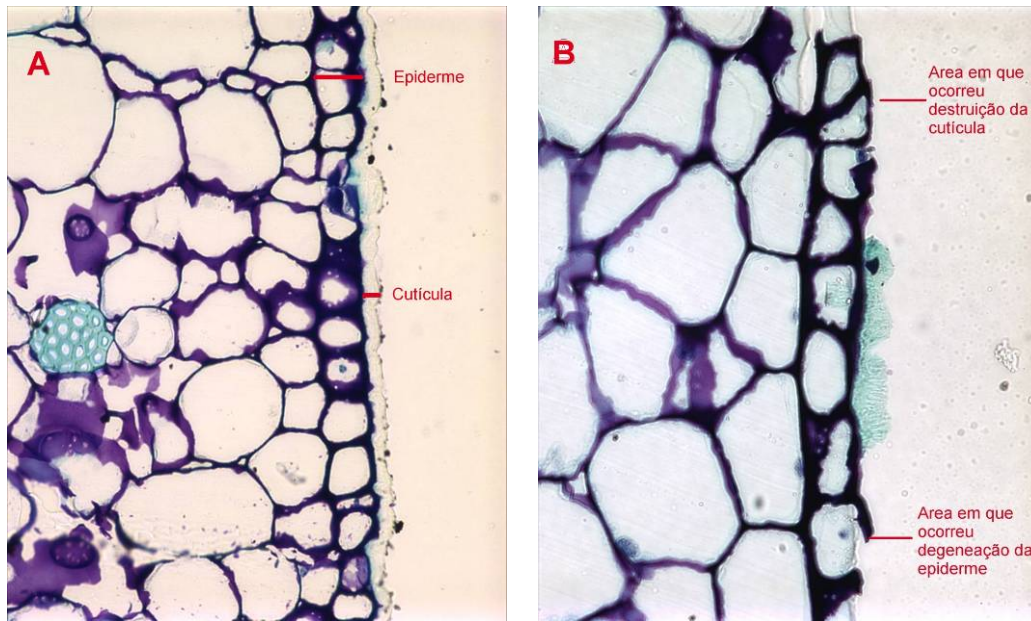


Figura 1. Corte anatômico da planta testemunha (A) e degeneração da epiderme após destruição da cutícula (B) em consequência do uso de óleo após aplicação da dose 1.000 mL L<sup>-1</sup> na face abaxial.

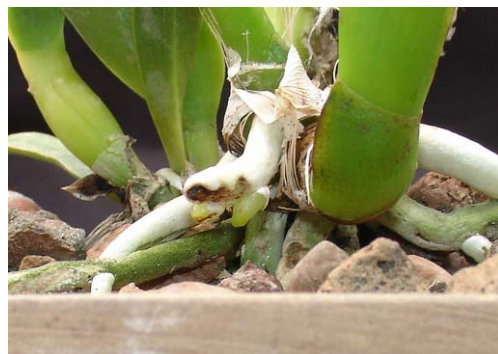


Figura 2. Degeneração dos tecidos da raiz.



Figura 3. Sintomas de toxidez causados pelo óleo mineral após 10 dias de aplicação da dose recomendada comercialmente (10 mL L<sup>-1</sup>) na face adaxial (A), da metade da dose recomendada comercialmente (5 mL L<sup>-1</sup>) na face abaxial (B) e após 14 dias de aplicação da dose 1.000 mL L<sup>-1</sup> na face abaxial (C) ,



Figura 4. Acúmulo do óleo mineral no pseudobulbo, com morte deste e conseqüente queda da folha.



Figura 5. Evidenciada clorose da planta, devido à degradação de clorofilas. Doses 5 mL L<sup>-1</sup> (A), 250 mL L<sup>-1</sup> (B) e 1000 mL L<sup>-1</sup> (C).

## CONCLUSÃO

O uso do óleo mineral causa danos visíveis e expressivos às plantas, resultantes da toxidez nas doses de 5 a 1.000 mL L<sup>-1</sup>, inclusive na dose recomendada comercialmente. Os sintomas mostrados podem ser irreversíveis e causam desde leves sintomas visuais, como manchas nas folhas até morte em determinadas áreas ou toda folha. Os efeitos do óleo mineral, além de variar com a dose, são afetados também pela temperatura, de acordo com a face foliar aplicada e pela incidência de luz.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

WATANABE, D. **Orquídeas: Manual de Cultivo**. São Paulo: Associação Orquidófila de São Paulo, 2002.

FLECK, N. G. **Controle químico de plantas daninhas**. Porto Alegre: UFRGS, 1993. 132p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Laelia purpurata*; *Orchidaceae*; óleo mineral; toxidez.



**Primeiro relato de Podridão do colo em *Zantedeschia aethiopica* causada por *Sclerotium rolfsii* Em Minas Gerais.**

Mesquita, Eliane Rezende<sup>1</sup>; Pereira, Olinto Liparini<sup>2</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia ([elianermesquita@yahoo.com.br](mailto:elianermesquita@yahoo.com.br)), <sup>2</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa-MG.

*Zantedeschia aethiopica* (copo-de-leite) é uma planta herbácea, nativa da África do Sul pertencente à família Araceae. Esta espécie é amplamente utilizada para fins ornamentais em diversos países no mundo, sendo no Brasil considerada uma das principais para indústria de flor de corte. Em dezembro de 2006 sintomas severos de podridão foram observados em plantas de copo-de-leite cultivadas no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa – Viçosa-MG. Os sintomas iniciavam-se com o amarelecimento e inclinação de folhas, seguidos de murcha das plantas e crescimento micelial de aspecto cotonoso na região do colo. Nas áreas mais severamente atacadas foram encontradas estruturas esféricas, uniformes, de cor marrom denominadas escleródios, caracterizando os sinais da doença. O fungo foi isolado e meio V8 a partir do tecido doente. No meio de cultura o fungo apresentava a seguinte morfologia: hifas brancas, ramificadas, com diâmetro de 1,5 a 3,0 µm; escleródios esféricos e elipsoidais de coloração marrom claro a marrom escuro e diâmetro 0,5-2,0 µm, variando e acordo com a idade. O fungo foi identificado como *Sclerotium rolfsii* Sacc. Uma amostra representativa foi herborizada para depósito em herbário (VIC 30448). Para comprovar sua patogenicidade, discos de nove mm de diâmetro, contendo fragmentos de micélio e escleródios, retirados das bordas das colônias foram inoculados na região do colo de plantas sadias de *Z. aethiopica*. Após seis dias, sintomas semelhantes aos previamente observados foram reproduzidos e o fungo foi reinoculado em cultura confirmando a etiologia da doença. Plantas inoculadas somente com discos da cultura (controle), mantidas sob as mesmas condições, permaneceram sadias. De acordo com levantamentos na literatura esse é o primeiro relato de *S. rolfsii* em *Z. aethiopica* no estado de Minas Gerais. Estudos posteriores serão conduzidos visando o controle da podridão do colo em copo-de-leite.

**PALAVRAS-CHAVES**

Copo-de-leite; Araceae; cultivo protegido.

APOIO: Fapemig

## Hipoclorito de sódio na assepsia e resposta na multiplicação *in vitro* de cana de açúcar.

Araújo, Talita G.<sup>1</sup>; Medeiros, L.N.<sup>1</sup>; Falcão, T.I.S.N.<sup>1</sup>; Morais, D.S.C.<sup>1</sup>; Duarte, B.C.<sup>1</sup>; Macedo, C.E.C.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Estudantes do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN-RN), [talit\\_a@hotmail.com](mailto:talit_a@hotmail.com); <sup>2</sup> Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética, [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); UFRN, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é utilizada para a produção de 65% do açúcar mundial, além de álcool, produtos farmacêuticos e outros compostos. Em decorrência da posição de destaque que ocupa na economia mundial, a cultura da cana está frequentemente inserida em programas de melhoramento de espécies cultivadas, visando à introdução de características de interesse agrônomo, como resistência a pragas e doenças, tolerância a herbicidas, aumento no teor de sacarose etc.

Um sério problema enfrentado pelos programas convencionais de melhoramento é a dificuldade de se multiplicar o material selecionado com rapidez. Altas taxas de multiplicação de cana-de-açúcar podem ser obtidas através da cultura de tecidos, com inúmeras vantagens em relação à multiplicação em campo, como a produção de grande quantidade de mudas de qualidade superior em tempo e espaço reduzidos (Lee, 1987). Protocolos eficientes para o controle de contaminantes *in vitro* (Chengalrayan e Gallo-Meagher, 2001) são também fundamentais para a utilização de técnicas de assepsia eficientes, que assegurem novas possibilidades para a obtenção de variedades de cana-de-açúcar com características de interesse, juntamente com o melhoramento convencional.

No cultivo *in vitro*, estes protocolos envolvem a prevenção da contaminação dos explantes, antes da inoculação: autoclavagem do meio de cultura e desinfestação dos explantes com detergente neutro, hipoclorito de sódio e água destilada e estéril entre outros. Mesmo com esses procedimentos, observa-se ainda, contaminação de explantes de cana-de-açúcar. Os microorganismos competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura e provocam danos diretos e indiretos através da colonização de seus tecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio no controle da contaminação de explantes de cana de açúcar, na tentativa de aperfeiçoar as técnicas de assepsia e multiplicação *in vitro* para esta espécie.

### METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no laboratório de estudos em Biotecnologia Vegetal do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, utilizando-se ápices caulinares provenientes de palmitos de cana de açúcar selecionados em campo, cedidos pela Usina Estivas. Foram utilizadas as variedades de cana-de-açúcar RB 92759 e RB 867515 que são cultivadas na usina Estivas para produção de açúcar.

A desinfestação de segmentos de folhas imaturas de plantas do campo das variedades de cana foi realizada de acordo com (Chengalrayan e Gallo-Meagher, 2001). Explantes de cana-de-açúcar foram inoculados em meio de cultura básico MS (Murashige e Skoog, 1962), com adição de BAP; KIN; inositol; ácido cítrico e sacarose em presença de duas concentrações de hipoclorito de sódio: T1 (0,001%) e T2 (0,005%); e, na ausência: T0 (controle, meio MS sem adição do hipoclorito). Para cada tratamento foram inoculados 10 explantes de cada variedade, totalizando assim 60 explantes. Os explantes foram incubados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16:8 (claro/escuro) e temperatura de 27°C. Noventa dias após o cultivo *in vitro*, foram observados: o número de explantes contaminados, o número de explantes oxidados e o número de explantes que formaram brotos. Para análise das diferenças de significância entre os tratamentos, utilizou-se o teste

estatístico do  $X^2$  (QUI-QUADRADO), com significância de 5%. A ordem percentual foi calculada para cada tratamento e para cada variável.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de contaminação, oxidação e brotação dos explantes das variedades RB 92579 e RB 867515, estão discriminadas nas figuras 1 e 2 respectivamente. Na variedade RB 92579, as taxas de contaminação situaram-se entre 10 e 20%. Os testes de significância entre o T0 e o T1 não apresentaram diferença significativa ( $X^2=0,78$ ), assim como as diferenças entre a T0 e a T2 ( $X^2=0$ ) e a T1 comparada a T2 ( $X^2=0,78$ ). Quanto a oxidação, as taxas foram entre 37 e 47% e as diferenças não obtiveram significância. Com relação à taxa de brotação, as mesmas situaram-se entre 15 e 45%.

Os explantes provenientes da variedade RB 867515, apresentaram taxas de contaminação entre 15 e 55%, de oxidação entre 37 e 45% e brotação entre 15 e 37% (Figura 2). Para ambas variedades observou-se contaminação dos explantes mostrando que o hipoclorito não tem ação benéfica no controle de contaminantes, tendo em vista que o índice de contaminação apresentado no tratamento T1 (0,001%) foi o mais elevado.

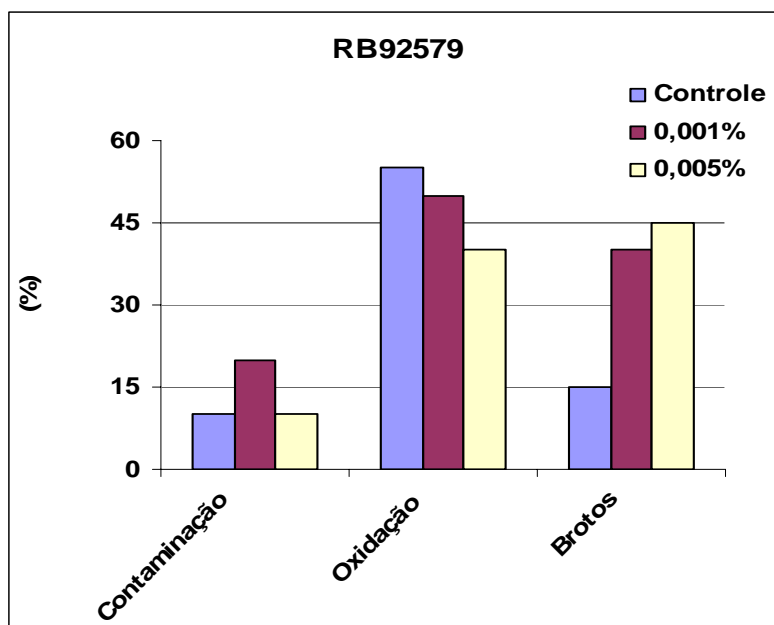


Figura 1. Taxas de contaminação, oxidação e brotação de explantes da variedade RB 92579 na ausência (controle) e em presença do hipoclorito de sódio: T1 (0,001%) e T2 (0,005%).

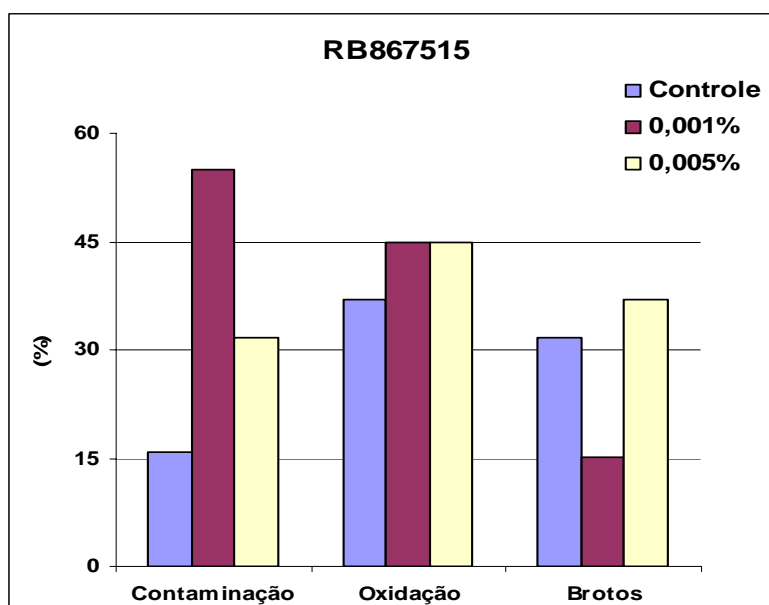


Figura 2. Taxas de contaminação, oxidação e brotação de explantes da variedade RB 867515 na ausência (controle) e em presença do hipoclorito de sódio: T1 (0,001%) e T2 (0,005%).

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados expostos, conclui-se que as duas concentrações de hipoclorito de sódio adicionadas ao meio de cultura, não reduzem as taxas de contaminação quando comparadas às taxas do controle, em ambas as variedades. Portanto, é desnecessária a utilização do mesmo nos meios de cultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LEE, T.S.G. Micropropagation of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 10, p. 47-55, 1987.

CHENGALRAYAN K.; GALLO-MEAGHER, M. Effect of various growth regulators on shoot regeneration of sugarcane. **In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, Wallingford, v. 37, p. 434-439, 2001.

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

PALAVRAS-CHAVE: *Saccharum* sp, cana-de-açúcar, micropropagação, desinfestação *in vitro*, hipoclorito de sódio.

## <sup>1</sup>AGRADECIMENTOS

---

<sup>1</sup> USINA ESTIVAS, FINEP E UFRN (DBG)

## **Efeito de agentes desinfestantes em propágulos do abacaxizeiro *in vitro*.**

Araújo, Talita G<sup>1</sup>; Nogueira do Nascimento, S. M.<sup>1</sup>; Macedo, C. E. C.<sup>2</sup>; Barreto de Oliveira, M.T.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Estudantes do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN-RN), [talit\\_a@hotmail.com](mailto:talit_a@hotmail.com); <sup>2</sup> Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética, [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); UFRN; <sup>3</sup> Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, [mtbrt@cb.ufrn.br](mailto:mtbrt@cb.ufrn.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil é o terceiro maior produtor de abacaxi mundial, estando logo abaixo apenas da Tailândia e das Filipinas, e com uma produção média anual de 1.400.000 toneladas, o que representa cerca de 10% da produção total mundial (FAO, 2003). Dentre os estados brasileiros, que assumem a liderança de produção estão: Paraná, Minas Gerais, Pará, Bahia e Rio Grande do Norte (IBGE, 2001).

As duas variedades mais importantes (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cultivadas no Brasil são 'Pérola' and 'Smooth Cayenne', as quais são muito suscetíveis a fungos.

Apesar da expressiva importância econômica e da potencialidade agrícola desse fruto, alguns problemas tais como: a necessidade de alta qualidade dos propágulos, a baixa taxa de multiplicação de plantas por métodos convencionais e limitações da cultura de abacaxi no Brasil, afetam a produção comercial de abacaxis no Brasil (Ruggieiro, 1994). A importância de solucionar estes problemas, produzindo propágulos de qualidade, livres de contaminantes, aperfeiçoando as taxas de velocidade e de propagação, implica no desenvolvimento de técnicas na cultura de tecidos (Almeida, 1994).

A micropropagação é a aplicação mais prática da cultura de tecidos e baseia-se na limpeza clonal e na multiplicação de espécies ornamentais, herbáceas e arbustivas. Esta aplicação implica na seleção de explantes e posterior desinfestação, no estabelecimento da cultura em meio nutritivo sob condições assépticas, na multiplicação do material vegetal (propágulos) mediante sucessivas subculturas, enraizamento e aclimação (Torres, 1998). Na cultura *in vitro*, para prevenir a contaminação dos explantes por fungos e/ou bactérias, são realizados alguns procedimentos que precedem a inoculação, como: autoclavagem do meio de cultura; desinfestação dos explantes fora e dentro do fluxo laminar com detergente neutro, hipoclorito de sódio ou hipoclorito de cálcio e água destilada estéril. Entretanto, apesar de todos os procedimentos utilizados, ainda observam-se contaminações fúngicas. Com o objetivo de aperfeiçoar os procedimentos e manter as culturas livres de fungos, o presente trabalho testou o efeito dos hipocloritos de sódio e cálcio sobre estas contaminações durante o cultivo *in vitro* de propágulos de abacaxizeiro e avaliou a resposta dos mesmos, quanto à capacidade de brotação.

### **METODOLOGIA**

Neste trabalho foram utilizados propágulos de abacaxizeiro contaminados por fungos. Propágulos contaminados de abacaxizeiro da variedade 'Perola' foram tratados com hipocloritos de sódio e cálcio em 3 tratamentos distintos: T0 (controle-água destilada e autoclavada), T1 (1.0%) e T2 (2%). Os propágulos foram imersos nesses tratamentos por 15 minutos, posteriormente lavados três vezes em água destilada e autoclavada. Os propágulos foram então inoculados *in vitro* em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) e incubados em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16/8 (claro/escuro) e temperatura de 27°C.

A presença dos fungos no meio de cultura MS contendo os propágulos foi observada em dois momentos: pré e pós - tratamento. Com auxílio de alça de henle, estriou-se o meio de cultura MS sobre o meio de cultura próprio para crescimento de fungos (Agar Sabourand), com a adição de 0,05g do antibiótico clorofenicol para inibir o crescimento bacteriano. Após o crescimento dos fungos, culturas puras foram isoladas e observadas em

microscopia ótica.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado organizado em esquema fatorial entre 2 agentes desinfestantes (hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio) e 3 tratamentos (T0= controle, constituído de água destilada e autoclavada; T1= 1.0 e T2 =2% sendo que o controle foi comum aos 2 agentes) com 5 repetições. Trinta dias, após o tratamento com os agentes desinfestantes, foram observados os propágulos contaminados ou não por fungo e computado a taxa de contaminação e a taxa de brotação dos propágulos submetidos aos diferentes tratamentos. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância, onde os dados (em porcentagem) foram convertidos em valores angulares, determinando-se a diferença mínima significativa (DMS) pelo teste de Turkey a nível de 5 % de probabilidade, de acordo com Snedecor & Cochran, 1967. No gráfico, letras diferentes entre os tratamentos mostram diferenças significativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com os dois agentes desinfestantes (hipocloritos de sódio e cálcio) foram efetivos na descontaminação dos propágulos contaminados por fungos. Independente do agente e concentração utilizada, a taxa de contaminação situou-se entre 20 e 80%. Nos propágulos contaminados e que não passaram por um tratamento de desinfestação (controle), a taxa de contaminação por fungo foi de 100% (Figura 1). Os tratamentos com hipoclorito de cálcio a 1 e 2% foram mais eficientes que os tratamentos com o hipoclorito de sódio nas mesmas concentrações (Figura 1).

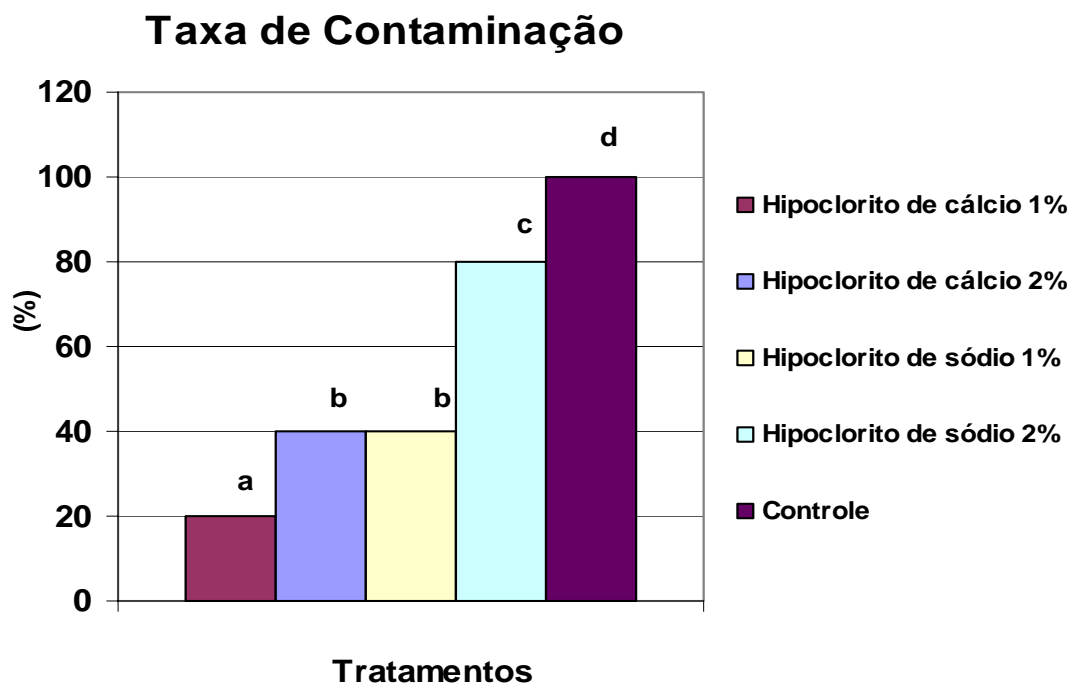


Figura 1. Taxa de contaminação por fungos em propágulos de abacaxizeiro tratados com hipoclorito de sódio (1 e 2%), hipoclorito de cálcio (1 e 2%) e água destilada e autoclavada (controle).

Quanto ao número de brotos formados ou taxa de brotação, foi observado uma redução de 22% nos mesmos quando comparados aos brotos antes dos tratamentos com dois agentes desinfestantes (hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio). Tal perda de brotos possivelmente ocorreu pela ação de contaminantes patogênicos no ambiente e no meio de cultura e/ou pela toxicidade dos hipocloritos com exceção do tratamento controle. Novos experimentos com propágulos totalmente sadios são necessários para se determinar a dose

ou concentração tóxica dos hipocloritos que inibe a multiplicação *in vitro* dos mesmos.

## CONCLUSÕES

Os agentes desinfestantes utilizados neste trabalho foram efetivos na descontaminação de propágulos de abacaxizeiro durante o cultivo *in vitro*, sendo que o hipoclorito de cálcio é o mais recomendado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, W.A.B. de; MATOS, A.P. de; SOUZA, A. da S. Effects of benzylaminopurine (BAP) on *in vitro* proliferation of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.). **Acta Horticulturae**, n.425, p.245-242, 1997.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. (<http://www.fao.org>), 2003.

IBGE. Disponível em: Site **IBGE** (2001). URL: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Levantamento sistemático da Produção Agrícola - LSPA/IBGE (Dezembro 2000). Acesso em março 2001.

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

RUGIGIERO, C. et al. **Controle integrado da fusariose do abacaxizeiro**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 81p.

SNEDECOR, G. W. ; COCHRAN, W. G. Statistical methods. Iowa, Iowa State University Pr. 1967, 593p.

TORRES, A. C. ; CALDAS, L. S. & BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA – CNPH, 1998. p. 102-105.

PALAVRAS-CHAVE: *Ananas comosus*, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, micropropagação.

## <sup>1</sup> AGRADECIMENTOS

---

<sup>1</sup> BNB, EMPARNE E UFRN (DMP E DBG).

## Efeitos de diferentes substâncias naturais na germinação “*in vitro*” de *Uromyces transversalis* (Thümen) Winter em Gladíolo (*Gladiolus* sp.).

Bruno Vinícius Castro Guimarães<sup>1</sup>; Margarida Ventura Santana<sup>1</sup>; Aline Brito Vaz<sup>1</sup>, Thiago Pereira Souza<sup>2</sup>; Manuela Rocha De Brito<sup>2</sup>; Patrícia De Carvalho Porto<sup>2</sup>; Sandra Elizabete de Souza<sup>3</sup>; Paulo Roberto Pinto Santos<sup>3</sup>; Katia Prates Giudice Oliveira<sup>1</sup>; Arminio Santos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Discente do curso de agronomia, <sup>2</sup>UESB, Discente do curso de Ciências Biológicas. <sup>3</sup>UESB, Dept<sup>o</sup> de Fitotecnia e Zootecnia, Estrada do bem querer, km 04, campus Vitória da Conquista, Caixa Postal: 95. CEP: 45.083-900, Vitória da Conquista, Bahia, fone: (77) 3424-8639, e-mail: arminio@uesb.br

### INTRODUÇÃO

A produção de gladíolo constitui-se como uma importante alternativa de renda para agricultores da região da Lagoa das Flores, município de Vitória da Conquista/BA. Esta ornamental se destaca pela sua ótima adaptação as condições edafoclimáticas do local, e também pelo excelente preço que é comercializado. No entanto, a alta exigência do mercado consumidor quanto à qualidade visual e aspecto fitossanitário criam a necessidade de melhores conhecimentos nas áreas de melhoramento, produção e sanidade. Dentre os fatores que podem prejudicar o bom desenvolvimento do gladíolo, pode-se citar a ferrugem causada pelo fungo *Uromyces transversalis* (Thümen) Winter.

A doença foi constatada pela primeira vez no Brasil em 1981, provavelmente introduzida por material proveniente da Argentina (PITTA, 1981). Os primeiros sintomas se manifestam por pequenas áreas descoloridas com cerca de 1,0 mm de largura e 1 cm ou mais de comprimento que podem se coalescer formando manchas maiores que, com o desenvolvimento das pústulas, adquirem uma coloração pardo-ferruginosa. Os pedúnculos florais e as sépalas, quando infectados, podem apresentar os mesmos sintomas (PITTA, 1990).

*Uromyces transversalis* é um fungo biotrófico, o qual produz urediniósporos que podem ser disseminados pelo vento, pela água da chuva ou de irrigação. Temperaturas amenas, períodos prolongados de alta umidade alternados com períodos secos e ação de ventos, são fatores favoráveis para a disseminação e a germinação dos urediniósporos (BEILHARZ et al.2001).

O presente trabalho tem o objetivo de selecionar uma substância natural que interfira na germinação *in vitro* dos urediniósporos de *Uromyces transversalis* para posterior teste em campo, visando um controle econômico e alternativo ao uso de agrotóxicos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) – Campus de Vitória da Conquista, Bahia, usando-se delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, três repetições e nove leituras por repetição, totalizando 135 leituras em microscopia óptica.

A coleta dos urediniósporos foi realizada na localidade de Lagoa das Flores, no município de Vitória da Conquista-Ba. As folhas contendo pústulas de ferrugem foram coletadas e levadas ao laboratório. Para preparo do inóculo, depositou-se amostras das folhas de gladíolo contendo os urediniósporos em recipiente com 20 ml de água destilada esterilizada. A mistura foi agitada por 15 minutos em agitador magnético em velocidade lenta e temperatura de 25°C, de acordo com especificações do aparelho, até ocorrer à separação dos urediniósporos da massa gelatinosa. Para padronizar o inóculo foi realizado um número de dez contagens de 1 ml de solução, na câmara de Neubauer, ficando estabelecida a média de  $34,0 \times 10^4$  urediniósporos /ml.

Três placas contendo ágar-água foram utilizadas para cada tratamento, sendo eles: (1) testemunha; (2) macerado de fumo de rolo; (3) óleo de *Eucalypto citriodora*; (4) óleo de neem; (5) urina de vaca. Cada placa de petri foi inoculada com uma suspensão de  $34,0 \times 10^4$  urediniósporos/ml de *Uromyces transversalis*. As placas foram incubadas por 08 horas em



completa ausência de luz a uma temperatura de 20°C ± 1°C e umidade relativa entre 85 a 90% em sala climatizada. Os propágulos foram inoculados no meio de cultura ágar-água, através de 1 ml de solução. Na “tampa” (do mesmo tamanho da base) das placas, foram colocadas as substâncias naturais (10ml por placa) e invertendo-se sobre esta a base contendo ágar-água previamente inoculada com a suspensão de urediniósporos. Para manter as partes unidas foi utilizado plástico filme de PVC envolvendo a região de união das placas..

Após o período de incubação as placas foram retiradas do escuro. Gotas de glicerol foram colocadas em três pontos diferentes da cada placa de petri e sobre estas foram colocadas lamínulas.

A avaliação foi realizada contando-se os urediniósporos germinados e não germinados em três campos de visão aleatórios em cada uma das três lamínulas colocadas por placa, totalizando uma contagem de vinte e sete campos e nove lamínulas por tratamento. As médias foram obtidas somando-se os valores encontrados nos três pontos analisados por lamínula, somando-se com os valores encontrados nas outras duas lamínulas por placa. Conseguiu-se as médias por tratamento através da soma dos valores encontrada por placa dividindo-se por três (repetições), chegando-se assim à média por tratamento. O delineamento foi do tipo DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado), o teste utilizado foi o de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo a análise de variância a urina de vaca apresentou o melhor efeito entre os tratamentos, interferindo significativamente na germinação dos urediniósporos de *Uromyces transversalis* demonstrando um efeito fungistático sobre o patógeno. O óleo de neem diminuiu a germinação do fungo, não sendo tão eficiente quanto à urina de vaca, mas ainda assim obtendo uma diferença estatisticamente significativa em relação à testemunha. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas quando comparados com a testemunha (tabela 1).

Tabela 1 Efeito das substâncias naturais na germinação de urediniósporos de *U. transversalis* em meio ágar-água(%).

TRATAMENTO	% de germinação
Testemunha	95,05A
Óleo de eucalipto	94,50A
Fumo	90,32A
Óleo de Neem	74,16B
Urina de vaca	24,98C

<sup>(1)</sup> Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

As análises realizadas revelaram que a urina de vaca e o óleo de neem possuem indicativos para serem testados como redutores de crescimento fúngico, tendo em vista que reduziram a germinação dos urediniósporos em relação à testemunha. Entretanto, estudos posteriores devem ser realizados com o objetivo de testar estas duas substâncias (óleo de neem e urina de vaca) em relação a tratamentos químicos convencionais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEILHARZ, V., PARBERY, D.G., AND PASCOE, I.G. 2001. Gladiolus rust (caused by *Uromyces transversalis*) in eastern Australia. *Australas. Pl. Pathol.* 30: 267-270

PITTA, G.P.B.; FIGUEIREDO, M.B.; CARDOSO, R.M.G.; HENNEN, J.F. Ferrugem (*Uromyces transversalis* Tuemen, Winter) uma nova doença do gladiolo (*Gladiolus* spp.) no Brasil. **Biológico**, v.47 n.12, p.323-328, 1981.

PITTA, G. P. B.; CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, R. M. G. **Doenças das plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico. 1990.

**PALAVRAS-CHAVE**

*Gladiolus* sp; ferrugem; urina de vaca; óleo de neem.

## Primeiro relato de *Meloidogyne mayaguensis* em passiflora silvestre.

Silveira, Arlete<sup>1</sup>; Martins, Pedro Luiz<sup>2</sup>; Santos, Jaime Maia<sup>2</sup>; Freitas, Jôsie Cloviane de Oliveira<sup>3</sup>; Souza, Margarete Magalhães<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Professoras da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) - Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais (DCAA) e Departamento de Ciências Biológicas (DCB), Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, CEP 45662-000, Ilhéus, BA, fone (73) 3680-5341, email: [arletesilveira@uesc.br](mailto:arletesilveira@uesc.br); <sup>2</sup>Professores da Universidade Estadual Paulista (UNESP)/FCAV, Departamento de Fitossanidade, Jaboticabal; <sup>3</sup>Apoio Técnico da UESC-DCB, Ilhéus, BA.

Os nematóides de galhas, do gênero *Meloidogyne*, estão entre as pragas que mais afetam as culturas de interesse agrônomo no Brasil. Espécies de nematóide das galhas relatados, até então, associadas à *Passiflora* no Brasil, são: *Meloidogyne arenaria*; *M. incognita* e *M. javanica*. Os fitonematóides do gênero *Meloidogyne*, principalmente *M. incognita* e *M. javanica*, têm ampla gama de hospedeiros entre as plantas invasoras e plantas comercialmente cultivadas e, estão entre os de maior importância econômica para diversas frutíferas brasileiras e flores ornamentais. *Passiflora misera* Kunth é uma espécie de pequeno porte, com flores brancas e folhas ornamentais, e que apresentava sintomas como folhas amareladas e muitas galhas nas raízes, não respondendo à adubação. Amostras de solo e raízes de *P. misera* foram encaminhadas para o Laboratório de Nematologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Ambientais de Jaboticabal, SP - Universidade Estadual Paulista (UNESP/FCAV), das quais 100 cc de solo foram utilizados para extração de fitonematóides através de processamento de centrifugação e 10 g de raiz foram processadas em liquidificador por 20 seg associada à flotação centrífuga. Foram detectadas altas populações de *Meloidogyne mayaguensis*. Em amostras de solo foram detectados 280 nematóides, e em raízes, 2.560 nematóides e 20.480 ovos. Este fitonematóide tem sido relatado parasitando cultura da goiaba, pimentão, pimenta, melão, café, fumo, tomate, entre outros. Este é o primeiro relato de *M. mayaguensis* em *Passiflora misera*. Além deste fitonematóide, foram detectados *Helicotylenchus* sp. e *Rotylenchulus* sp. nesta espécie.

### PALAVRAS-CHAVES

*Passiflora misera*; *Meloidogyne mayaguensis*; Planta ornamental.

APOIO FINANCEIRO: UESC, FAPESB e CNPq.

## Fitonematóides detectados em *Passiflora* spp.

Silveira, Arlete<sup>1</sup>; Martins, Pedro Luiz<sup>2</sup>; Santos, Jaime Maia<sup>2</sup>; Freitas, Jôsie Cloviane de Oliveira<sup>3</sup>; Souza, Margarete Magalhães<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Professoras da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) - Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais (DCAA) e Departamento de Ciências Biológicas (DCB), Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, CEP 45662-000, Ilhéus, BA, fone (73) 3680-5341, email: [arletesilveira@uesc.br](mailto:arletesilveira@uesc.br); <sup>2</sup>Professores da Universidade Estadual Paulista/FCAV, Departamento de Fitossanidade, Jaboticabal; <sup>3</sup>Apoio Técnico da UESC-DCB, Ilhéus, BA.

Os fitonematóides são fatores limitantes para várias culturas, incluindo a cultura do maracujazeiro, devido ao seu potencial patogênico e por serem de difícil controle. A presença de doenças e de problemas fitossanitários, com destaque para as infecções causadas por fitonematóides, têm contribuído para reduzir a vida útil das lavouras. A produtividade de um pomar não ultrapassa mais de duas safras em uma mesma área. Este trabalho teve como objetivo detectar fitonematóides associados à *Passiflora* spp. em condições de telado. As plantas apresentavam-se amareladas, enfezadas, com queda de folhas e muitas galhas nas raízes, o que dificultava a absorção dos nutrientes e de água, favorecia a penetração de fungos e o apodrecimento destas, tendo como consequência a morte da planta. Os fitonematóides relatados como mais prejudiciais à cultura do maracujazeiro são *Meloidogyne* spp. e *Rotylenchulus reniformis*. Amostras de solo e de raiz de espécies de *Passiflora* cultivadas em condições de telado em Ilhéus, BA, foram encaminhadas para o Laboratório de Nematologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Ambientais de Jaboticabal, SP - Universidade Estadual Paulista (UNESP/FCAV), das quais 100 cc de solo foram utilizados para extração de fitonematóides através de processamento de centrifugação e 10 g de raiz foram processadas em liqüidificador por 20 seg associada à flotação centrífuga. A partir das amostras de solo foram detectados *Meloidogyne* sp. e *Rotylenchulus* sp. em *P. coccinea*, *P. rubra*, *P. galbana*, *P. misera* e *P. micropetala*. Além destes fitonematóides foram detectados *Mesocriconema* sp. e *Helicotylenchus* sp. em *P. coccinea*. Nas amostras de raiz foram detectados *Meloidogyne* sp. e *Rotylenchulus* sp. em *P. misera* e em *P. micropetala*. As maiores populações destes fitonematóides foram encontradas nestas cultivares.

### PALAVRAS-CHAVES

*Passiflora* spp.; Fitonematóides; Plantas ornamentais.

APOIO FINANCEIRO: UESC, FAPESB e CNPq.

## **Levantamento de doenças em plantas ornamentais diagnosticadas na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, no período de 2002 a 2006.**

Reis, Simone Novaes<sup>1</sup>; Fernandes, Katiúcia Dias<sup>2</sup>, Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>3</sup>, Souza, Paulo Estevão de<sup>4</sup>; Souza, Ricardo Magela de<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, DAG/UFLA, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35)38291781, e-mail: [sinore@bol.com.br](mailto:sinore@bol.com.br); <sup>2</sup> Aluna do curso de Graduação em Agronomia, UFLA, e-mail: [katiucia103@hotmail.com](mailto:katiucia103@hotmail.com); <sup>3</sup> Professora do Departamento de Agricultura, UFLA, fone (35)38291786, e-mail: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br), <sup>4</sup> Professor do Departamento de Fitopatologia, UFLA, fone (35)38291279, e-mail: [pauleste@ufla.br](mailto:pauleste@ufla.br); <sup>5</sup> Professor do Departamento de Fitopatologia, UFLA, fone (35)38291289, e-mail: [rmagelas@ufla.br](mailto:rmagelas@ufla.br).

### 1. Introdução

A diagnose de doenças de plantas permite aos produtores realizar corretamente o controle dos patógenos, evitando erros e desperdícios.

A Clínica Fitossanitária da UFLA, credenciada no Ministério da Agricultura como Centro de Diagnose, oferece a produtores, pesquisadores, empresas e particulares serviços de análise de material vegetal, para identificação de fungos, bactérias, vírus e nematóides, análise de solos (para detecção de fungos e nematóides), análise de pragas, de plantas invasoras e análise de risco de pragas (ARP).

Nos arquivos da Clínica Fitossanitária encontram-se as análises de plantas ornamentais já realizadas e que podem oferecer informações sobre os problemas encontrados pelo setor, e que podem nortear as pesquisas na área de fitossanidade.

O objetivo deste trabalho foi verificar os resultados de amostras de análises realizadas na Clínica Fitossanitária com plantas ornamentais, considerando espécie, região, patógeno diagnosticado e frequência de ocorrência, no período de 2002 a 2006.

### 2. Materiais e Métodos

O levantamento foi realizado na Clínica Fitossanitária da UFLA, através da análise das fichas das amostras processadas no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006.

As amostras de materiais recebidos passam por uma triagem com objetivo de separar doenças abióticas de bióticas. Para essa seleção observam-se os sintomas apresentados com base na literatura, como por exemplo, Pitta et al. (1990), Hawksworth et al. (1995), Ponte (1996), Kimati et al. (1997), Zambolin et al. (1997), compêndios, boletins e outras publicações, além de consultas ao herbário "Prof. Josué Augusto Deslandes do DFP/UFLA".

Após a triagem, o material é encaminhado para o laboratório específico, como o de Diagnose de Enfermidades Fúngicas, Bacteriologia, onde os testes para identificação do patógeno são realizados.

Para identificação de fungos realizaram-se exames da planta doente com auxílio de lupa e também foram feitos cortes do tecido vegetal, sendo observados em microscópio estereoscópico. Se a identificação não for possível dessa maneira, o passo seguinte é colocar a amostra em câmara úmida e/ou realizar isolamento em meio de cultura (BDA, Agar-água) de acordo com metodologia descrita por Kirally et al. (1974).

As amostras enviadas ao laboratório de bacteriologia passam pelo teste de exsudação em gotas (em caso de sintomas de podridão, congestionamento de água nos tecidos e exsudação) ou corrida em bordo de copo (em casos de necrose ou murcha). Quando o resultado desses testes mostra a presença da bactéria é realizado o isolamento em meio 523 de Kado & Heskett (1970). Após o período de incubação foram analisadas as características das colônias (cor, morfologia, testes bioquímicos) para identificação do gênero.

As viroses foram identificadas por sintomatologia, inoculação em plantas indicadoras e testes sorológicos (DAS-ELISA).

### 3. Resultados e discussão

No período de 5 anos foram recebidas pela Clínica Fitossanitária (CF) da UFLA 41 amostras de plantas ornamentais para análise, provenientes de 16 cidades diferentes dos estados de Minas Gerais (78%) e São Paulo (22%). Essas amostras continham 28 espécies diferentes, desde plantas de jardim, passando por cultivos comerciais e material de propagação importado.

No ano de 2004 a CF recebeu o maior número de amostras do período, num total de 21, número esse bastante superior ao dos outros anos. Em 2003 e 2005 foram recebidas apenas 7 amostras em cada um deles. As análises realizadas detectaram a presença de fungos, bactérias, vírus, nematóides, musgos e deficiência nutricional.

Na tabela 1 encontram-se listadas as plantas analisadas e respectivos patógenos associados.

Tabela 1 – Lista de espécies analisadas na Clínica Fitossanitária da UFLA e respectivos patógenos associados.

ESPÉCIE	PATÓGENO ASSOCIADO
Amarylis – bulbos	<i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Erwinia carotovora</i> ; <i>Pseudomonas</i> sp.
Arundina	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Fusarium solani</i> ; <i>Colletotrichum</i> sp.
Azaléia	Musgos
Cinerária	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Fusarium</i> sp.
Copo-de-leite	<i>Erwinia carotovora</i> ; Ácaro
Cravo	<i>Fusarium oxysporum</i>
Eryngium	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Penicillium</i> sp.; <i>Trichoderma</i> sp.
Gladíolo	<i>Fusarium</i> sp.; <i>Penicillium</i> sp.
Gramma	<i>Pythium</i> sp.; <i>Curvularia</i> sp.; <i>Fusarium semitectum</i> ; <i>Stemphilium</i> sp.; <i>Trichoderma</i> sp.; <i>Fusarium</i> sp.; <i>Penicillium</i> sp.; <i>Phoma</i> sp.; <i>Pythium</i> sp.; <i>Helminthosporium</i> sp.
Gramma Esmeralda	<i>Curvularia</i> sp.; <i>Pythium</i> sp.; <i>Rhizoctonia</i> sp.; <i>Fusarium</i> sp.
Gramma São Carlos	<i>Helminthosporium</i> sp.; <i>Fusarium</i> sp.; <i>Rhizoctonia</i> sp.
Hemerocalis	<i>Ferrugem</i>
Hibiscus	<i>Oidium</i> sp.; <i>Botrytis</i> sp.; <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Hortências	<i>Cercospora</i> sp.; <i>Alternaria</i> sp.; <i>Alternaria alternata</i>
Íris	<i>Aspergillus</i> sp.; <i>Aspergillus niger</i> ; <i>Trichoderma</i> sp.
Ixora	<i>Pestalotia</i> sp.
Lágrima de cristo	<i>Colletotrichum</i> sp.; <i>Pestalotia</i> sp.; <i>Nigrospora</i> sp.
Lírio	<i>Fusarium</i> sp.; <i>Penicillium</i> sp.; <i>Trichoderma</i> sp.; <i>Aspergillus</i> sp.; <i>Colletotrichum</i> sp.; ferrugem; <i>Rhizopus</i> sp.; <i>Cladosporium</i> sp.; <i>Epicocum</i> sp.; <i>Botrytis</i> sp.
Maria-sem-vergonha	<i>Phytophthora</i> sp.
Orquídea	Vírus
Palmeira caryota	Sem estruturas fúngicas
Palmeira real	<i>Bursaphelenchus cocophilus</i>
Planta ornamental	<i>Fusarium solani</i> ; <i>Colletotrichum</i> sp.; <i>Fusarium</i> sp.
Portulaca (onze horas)	<i>Plasmodiophora</i> sp.
Roseira	<i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Aspergillus</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.
Tulipa	<i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Trichoderma</i> sp.; <i>Aspergillus</i> sp.

Os fungos foram os patógenos de maior ocorrência nos resultados encontrados. Esse fato também foi observado por Talamini et al. (2003) e Garcia Junior et al. (2003). Segundo Agrios (1997), os fungos são os agentes etiológicos de maior ocorrência em

plantas. Dos 23 gêneros identificados, predomina o gênero *Fusarium*, e as espécies *Fusarium* sp., *F. oxysporum*, *F. solani* e *F. semitectum*. Em seguida sobressaem *Trichoderma* sp., *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* sp. e *Penicillium* sp.

A bactéria *Erwinia carotovora* foi o único gênero encontrado, associado a duas amostras de plantas bulbosas. Somente em uma amostra de palmeira, com sintomas de anel vermelho, foi observada a ocorrência de nematóide (*Bursaphelenchus cocophilus*).

As demais análises apresentaram como resultado a presença de musgo, vírus (não identificado), ácaro, deficiência nutricional e até mesmo a ausência de patógenos.

Em alguns casos o material enviado não continha informações suficientes para um diagnóstico mais preciso, como por exemplo, a ausência do nome da espécie de grama ou somente a identificação como planta ornamental. Também faltava em muitos casos a descrição dos sintomas, das condições ambientais do local de cultivo.

Um dado interessante foi a constatação de que amostras coletadas em jardins foram enviadas para análise, demonstrando a importância que esses, assim como as plantas ornamentais apresentam tanto para produtores quanto para aqueles que os apreciam.

#### 4. Conclusão

- Os fungos são os patógenos de maior ocorrência nas espécies analisadas.
- O gênero de maior ocorrência nas culturas foi o *Fusarium*.
- Mesmo em menor número, os demais patógenos também aparecem como causadores de danos em plantas ornamentais.

#### 5. Referências

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. New York, Academic Press, 1997. 635 p.

GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA, E.A.; SOUZA, P.E.; TALAMINI, V.; POZZA, A.A.A.; CASTRO, H.A.; SOUZA, R.M.; ABREU, M.S.; PFENNING, L.H. Freqüência de ocorrência de agentes etiológicos, sintomas e origem de amostras do cafeeiro catalogados em 12 anos de clínica fitossanitária da UFLA. **Ciência e agrotecnologia**., Lavras. V.27, n.1, p.173-177, jan./fev., 2003

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Dictionary of the fungi**. Wallingford:[s.n.], 1995. 616 p.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas e Xanthomonas. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 60, n. 6, p. 969-976, jun. 1970.

KIMATI, H.; AMORIM, L. BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, 775 p.

KIRALLY, Z.; KLEMENT, Z.; SOLYMOSY, F. et al. **Methods in plant pathology**. Budapeste: Akad.Kiadó, 1974. 609 p.

PITTA, G.P. B.; CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, R. M. G.. **Doenças das plantas ornamentais**. São Paulo: Inst. Brasileiro do Livro Científico, 1990 185 p.

PONTE, J. J. **Clínica de doenças de plantas**. Fortaleza:EUFC, 1996. 872 p.

TALAMINI, V.; POZZA, E.A., SOUZA, P.E.; GARCIA JUNIOR, D.; CASTRO, H.A.; SOUZA, R.M.; ABREU, M.S. Dez anos da clínica fitossanitária da ufla – freqüência da ocorrência

de patógenos, sintomas e principais hospedeiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27,n.1, p.70-75, jan/fev, 2003.

ZAMBOLIN, L.; RIBEIRO DO VALE, F. X.; PEREIRA, A.A.; CHAVES, G. M. Café (*Coffea arabica* L.), controle de doenças. In: RIBEIRO DO VALE, F. X.; ZAMBOLIN, L. (Ed.). **Controle de doenças de plantas: grandes culturas**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1997. v. 2, p. 83-179.

PALAVRAS-CHAVE: doença, diagnose, planta ornamental, clínica fitossanitária



## Toxidez causada por óleo de nim em *Laelia purpurata* (Orquidaceae).

EUCLIDES, Thais Moraes<sup>1</sup>; NOVAIS, Roberto Ferreira<sup>2</sup>; RODRIGUES, Donizetti Tomaz<sup>3</sup>; ALVAREZ V., Victor Hugo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UFV), Avenida P H Rolfs, sem nº., Campus Universitário, Departamento de Solos, CEP 36.570-000, Viçosa, MG, fone (31) 9303-4005, e-mail: [thaiseuclides@yahoo.com.br](mailto:thaiseuclides@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630 e-mail: [rfnovais@ufv.br](mailto:rfnovais@ufv.br) ;

<sup>3</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Solos, fone (31) 9207-2811, e-mail: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br);

<sup>4</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630, e-mail: [vhav@ufv.br](mailto:vhav@ufv.br).

### INTRODUÇÃO

O uso de plantas com propriedades inseticidas é uma prática muito antiga (Roel et al., 2000; Gallo et al., 2002). Os inseticidas sintéticos, apesar da eficiência, podem apresentar uma série de problemas, como contaminação ambiental, presença de altos níveis de resíduos nos alimentos, desequilíbrio biológico devido à eliminação de inimigos naturais, e surgimento de populações de insetos resistentes (Hernández & Vendramim, 1996). Além disso, a fitotoxicidade, o efeito sobre outros organismos não-alvo e o aumento no custo dos pesticidas tornaram necessária a busca por produtos biodegradáveis e seletivos (Raguraman & Singh, 1999).

Algumas vantagens do uso de extratos vegetais, como a menor probabilidade de desenvolvimento de resistência pelos insetos, compatibilidade com outros métodos de controle e menor toxicidade a mamíferos, são apontadas por Gallo et al. (2002). As características de produtos naturais, de baixa toxicidade e persistência, fazem com que os extratos vegetais sejam associados a um menor impacto ambiental.

Diversos processos fisiológicos nos insetos são afetados pelos compostos secundários derivados do nim, impedindo o funcionamento normal de seu metabolismo. A azadiractina, principal composto bioativo extraído do nim, atua negativamente na biologia dos insetos provocando inibição alimentar, redução da motilidade intestinal, interferência na síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e adultos, redução na fecundidade, longevidade, esterilização, inibição na oviposição e mortalidade de formas imaturas e adultos (Schmutterer, 1988; Mordue (Luntz) e Backwell, 1993). Também pode interferir na concentração de hormônios que regulam a muda dos insetos (Howatt, 1994).

As espécies mais facilmente controladas pelo nim são as lagartas, pulgões, cigarrinhas, besouros mastigadores. Resultados de pesquisa do IAPAR mostraram efeitos letais e deformidades em larvas e pupas de lagarta-do-cartucho do milho, curuquerê do algodoeiro, ácaros e bicho-mineiro, cochonilhas e redução de postura em bicho-mineiro, broca-do-café e mosca branca (Martinez, 2002).

O uso do nim como formulação pode ser na forma de pó seco, extrato aquoso e, ou, orgânico (metanólico, etanólico, acetônico, clorofórmico, hexânico), óleo e pasta (Saxena, 1989).

Os estudos feitos até o momento, apesar dos resultados promissores, apontam para uma série de limitações ao uso de extratos vegetais. Entre essas limitações, pode ser apontada a falta de dados, principalmente no Brasil, relacionados à fitotoxicidade. Outra limitação importante é a falta de padronização do teor de azadiractina, o que torna bastante variável a eficiência de controle e seletividade das formulações de nim.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxidez causada por uma formulação comercial de nim encontrada no mercado brasileiro, em folhas de *Laelia purpurata* (Orquidaceae).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, em que foram avaliadas diferentes doses de óleo de nim (0, 5, 100, 250 e 1.000 mL L<sup>-1</sup>). As doses foram distribuídas em blocos ao acaso com três repetições.

O óleo de Nim foi aplicado com auxílio de um pincel nas duas primeiras folhas completamente desenvolvidas. Esta aplicação foi realizada apenas em uma das metades longitudinais do limbo foliar, na face abaxial. A outra metade não recebeu o óleo e foi utilizado com referência.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação, irrigadas duas vezes ao dia e fertilizadas semanalmente utilizando adubo mineral hidrossolúvel.

A avaliação foi feita considerando sintomas visuais e medidas utilizando o SPAD segundo metodologia proposta por MARKWELL et al., 1995.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Verificou-se toxidez nas doses utilizadas, variando de 5 a 1.000 mL L<sup>-1</sup> (Quadro 1). A cutícula na face abaxial foi utilizada pelo fato da mesma ser menos espessa e apresentar maior número de estômatos, dessa forma mais sujeita aos efeitos de toxidez em relação à face adaxial.

QUADRO 1 - Sintomas visuais apresentados pela planta de acordo com o tempo após aplicação do óleo mineral.

### **Sintoma observado**

Nas doses de 250 e 1.000 mL L<sup>-1</sup> surgiram primeiros os sintomas visuais, caracterizados por manchas escuras e com grande variação de aspecto, que se apresentaram desde pequenos pontos até cobertura parcial ou total do limbo foliar na área aplicada (Figura 1C e 1D).

Notou-se agravamento dos sintomas em todas as doses (Figura 1).

Até mesmo abaixo da dose recomendada comercialmente, apareceram manchas (Figura 1A).

Clorose nas áreas onde houve aplicação do óleo, devido à degradação de clorofila (Figura 2).

Com o aumento da dose (5 a 1.000 mL L<sup>-1</sup>), houve agravamento dos sintomas (Figura 1). Acredita-se que o aumento da temperatura exerça grande influência, pois pode acelerar e agravar o surgimento dos sintomas.

A perda relativa de clorofila em resposta à dose de óleo de nim foi avaliada com medidas de SPAD (Figura 3).

Os sintomas observados não foram suficientes para obter uma análise estatística. Porém os danos são evidentes, necessitando-se da confirmação em um novo experimento que já está em condução.

## **CONCLUSÃO**

O uso do óleo de nim causa danos visíveis e expressivos às plantas, resultantes da toxidez nas doses de 5 a 1.000 mL L<sup>-1</sup>. Os sintomas mostrados são irreversíveis e causam desde leves sintomas visuais, como manchas nas folhas até clorose e necrose.

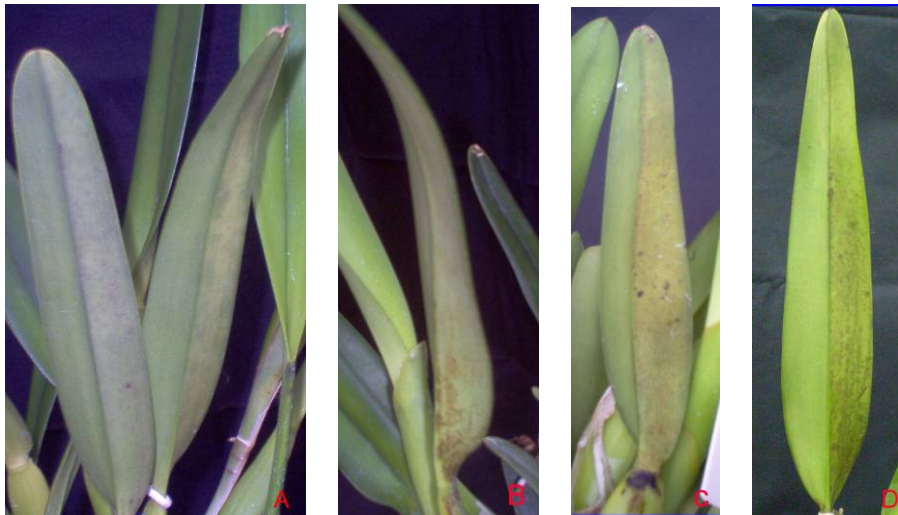


Figura 1. Sintomas de toxidez causados pelo óleo de nim após aplicação das doses 5 mL L<sup>-1</sup> (A), 100 mL L<sup>-1</sup> (B), 250 mL L<sup>-1</sup>(C) e 1.000 mL L<sup>-1</sup> (D).



Figura 2 – Clorose da planta. Doses 5 mL L<sup>-1</sup> (A), 100 mL L<sup>-1</sup> (B), 250 mL L<sup>-1</sup>(C) e 1.000 mL L<sup>-1</sup> (D) de óleo de nim.

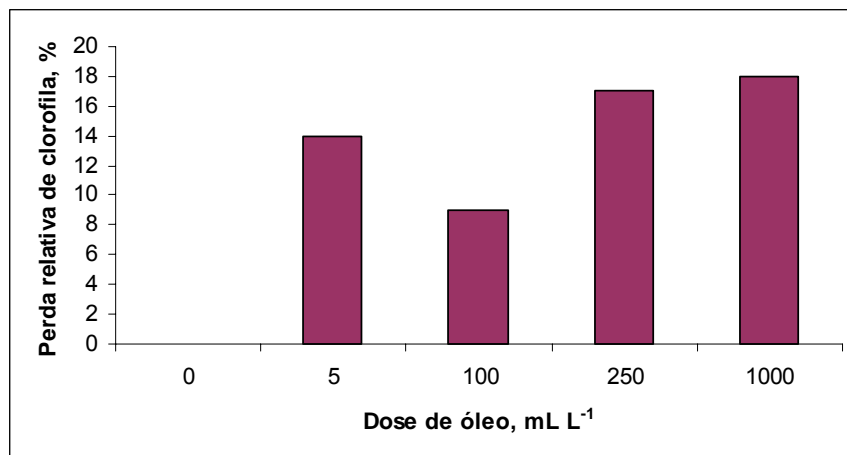


Figura 3 - Perda relativa de clorofila em resposta a dose de óleo de nim.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S. e OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 920p. 2002.

HOWATT, K. **Azadirachta indica: one tree's arsenal Against Pests**. Colorado State University, Fort Collins, Colorado 80523. 1994. Disponível em: <http://www.colostate.edu/Depts/Entomology/courses/en570/papers> Acessado: 10/05/2007.

MARTINEZ, S.S. (ed.) **O Nim - Azadirachta indica - Natureza, Usos Múltiplos, Produção**. Londrina, IAPAR, 142 p. 2002.

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal Insect of Physiology**, Exeter, v. 39, p. 903-924, 1993.

RAGURAMAN, S. & SINGH, R.P. Biological effects of neem (Azadirachta indica) seed oil on an egg parasitoid, Trichogramma chilonis. **J. Econ. Entomol.**, v. 92, n. 6, p. 1274-1280, 1999.

RODRÍGUEZ H., C.; VENDRAMIM, J.D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integr. Plagas**, v.42, p.14-22, 1996.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHETTO, R.T.S. & FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de Trichilia pallida Swartz (Meliaceae) sobre Spodoptera frugiperda (J. E. Smith). **An. Soc. Entomol. Bras.**, v.29, p. 799-808, 2000.

SAXENA, R. C. Inseticides from neem. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society. 1989

SCHMUTTERER, H. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal Insect of Physiology**, Exeter, 34 n.7, p. 713-9, 1988.

MARKWELL, J.; OSTERMAN, J.C.; MITCHELL, J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 467-472, 1995.

## PALAVRAS-CHAVE

Óleo de nim; neem; toxidez, extratos vegetais, inseticidas naturais.

## **Comparação de morangueiro provenientes de mudas de propagação convencional e micropropagadas quanto à ocorrência de doenças e à produção.**

Agner Hoyle Baretta<sup>1</sup>, Lucas Silverio<sup>2</sup>, Vanessa Silva Retuci<sup>2</sup>, Clandio Medeiros da Silva<sup>2</sup>, Edson Tsutomu Anami<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Graduando do Curso de Agronomia. Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR;

<sup>2</sup>Professores do Curso de Agronomia. Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR.  
[vsretuci@grupointegrado.br](mailto:vsretuci@grupointegrado.br)

### **INTRODUÇÃO**

No Brasil a cultura do morangueiro representa uma produção anual de aproximadamente 40 mil toneladas, sendo a maior parte representada pelos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (OLIVEIRA JR. e MANICA, 2003). O cultivo de morangos tem importante papel social, pois absorve um elevado contingente de mão-de-obra em praticamente todas as suas operações. Por outro lado, ela corresponde a um alto ônus financeiro, estimado em aproximadamente 60% das despesas (CAMARGO FILHO, 1994). As doenças fúngicas, como Antracnose e a Mancha de Micosferela, bem como a Mancha Angular, doença causada pela bactéria *Xanthomonas fagariae* estão entre os fatores que afetam gravemente a produtividade da cultura (HENZ et al, 1992; REBELO e BALARDIN, 1993; PASSOS, 1999). A alta susceptibilidade aos organismos patogênicos pode ser mais agravante, quando mudas de raiz nua são oriundas de propagação convencional. Portanto, a cultura de tecidos é uma alternativa para a produção de mudas sadias e de qualidade, reduzindo perdas por doenças e gerando economia com defensivos e redução no impacto ambiental. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo comparar o desenvolvimento de mudas de morango oriundas de propagação convencional e micropropagadas, em relação à incidência de doenças e a produção.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas as variedades de morangueiro Dover e Camarosa, ambas representadas por mudas provenientes de propagação convencional e micropropagadas. Os quatro tratamentos foram instalados no sítio São Geraldo, proprietário João Maria Vieira, localizado a 3 quilômetros de São Geraldo, distrito de Araruna - PR, em um solo arenoso, durante o período de 24 de abril a 18 de setembro de 2006. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com cinco repetições. As parcelas compostas por canteiro com 0,20 m de altura, possuindo três linhas de 4,2 m de comprimento espaçadas por 0,35 m, totalizando 10 plantas por linha. Primeiramente as mudas passaram por uma limpeza, para retirada de folhas velhas, e tratamento com fungicida, para controle de patógenos do solo. No preparo de solo, primeiramente foi feito o levantamento dos canteiros com a enxada rotativa, sendo efetuada uma adubação de 54 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. A irrigação, quando necessária, foi pelo sistema de aspersão. As capinas foram manuais na parte superior dos canteiros e nos corredores. Na adubação de cobertura aplicou-se 27 kg ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio e 72 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O nas entre linhas do plantio. Para cobertura dos canteiros (muching) foi utilizada lona preta. Posteriormente, foram feitas duas aplicações de inseticida (deltametrina). As variáveis avaliadas para os quatro tratamentos foram: mortalidade (contagem de plantas mortas), sanidade (% de folhas com doença), produtividade por planta (pesagem semanal dos pseudofrutos colhidos/planta) e produtividade por há (produção por planta x 60.000 há). Os dados obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância e suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos para as variáveis analisadas estão relacionados na tabela 1. Para a variável mortalidade, os menores índices foram detectados para as mudas micropropagadas, sendo 0,2 para Dover e 1,2 Camarosa. Para a variável sanidade, os níveis de incidência de 48% e 50 % foram registrados para as mudas micropropagadas, enquanto que para as mudas convencionais os níveis de incidência atingiram 100%. Os melhores índices para a produção por planta e para a produção por há foram das cultivar Dover, seguida pela cultivar Camarosa, ambas obtidas por micropropagação. Entretanto, apesar das mudas micropropagadas apresentarem melhores resultados para todos os parâmetros, deve-se salientar que os níveis de produção ficaram abaixo da produção esperada para uma lavoura comercial que é de 35 a 40 toneladas por hectare, podendo chegar até em 60 toneladas por hectare (CAMARGO FILHO, 1994). Tal fato pode ser explicado pela não aplicação, pós-plantio, de fungicidas e adubos foliares, como também pela adoção exclusiva do método de irrigação por aspersão e apenas uma colheita semanal, enquanto que na comercialmente são feitas até três colheitas semanais.

Tabela 1: Médias obtidas para as mudas de morangueiro provenientes de micropropagação e propagação convencional, nas avaliações da mortalidade, sanidade e produção. Araruna/PR, safra 2006.

Tratamentos	Parâmetros *			
	Mortalidade	Sanidade (%)	Produção por planta (kg)	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )
Dover <sup>1</sup>	0,2 b	48 b	0,128 a	7.698,0 a
Camarosa <sup>1</sup>	1,2 b	50 b	0,084 b	5.047,6 b
Dover <sup>2</sup>	13,8 a	100 a	0,046 c	2.768,0 c
Camarosa <sup>2</sup>	14,2 a	100 a	0,041 c	2.462,0 c
C.V. %	16,6	5,6	18,1	18,1
DmS	2,294	0,078	25,602	1536,138

\* Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> Mudas micropropagadas; <sup>2</sup> Mudas de propagação convencional.

## CONCLUSÃO

Portanto, para as condições experimentais utilizadas conclui-se que o uso de mudas micropropagadas apresenta vantagens em relação à utilização de mudas obtidas pelo método convencional. As plantas provenientes de mudas micropropagadas quando comparadas às obtidas pelo método convencional apresentaram redução no uso de agrotóxicos, refletindo no custo de produção; também elevaram a produção e qualidade do produto garantindo melhor comercialização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMARGO FILHO, W. P. de. **Estacionalidade da produção dos preços do morango no mercosul**. São Paulo: IEA, 1994. 5p.

HENZ, G. P.; BOITEUX, L. S.; LOPES, C. A. **Outbreak of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in central Brazil**. *Plant Dis.*, v. 76, 1992.

OLIVEIRA JÚNIOR, M.E.; MANICA, I. **Principais países produtores de frutas no ano de 2002**. *Jornal da Fruta*, Lages, v. 11, n.127, p.14, abril 2003.

PASSOS, F.A. In: DUARTE FILHO, J.; CANÇADO, G. M. A.; REGINA, M. A.; ANTUNES, L. E. C.; FADINI, M. A. **Melhoramento do morangueiro no Instituto**

**Agrônomo de Campinas.** *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.68, n.2, p.37-42, jul./dez., 2001

REBELO, J. A.; BALARDIN, R. S. **A cultura do morangueiro.** 3 ed. Ver. Amp. Florianópolis: EPAGRI, 1997. 40-44p. (EPAGRI, Boletim Técnico, 46).

**PALAVRAS-CHAVE**

*Fragaria vesca* L., morangueiro, micropropagação, fitossanidade.

## Efeito da luz e da posição dos explantes na micropropagação de Cagaita.

Fernandes, Katryne R. G.<sup>1</sup>; Ximenes, Francimar Alves<sup>2</sup>.; Sales, Juliana De Fátima<sup>3</sup>; Silva, Fabiano Guimarães<sup>3</sup>; Santana, João Das Graças<sup>3</sup>; Rubio Neto, Aurélio<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda em Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal - UFV; <sup>2</sup> Biólogo, CEFETRV;

<sup>3</sup> Prof. Ds. CEFETRV. - Laboratório de Cultura de Tecidos; Rod. Sul Goiana; Km 01, Cx Postal 66; CEP 75901-490; fone (64) 36205617; Rio Verde, Goiás E-mail: fabianocefetrv@yahoo.com.br;

<sup>4</sup> Bolsista de IC do CNPq/CEFETRV, discente de graduação.

### INTRODUÇÃO

Na região do cerrado os frutos da cagaiteira são consumidos *in natura* ou empregado na fabricação de doces, geléias, sorvetes, sucos e licores. A ingestão excessiva destes frutos pode ter efeito laxante, enquanto a “garrafada” das folhas possui efeito antidiarréico, sendo utilizada também contra problemas cardíacos (Silva *et al*, 2001; Almeida *et al*, 1998).

A micropropagação, indiscutivelmente, tem sido uma técnica muito utilizada para culturas que apresentam problemas de multiplicação por métodos convencionais, pois oferece vantagens de manutenção de genótipos e fenótipos de híbridos, mutações genéticas selecionadas, e excelente estado fitossanitário das plantas obtidas, além de possibilitar a produção de grande quantidade de plantas em pequeno espaço físico e de tempo. A propagação em larga escala foi desenvolvida a partir de 1966 (França e Inglaterra), utilizando orquídeas, crisântemo e cravo que dominaram a fase inicial. Atualmente, concentra-se na limpeza clonal e multiplicação de espécies frutíferas (banana, abacaxi, morango), ornamentais, florestais (coníferas), olerícolas (alho) e medicinais, pois possibilita a multiplicação rápida em período de tempo e espaço físico reduzidos (George, 1993, Lameira, et al., 1997, Andrade, et al., 2000).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da ausência e presença da luz e da posição horizontal e vertical dos segmentos nodais na micropropagação de cagaita.

### MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se segmentos nodais originados da germinação de sementes de cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. Ex DC)] conforme discutido por Fernandes *et al* (2005).

Após a repicagem, os segmentos nodais constituídos por 2 a 3 gemas e desprovidos de folhas foram inoculados em frascos com capacidade de 268 mL, contendo 50 mL de meio suplementado com 50% da concentração dos sais MS (Murashige e Skoog, 1962), 100 mg.L<sup>-1</sup> de inositol, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, e pH 5,7. Os frascos foram vedados com PVC. A incubação ocorreu em sala de crescimento à temperatura de 20°C e fotoperíodo de 16 horas em incidência de luz direta.

O experimento foi constituído de um fatorial 2x2, sendo presença e ausência de luz e posições horizontal e vertical dos explantes. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso (DBC), com 6 repetições, perfazendo 168 unidades experimentais.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Aos 61 dias após a inoculação, verificou-se que os explantes na posição vertical em ausência de luz apresentaram menor comprimento. A luz não teve influência na horizontal. A posição não influenciou a altura das plântulas.

O número de gemas obtidas foi maior para os explantes na vertical. Não foram constatadas diferenças quanto à posição em ausência de luz. A presença de luz favoreceu o número de gemas dos explantes na vertical, mas não influenciou aqueles na horizontal.

A posição não afetou o número de brotações dos explantes. A ausência de luz foi menos favorável ao número de brotações na vertical.

Em presença de luz, os explantes na vertical apresentaram maior número de folhas. Não houve diferenças quanto à posição em ausência de luz. Na vertical, a luz favoreceu o número de folhas, mas não afetou esta característica na horizontal.



A presença de luz favoreceu a necroação dos explantes na horizontal, mas não influenciou aqueles na vertical. Os explantes cultivados na posição horizontal apresentaram maior porcentagem de necrose em presença de luz.

Tabela 1: Altura, número de gemas/explante, número de brotações/explante, número de folhas/explante, necrose e conceito em plântulas de cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] nas posições condições de luz testadas. CEFET – RV, Rio Verde – GO, 2005.

Posição dos explantes			
Horizontal		Vertical	
Condição de luz			
Ausência	Presença	Ausência	Presença
Altura (cm)			
0,08 Aa	0,09 Aa	0 Ab	0,16 Aa
Número de gemas/explante			
0,86 Aa	1,10 Ba	0,59 Ab	1,93 Aa
Número de brotações/explante			
0,07 Aa	0,01 Aa	0 Ab	0,25 Aa
Número de folhas/explante			
0 Aa	0 Ba	0 Ab	0,25 Aa
Necrose (%)			
0,17 Bb	0,64 Aa	0,5 Aa	0,38 Ba
Conceito			
0,43 Aa	0,71 Aa	0,36Ab	0,71Aa

<sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula e minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

A posição dos explantes não afetou o conceito. A presença de luz favoreceu o conceito dos explantes na vertical, mas não influenciou aqueles na horizontal.

De acordo com estes resultados, podemos concluir que os explantes na presença da luz em posição vertical apresentaram melhores resultados para o crescimento da parte aérea de plântulas de cagaita micropropagadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 182 – 186.

ANDRADE, M.W. de; LUZ, J.M.Q.; LACERDA, A.S.; MELO, P.R.A. de. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr.All), **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras – MG:, v.24, n.1, p.174-180, jan/mar., 2000.

FERNANDES, K. R. G; VASCONCELOS FILHO, S. C; SALES, J. F; XIMENES, F. A; SILVA, F. G; SANTANA, J. G. Efeito de diferentes concentrações de GA3 e sais MS na germinação *in vitro* de sementes de cagaita. **Horticultura Brasileira**, Botucatu – São Paulo, v. 23, 2005.

GEORGE, E.F. Plant propagation and micropropagation. In: GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: part 1 the technology**. 2.ed. Somerset: Exegetics, 1993. p.37-66.

LAMEIRA, O.A.; COSTA, M.P. da C.; PINTO, J.E.B.P.; GAVILANES, M.L. Tissue culture propagation of *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard: effect of growth regulators on plantlet root formation. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras – MG: v.21, n.3, p.390-392, 1997.

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

PALAVRAS-CHAVE: *Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC), Myrtaceae, micropropagação, segmentos nodais.

## **Germinação e controle da contaminação *in vitro* de sementes de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

Rubio Neto, Aurélio<sup>1\*</sup>; Lima, Raphael Espósito de<sup>1</sup>; Vasconcelos, Jaqueline Martins<sup>2</sup> Ximenes, Francimar Alves<sup>1</sup>; Macagnan, Dirceu<sup>1</sup>; Santana, João das graças<sup>1</sup>; Silva, Fabiano Guimarães<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde-GO - Laboratório de Cultura de Tecidos; Rod. Sul Goiana; Km 01; Cx Postal 66; CEP: 75901-490; Rio Verde – GO; tel.:06436205617; Rio Verde – GO

<sup>2</sup>Graduando em Ciências Biológicas, FESURV.

\*Bolsista de IC do CNPq/CEFETRV. E-mail: aurelioneto@yahoo.com.br.

### **INTRODUÇÃO**

O cerrado, segunda maior formação vegetal brasileira, ocupando cerca de 22% do território nacional é considerada a savana com maior riqueza biológica, com mais de 10 mil espécies de plantas e segundo SANTOS (2004), muitas destas espécies apresentam futuro promissor conforme.

O pequi é considerado uma planta ornamental pela beleza de suas copas e flores, pertence a família *Caryocaraceae* e ao gênero *Caryocar*. E segundo ALMEIDA *et al.* (1998) a espécie possui um porte arbóreo, produz cerca de 500 a 2000 frutos por planta. Quando oriundo de semente a frutificação do pequizeiro ocorre com cerca de 4 a 5 anos após o plantio. Através de enxertia pelo método de garfagem lateral, antecipa o início da frutificação, em um ou dois anos e ainda reduz o porta das plantas facilitando manejo e colheita (SILVA *et al.* 2001). O pequizeiro é considerado uma planta econômica, pois seus frutos são muito utilizados na culinária regional como fonte de vitaminas e extração de óleos para a fabricação de cosméticos, é considerada uma planta ornamental, melífera e medicinal. A amêndoa também produz óleo e pode ser consumida torrada. Alvo de sua própria qualidade, a madeira resistente produz um ótimo carvão vegetal, o qual é largamente explorado (SANTOS, 2004).

Para SANTOS (2004) a obtenção de explantes para a experimentação *in vitro* pode ser realizada por meio da germinação das sementes, ou por material oriundo de casa-de-vegetação ou campo, quando a espécie apresenta problema de contaminação severa.

O estabelecimento *in vitro* das espécies nativas apresenta grandes problemas com contaminação e oxidação (TEIXEIRA, 2004).

Segundo SATO *et al.* (2004), a contaminação depende da procedência do material vegetal utilizado para isolamento *in vitro*, que pode ser de casa de vegetação ou do campo. No caso de espécies florestais nativas, o material vegetal é retirado do campo, contendo elevada concentração de microrganismos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o estabelecimento *in vitro* de sementes de pequizeiro. Para isto as sementes foram submetidas a diferentes concentrações de agentes desinfestantes. Avaliou-se também o efeito de diferentes antibióticos no meio de cultura e no tratamento das sementes.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do CEFETRV, com sementes coletadas em outubro de 2006 na fazenda Gameleira, município de Montes Claros de Goiás – GO.

Para despolpa dos frutos, foi utilizado uma despolpadeira, objetivando a remoção do epicarpo e mesocarpo e parte do endocarpo. Em seguida as sementes contendo a parte final do endocarpo permaneceram em uma bandeja coberta com papel toalhas para secagem.

**Experimento 1.** Objetivando o estabelecimento *in vitro* de sementes de pequizeiro, foi realizado após a secagem das sementes um processo de desinfestação, onde foram lavadas em água corrente com 10 gotas de detergente comercial, por 10 min, e em seguida

ficaram submersas por 1 minuto em álcool 70%. Posteriormente, estas foram submetidas a diferentes processos de desinfestação conforme o tratamento: 1- 30 min em NaClO 10-12%; 2- NaClO 5-6%; 3- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado; 4- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50%. Na câmara de fluxo laminar, foram realizados 3 enxágües, utilizando água destilada e autoclavada. Em seguida as mesmas foram depositadas em frascos com capacidade para 268 mL, contendo 50 mL do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) 50% dos sais, suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,00025 mg.L<sup>-1</sup> de Benomyl e 0,1 g.L<sup>-1</sup> de inositol, em ponte de papel germitest.

A incubação dos frascos ocorreu em temperatura de 25 °C ± 2 °C, e fotoperíodo de 16 hs. As avaliações foram realizadas semanalmente até o terceiro mês após a inoculação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos 25 repetições cada, perfazendo 100 frascos com uma semente cada.

**Experimento 2.** Com o objetivo de controlar a contaminação bacteriana observada no experimento 1, foi avaliado o efeito de antibióticos no meio de cultura e no tratamento de sementes, conforme tabela 1.

Tabela 1. Combinação entre as diferentes formas de utilização de antibióticos visando o estabelecimento *in vitro* de sementes de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.).

Tratamento	Meio de Cultura	Tratamento de sementes
1	Sem antibiótico	Sem antibiótico
2	Sem antibiótico	Penicilina (32mg.L <sup>-1</sup> ), Gentamicina (32mg.L <sup>-1</sup> ), Tetraciclina (64 mg.L <sup>-1</sup> )
3	Penicilina (24mg.L <sup>-1</sup> ), Gentamicina (24 mg.L <sup>-1</sup> ), Tetraciclina (48 mg.L <sup>-1</sup> )	Sem antibiótico
4	Penicilina (24mg.L <sup>-1</sup> ), Gentamicina (24mg.L <sup>-1</sup> ), Tetraciclina (48 mg.L <sup>-1</sup> )	Penicilina (32mg.L <sup>-1</sup> ), Gentamicina (32mg.L <sup>-1</sup> ), Tetraciclina (64 mg.L <sup>-1</sup> )

Para desinfestação das sementes, foi realizada uma lavagem em água corrente utilizando 10 gotas de detergente comercial, durante dez minutos, sendo em seguida submersas por 1 min em álcool 70%, e durante 30 min em água sanitária comercial pura com teor de cloro ativo de 2,0 a 2,5. Em câmara de fluxo laminar foram realizados 3 enxágües utilizando água destilada e autoclavada. Posteriormente as sementes foram embebidas por 48 hs em solução de GA<sub>3</sub> na concentração de 500 mg.L<sup>-1</sup>.

Ao final de 48 hs, as sementes foram transferidas para frascos de vidro com capacidade para 268 mL, contendo 50 mL de meio de cultura, constituído de água destilada e autoclavada, suplementada com Benomyl na concentração de 2,5 g.L<sup>-1</sup>; e ainda ausência e presença dos antibióticos, conforme os tratamentos.

Os frascos foram mantidos em temperatura de 25°C ± 2°C, e fotoperíodo de 16 hs.

O experimento foi implantado em esquema fatorial 2x2, sendo 2 tratamentos de sementes e 2 meios de cultura. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso (DBC), com 4 blocos com 15 repetições cada, perfazendo 240 frascos com uma semente cada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Experimento 1.** Ocorreu contaminação de 100% do experimento por bactérias, em prazo de 3 meses e não foi constatada nenhuma semente germinada (Figura 1).

CHAVES *et al.* (2005) também obtiveram em seu trabalho quantidade significativa de contaminação por bactérias em sementes mantidas em presença de luz, quando utilizado o hipoclorito de cálcio, e baixas taxas de germinação, as quais podem estar relacionadas ao

tempo de imersão ou até mesmo ao efeito dos agentes desinfestantes utilizados para o tratamento das sementes.

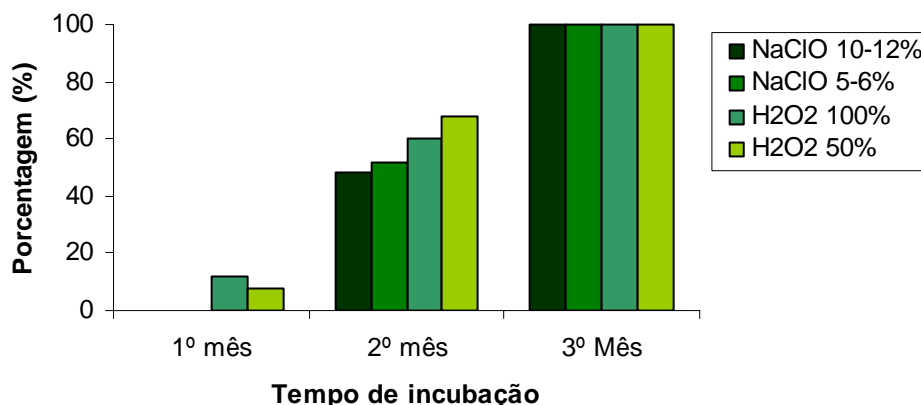


Figura 1. Porcentagem de contaminação por bactérias em sementes de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), em diferentes tempos de incubação.

**Experimento 2.** Nos tratamentos em que foi utilizado antibiótico, independente da sua localização, seja no meio de cultura ou na semente, a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram maiores, quando comparado, com o tratamento em que inexistia o uso de antibióticos. As melhores taxas de germinação e IVG foram encontradas no tratamento em que foi utilizado antibiótico apenas no meio de cultura, não diferindo dos demais (Tabela 2).

Para controle da contaminação por bactérias o tratamento onde se observou os melhores resultados foi aquele que os antibióticos estavam presentes apenas no meio de cultura. Supostamente, o resultado encontrado deve-se a localização das bactérias, que se encontram internamente nas sementes de Pequi. A semente ao absorver os nutrientes pode absorver também os antibióticos, logo o crescimento bacteriano interno é inibido, favorecendo a germinação das sementes. De acordo com a tabela 1 as bactérias podem ser inibidoras da germinação de pequi, pois todas as sementes passaram por submersão em solução de  $GA_3$  na concentração de  $500 \text{ mg.L}^{-1}$ , para superação de dormência fisiológica, conforme SANTOS (2004), e mesmo assim não houve germinação significativa no tratamento em que não foram utilizados os antibióticos.

SANTOS (2004) em seu trabalho obteve 100% de germinação, utilizando  $GA_3$  por apenas 24 hs, na mesma concentração deste trabalho, porém as sementes eram desprovidas do endocarpo.

Por outro lado a contaminação por fungos foi maior nos tratamentos em que houve maior controle de contaminação por bactérias, o que supostamente, deve-se à disponibilidade de alimento no ambiente, favorecendo então, apenas um tipo microrganismo.

## CONCLUSÃO

O experimento 1 apresentou contaminação total por bactérias, podendo essas serem endofíticas.

No experimento 2, observou-se que o uso de antibióticos não interfere negativamente na germinação e no índice de velocidade de germinação, porém a não utilização de antibióticos resultou a diminuição de aproximadamente 9 vezes quando comparado aos demais tratamentos.

Observou-se ainda que as bactérias, supostamente, de acordo com os resultados, podem ser inibidoras da germinação, pois quando não se utilizou antibióticos, houve baixa germinação e baixo índice de velocidade de germinação.

Tabela 2. Germinação de sementes de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) em diferentes condições de inoculação em água destilada e autoclavada, acrescida de fungicidas.

Meio de cultura	Tratamento de Semente	
	Com Antibiótico	Sem Antibiótico
	Germinação%	
Com Antibiótico	26,7Aa <sup>z</sup>	33,32Aa
Sem Antibiótico	21,65Aa	3,33Bb
	Índice de Velocidade de Germinação	
Com Antibiótico	0,11Aa	0,15 Aa
Sem Antibiótico	0,08Aa	0,01Ab
	Contaminação por Bactérias%	
Com Antibiótico	13,32Aa	1,67Ba
Sem Antibiótico	8,32Aa	5,0Aa
	Contaminação por Fungos%	
Com Antibiótico	6,67Ba	39,95Aa
Sem Antibiótico	5,02Ba	51,67Ba

<sup>z</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p:343-345, 1998.

CHAVES, Anderson da Costa; Schuch, Márcia Wulff; Erig, Alan Cristiano. Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1281-1287, nov./dez., 2005

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

SANTOS, Breno Régis. Micropropagação de Pequiheiro (*Caryocar Brasiliense* Camb.). **Tese – UFLA**. Lavras: UFLA, 2005.

SATO, Aurora Yoshiko, Dias, Herly Carlos Teixeira; Andrade, Leonaldo Alves De; Souza, Vênia Camelo De; Dornelas, Genaro Viana. Controle de contaminação e oxidação na micropropagação do pau de alho (*Gallesia gorazema* Moq.), **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.65-70, 2004.

SILVA, D.B. da; SILVA, A.S. da; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. de. **Frutas do Cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.1- 179.

**Palavras-chave:** *Caryocar brasiliense* Camb., Desinfestação, in vitro.

## Efeito de diferentes concentrações de *Heterodera glycines* em amarílis (*Hippeastrum* spp.).

Sara, Jordana Gabriel<sup>1</sup>; Estevam, Joana Tábata<sup>1</sup>; Machado, Mariana Resende<sup>1</sup>; Teixeira, Renato Andrade<sup>2</sup>; Araújo, Fernando Godinho de<sup>1</sup>; Arcari, Felipe Santo<sup>1</sup>; Pires, Larissa Leandro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, emails: [jogsara@hotmail.com](mailto:jogsara@hotmail.com); [joanatabata@hotmail.com](mailto:joanatabata@hotmail.com); [marirmachado@hotmail.com](mailto:marirmachado@hotmail.com); [godinhoaraujo@hotmail.com](mailto:godinhoaraujo@hotmail.com); [felipe\\_fum@yahoo.com.br](mailto:felipe_fum@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Discente de Pós-graduação em Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1542, email: [renato.ateixeira@terra.com.br](mailto:renato.ateixeira@terra.com.br); <sup>3</sup>Docente da Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1549, email: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br).

### INTRODUÇÃO

Atualmente, existem no Brasil cerca de 5.260 ha com o cultivo de flores e plantas ornamentais, sendo a maior parte (60%) destinada à produção de flores, e os outros 40%, de mudas de plantas ornamentais. A atividade está presente em mais de 3.500 propriedades rurais e proporciona mais de 26.000 empregos diretos no campo, em todo o país. O seu valor de produção está estimado em R\$ 444,4 milhões, sendo a maior parte (81%) gerada no Estado de São Paulo (SEAG, 2007).

O mercador consumidor mundial vem se expandido, em busca de produtos diferenciados e de qualidade, principalmente de flores cortadas, plantas envasadas e folhagens. Diante desse aumento, essa cadeia vem crescendo no Brasil, destacando-se como geradora de renda e fixadora de mão-de-obra no campo, além de ser uma atividade alternativa para pequenos produtores. Essa atividade já não mais se concentra apenas nos Estados do Sul e Sudeste, mas também espalha-se pelo Centro-Oeste, Nordeste e Norte do país, especialmente ao redor dos grandes centros urbanos, que são os maiores consumidores de seus produtos.

Uma das plantas ornamentais muito utilizada em vasos e jardineiras, ou em grupos formando maciços, é o amarílis (*Hippeastrum* sp.), da família Amaryllidaceae. Esta espécie é também conhecida vulgarmente como açucena, sendo indicada para o clima subtropical e tropical, ideal para o cultivo no Brasil. É uma planta herbácea bulbosa, acaule, com folhagem ornamental que desaparece no inverno. Possui inflorescências eretas, altas, formadas no final do inverno. Pode ser cultivada a pleno sol, com terra esterçada, permeável e irrigada periodicamente. Multiplica-se facilmente por bulbos formados ao lado da planta-mãe no início da primavera (Leal, 2007).

Além dos atuais programas federais e estaduais para o desenvolvimento da cadeia da floricultura e da agricultura familiar, são vários os fatores que estão contribuindo para o crescimento da atividade no país: baixos custos da terra e da mão-de-obra; existência e facilidade de importação de equipamentos modernos para o cultivo protegido no mercado nacional; disponibilidade de água de boa qualidade; abundância de solos de boa fertilidade; grande variabilidade climática que permite o cultivo de espécies tropicais e temperadas; interligação de todo o território nacional pela malha rodoviária; entre outros. Contudo, há também inúmeros motivos que limitam a expansão dessa atividade, destacando-se a escassez de conhecimento das plantas ornamentais em geral e a baixa qualidade das sementes e mudas comercializadas (IAC, 2007).

Dentre os problemas fitossanitários, estão os fitonematóides, organismos essencialmente microscópicos que sobrevivem em diferentes *habitats*, que podem prejudicar o cultivo de plantas ornamentais, causando desde danos suaves à produção até à sua destruição total. Esses nematóides vivem no solo ou no interior das estruturas vegetais, tanto de órgãos subterrâneos (raízes, rizomas, tubérculos e bulbos), como também da parte aérea (caules, folhas e flores) (Oliveira et al., 2007).

Em geral, devido ao ataque dos nematóides, o sistema radicular torna-se ineficiente na absorção de água e nutrientes e, como resultado, as plantas mostram-se pouco vigorosas e pequenas. Algumas vezes, devido a vários fatores (nível de infestação, distribuição espacial, diferenças genéticas, etc.), as plantas apresentam tamanho desigual, formando reboleiras na cultura. As folhas podem ficar com tamanho menor e coloração anormal, semelhantes a sintomas de deficiência nutricional, aspectos esses de extrema importância, em se tratando de plantas ornamentais. Finalmente, ocorre a diminuição na produção, inviabilizando a exploração econômica da cultura.

Além dos prejuízos diretos, na tentativa de minimizar o prejuízo e controlá-lo, o agricultor tem gastos adicionais com fertilizantes, defensivos e outras práticas. Em plantas ornamentais cultivadas em casa-de-vegetação, mais de 30 espécies de nematóides já foram catalogadas associadas a elas, nas diferentes regiões produtoras do mundo (Oliveira et al., 2007).

O presente trabalho objetivou avaliar a hospedabilidade de plantas de amarílis ao nematóide *Heterodera glycines*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), em vasos dispostos em casa-de-vegetação, com a planta ornamental amarílis (*Hippeastrum* spp.), de outubro a dezembro de 2006.

Foram avaliados quatro tratamentos, representados pelas concentrações de inóculo do nematóide *Heterodera glycines*: zero (controle), 2.000, 4.000 e 6.000 ovos por planta. Simultaneamente, plantas de soja também foram inoculadas com as mesmas concentrações do nematóide, para certificar a viabilidade do inóculo. Após sessenta dias da inoculação, o sistema radicular e o solo de ambas as espécies vegetais foram avaliados, por meio da contagem do número de fêmeas e de ovos.

Para a extração de *H. glycines* das raízes, utilizou-se o método de flutuação e peneiramento. Pelo uso combinado do conjunto de peneira de 20 mesh sobre a de 60 mesh, o sistema radicular da planta foi lavado, para que todas as fêmeas do nematóide se destacassem das raízes. O material retido na peneira de 60 mesh foi recolhido e levado para uma calha telhada, escorrendo-se o excesso de água. Posteriormente, com o auxílio de uma lupa, fez-se a contagem das fêmeas na amostra; desse material, recolheu-se dez fêmeas para a posterior avaliação da presença de ovos. Para essa verificação, utilizou-se um conjunto de peneiras de 100 mesh sobre a de 400 mesh, onde essas dez fêmeas foram colocadas e estouradas com o auxílio de um bastão de vidro; assim, o material retido na peneira de 400 mesh foi recolhido e, por meio da Câmara de Peters, quantificou-se o número de ovos em 1,0 mL de solução. Com o resultado obtido, fez-se a extrapolação para a quantidade de solução obtida anteriormente, variando com a amostra.

A extração de *H. glycines* do solo consistiu em utilizar 100 cc de solo, colocados em um recipiente de 1,0 L, adicionando-se água até completar 600 mL. Essa solução foi homogeneizada e colocada para descansar por um minuto. Em seguida, foi depositada sobre um conjunto de peneiras de 20 mesh sobre a de 60 mesh; ficando o solo no fundo do recipiente e passando pelas peneiras somente a água com nematóides. Este procedimento foi repetido por três vezes para cada amostra. Coletou-se o que ficou na peneira de 60 mesh, utilizando a mesma metodologia aplicada às raízes.

Essas metodologias foram aplicadas para a contagem de fêmeas e de ovos nas plantas de amarílis e de soja.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, usando-se uma planta por vaso.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi evidenciada a hospedabilidade do amarílis ao ataque de *Heterodera glycines* em nenhuma das concentrações avaliadas, visto que a presença de fêmeas dessa espécie



não foi constatada na planta ornamental. Esse resultado não descarta a possibilidade do amarílis ser suscetível a outra espécie de nematóide. Segundo Chase et al. (1983), dentre os nematóides que infestam raízes de plantas ornamentais estão *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus* spp., *Rotylenchulus reniformis*, *Cactodera* spp., *Aphelenchoides* spp., dentre outros, não sendo citado a espécie estudada.

Contrariamente ao amarílis, foram extraídas fêmeas do nematóide nas plantas de soja, em número crescente, diretamente proporcional à concentração inicial, certificando a viabilidade do inóculo utilizado. Na Tabela 1 estão os resultados da determinação da concentração presente do nematóide nas plantas de soja, comprovando a viabilidade do inóculo. Observa-se que nas plantas do tratamento controle, no qual não foram inoculados nematóides, ao final do experimento, a concentração de ovos e o número de fêmeas permaneceram isentas de nematóides.

Tabela 1. Comprovação da viabilidade do inóculo de *Heterodera glycines* utilizado no experimento, em plantas de soja.

Concentração (ovos/planta)	Massa fresca (g)		Massa seca (g)		Nº fêmeas viáveis	Nº total de ovos
	Folhas	Raiz	Folhas	Raiz		
0	5,7	2,7	1,6	0,5	0,0	0,0
2.000	3,8	1,7	1,0	0,5	94,0	22.865,8
4.000	4,2	3,0	1,1	0,5	176,6	50.427,6
6.000	4,4	3,7	1,1	0,6	371,6	73.918,4

## CONCLUSÃO

O amarílis não é hospedeiro de *Heterodera glycines*, nas concentrações estudadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHASE, A. R.; KAPLAN, O.; OSBORNE, L. S. Nematode pests of tropical foliage plants and leatherleaf. **Agricultural Research Educational Centre**, Apopka, v. 32, n. 1, p. 83-85, July-Aug. 1983.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. de L.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**, Editora UFV – 2001.

IAC. Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas, SP. Disponível em: <http://www.agricultura.sp.gov.br/agronomico.asp>. Acesso em: 20 de maio 2007.

LEAL, LUCIANA. **Plantas de julho**. Curitiba, PR: UFPR, Engenharia Florestal, Laboratório de Paisagismo. Disponível em: <http://www.floresta.ufpr.br/~paisagem/plantas/mes/julho.htm>. Acesso em: 21 de maio 2007.

OLIVEIRA, Cláudio Marcelo Gonçalves de; KUBO, Roberto Kazuhiro; ANTEDOMENICO, S. R.; MONTEIRO, Ailton Rocha; INOMOTO, Mário Massayuki. Ocorrência de nematóides fitoparasitos em plantas ornamentais nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, 2007.

SEAG. Secretaria da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca do Espírito Santo. **Floricultura**. Vitória, ES. Disponível em: <http://www.seag.es.gov.br/floricultura.htm>. Acesso em: 20 de maio 2007.

## PALAVRAS-CHAVE:

*Hippeastrum* spp.; planta ornamental; nematóide.

## Identificação de fungo patogênico em plantas de tango (*Solidago canadensis*).

Arcari, Felipe Santo<sup>1</sup>; Teramoto, Adriana<sup>2</sup>; Machado, Marina de Camargo<sup>1</sup>; Santana, Priscilla Neves de<sup>1</sup>; Cavalcante, Paulo Rocha<sup>1</sup>; Pires, Larissa Leandro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, emails: [felipe\\_fum@yahoo.com.br](mailto:felipe_fum@yahoo.com.br); [marina-cmachado@hotmail.com](mailto:marina-cmachado@hotmail.com); [prineves@yahoo.com.br](mailto:prineves@yahoo.com.br); [pauloufg@gmail.com](mailto:pauloufg@gmail.com); <sup>2</sup>Discente da Pós-graduação em Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1542, email: [adriter@terra.com.br](mailto:adriter@terra.com.br); <sup>3</sup>Docente da Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1549, email: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br).

O tango (*Solidago canadensis* L., Asteraceae), é uma planta herbácea da América do Norte, muito comercializada como flor de corte, embora possa ser cultivada em canteiros e bordaduras. No Brasil, seu cultivo não é superior a três anos. O presente trabalho foi realizado na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), em Goiânia, GO, objetivando identificar o agente causador de doença em tango, em plantio comercial. Diagnosticada a doença, segundo o Postulado de Koch, procedeu-se o isolamento para confirmação do agente patogênico, no Laboratório de Fitopatologia da EA/UFG. O isolamento ocorreu com o corte de porções de tecidos infectados de raízes, do colo da planta e de folhas, previamente desinfectados em álcool 100%, sendo plaqueados em meio BDA. Em seguida, as placas foram colocadas em BOD (25°C, 12h de luz) e analisadas diariamente até a esporulação. Foi identificado o patógeno *Fusarium* sp. atacando e prejudicando sistematicamente a espécie, em área de produção.

### PALAVRAS-CHAVE:

*Solidago canadensis*; planta ornamental; fitopatologia; fusário.

## Influência de meios de cultura e suplementações hormonais sobre a indução e desenvolvimento de calos *in vitro* em variedades de *Gossypium hirsutum* L.

Silva, Kleptura de Oliveira e<sup>1</sup>; Lima, Jailma Almeida de<sup>2</sup>; Aloufa, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Bióloga, Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: kletinha@yahoo.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3215 3189; <sup>2</sup>Aluna do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica/ BDQ/UFRN. Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: biolottus23@yahoo.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3215 3189; <sup>3</sup>Dr.Professor do Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia/DBEZ. Universidade Federal do Rio Grande do Norte./UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: magdi-aloufa@bol.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3211-9205

### INTRODUÇÃO

Os programas de melhoramento na cultura do algodão em todo o mundo têm passado por grande desenvolvimento tecnológico nas últimas décadas, motivado principalmente pelo combate às diversas pragas que infestam o algodoeiro. A utilização das plantas selecionadas *in vitro* em programas de melhoramento é uma realidade em muitos países. No Brasil, especificamente, o objetivo principal é aumentar a produtividade com conseqüente melhora da qualidade das variedades, elevando as características das fibras (Freire, 1999) e aumentando a resistência dos genótipos (Jimenez, 2001) principalmente em relação às doenças, e desenvolver a diversidade dos bancos de germoplasma.

Um sistema eficiente de regeneração de plantas *in vitro* caracteriza-se pela rápida e contínua produção de embriões somáticos (Zhang et al. 2000). Esse tipo de sistema permite a obtenção de embriões em larga escala e rejuvenescimento do material vegetal, fator essencial para a seleção dos genótipos melhorados. A solução de boa parte das patogenias que afetam essa cultura por meio da resistência genética constitui-se num fator relevante para os melhoristas, geneticista e fitopatologistas, pois o uso de variedades mais resistentes a doenças poderá contribuir, principalmente em regiões em desenvolvimento, para o aumento da produtividade, a diminuição dos custos de produção e a proteção do meio ambiente, complementando a agricultura convencional.

Objetivou-se, com este trabalho, averiguar o efeito de dois meios de cultura, Murashige e Skoog (1962) e Nitch (1974), na indução de calos embriogênicos e seu desenvolvimento (peso); sob influência dos reguladores de crescimento 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) e 2IP (2-isopenteniladenina) em três variedades distintas de algodão.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Empregaram-se sementes oriundas do Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (CNPQ) em Campina Grande - Pb, de plantas de algodão das variedades **CNPQ ITA 96**; **CNPQ BRS 201** e **CNPQ FACUAL**.

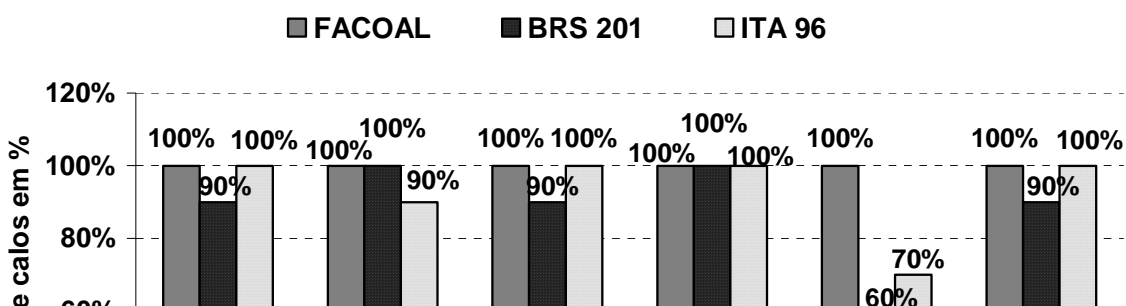
As sementes foram desinfestadas por imersão em etanol a 70%, durante cinco minutos e, em seguida, mergulhadas em hipoclorito de sódio (2%) por 20 minutos, e então enxaguadas três vezes em água destilada e esterilizada, permanecendo em cada enxágüe por cinco minutos. Posteriormente, as mesmas foram escarificadas, retirando-se totalmente o tegumento, e inoculadas, para germinação, sobre folhas de papel filtro, em frascos de 300 mL de capacidade e 6,0 cm de diâmetro contendo água destilada e esterilizada (30 mL). As culturas foram mantidas em sala de incubação, sob condições controladas de luz (intensidade luminosa de 30  $\mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), fotoperíodo (12 horas de luz), temperatura ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade relativa controlada.

Após três dias de germinação das sementes foram retiradas porções de hipocótilo com 1,0 cm de comprimento a partir de plantas germinadas *in vitro*, e inoculadas em frascos de 300 mL, contendo 30 mL de meio de cultura. Os meios empregados na indução de calos foram MS (Murashige e Skoog, 1962) e Nitch (1974), nos quais adicionaram-se suplementações hormonais (2,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 5,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP-C<sub>1</sub>, 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP-C<sub>2</sub>, 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP C<sub>3</sub>). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos e dez repetições por tratamento em cada variedade. O pH foi ajustado para 5,7. As culturas permaneceram incubadas a uma temperatura de 26 ± 2°C, sob um fotoperíodo de 12 horas-luz e intensidade luminosa de 30 µM.m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup>. Após quatro semanas, os calos formados foram subcultivados para meio fresco com a mesma composição inicial, a fim de obtenção de um melhor desenvolvimento, totalizando três subcultivos subseqüentes para realização das observações durante noventa dias.

Os parâmetros avaliados foram: taxa de indução de calos e peso fresco dos mesmos, sendo realizada a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da taxa de indução de calos nas variedades testadas, a FACOAL demonstrou resultados máximos(100%) nos dois meios de cultura (Figura 1), enquanto a variedade BRS 201 obteve percentagens relativamente menores 90, 90, 60% para MS e 100, 100 e 90% no meio Nitch, respectivamente, nas três concentrações. No meio MS, a variedade ITA 96 demonstrou taxa mais reduzida na concentração C<sub>3</sub>. Para os meios propostos em nosso estudo, o Nitch revelou maiores valores na indução de calos, sendo a concentração C<sub>2</sub> a que mais propiciou a indução calogênica nas três variedades: FACOAL (100%), BRS 201 (100%) e ITA 96 (100%). Os resultados obtidos evidenciaram a capacidade de embriogênese somática nessa cultura *in vitro*. Embriões somáticos foram observados por Trolinder e Goodin (1987) em suspensões celulares de oito cultivares de *G. hirsutum* cultivados em meio MS com diferentes concentrações de 2,4-D e cinetina. Os resultados obtidos evidenciam formação de embriões somáticos nas três variedades trabalhadas, o que ocorreu após o segundo subcultivo dos calos. Devemos destacar que a indução embriogênica de uma célula somática não é exclusivamente dependente do uso de reguladores de crescimento, pois Guerra et al. (1999) narram que choques térmicos, variações nos níveis de pH e utilização de outros produtos químicos, como carvão ativado, podem também induzir capacidade embriogênica em células somáticas de espécies vegetais, contudo, observou-se que o uso dos reguladores 2,4-D e 2IP induziu calos embriogênicos nas variedades propostas. Os resultados quanto à média de peso fresco de calos, para todas as variedades em estudo nos meios MS e Nitch, suplementados com as três concentrações (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>), estão apresentados na Figura 2. No meio MS, observou-se que os melhores resultados foram da variedade FACOAL, para as concentrações C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>, enquanto que para a variedade ITA 96, foi a concentração C<sub>3</sub> (0,79g). Para o meio Nitch, a variedade FACOAL demonstrou a maior média de peso fresco em todas as concentrações (2,21g; 2,69g e 1,03g). Ammirato (1986) explicitou, em seus estudos sobre técnicas de propagação e cultura de células em plantas, que as condições ideais para o cultivo *in vitro* variam com o genótipo em estudo. Valores análogos podem ser observados quanto à média de peso fresco, comparando-se uma mesma variedade ou quando se analisam todas conjuntamente nos diferentes meios e concentrações.



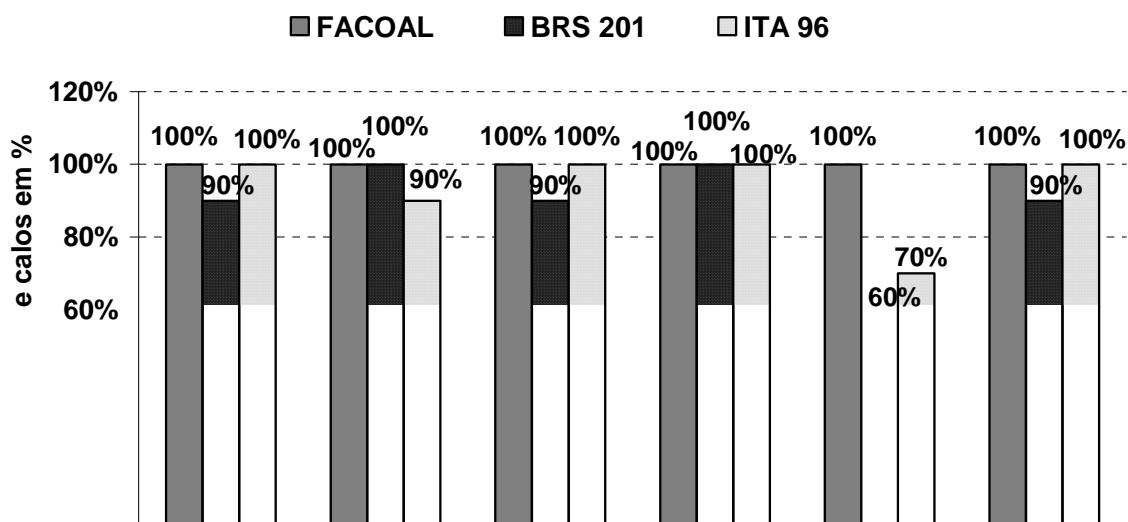


Figura 1 – Efeito de três concentrações hormonais na indução de calos de *Gossypium hirsutum* L; variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA FACOAL nos meios MS e NITCH.

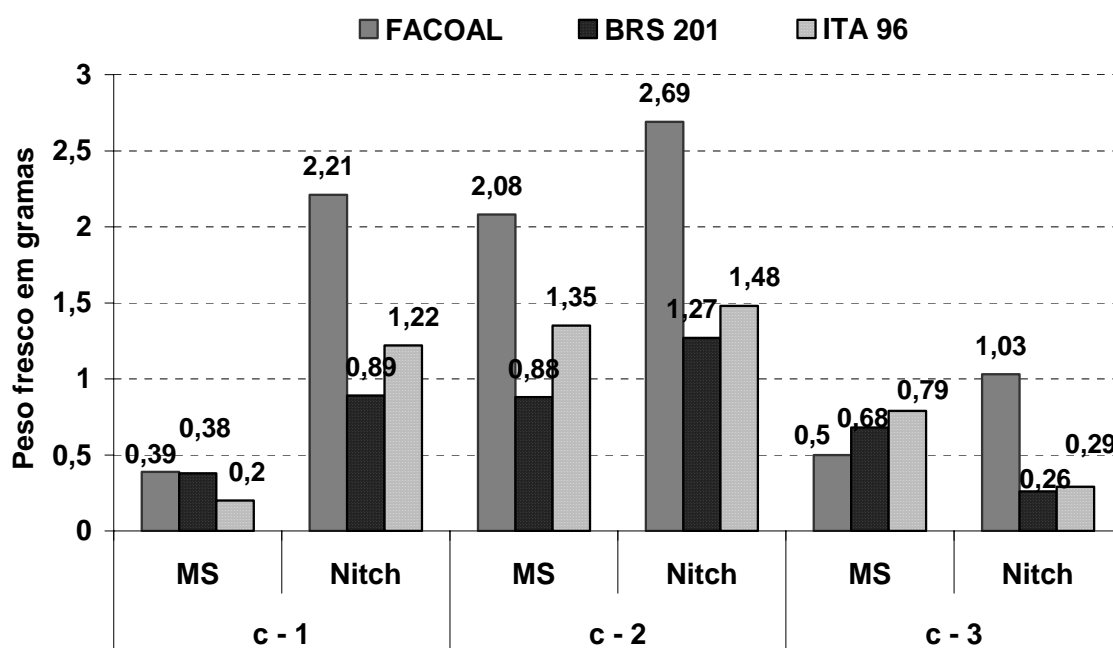


Figura 2 – Desenvolvimento de calos de algodão em gramas nas variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA FACOAL sob o efeito de três concentrações hormonais nos meios de cultura.

## CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que, os meios de cultura utilizados junto com as concentrações hormonais influenciam na indução de calos e no peso fresco (desenvolvimento) dos mesmos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMIRATO, P. V. **Embryogenesis**. In: EVANS, D. A et al. **Handbook of plant cell culture-techniques for propagation and breeding**. New York: Mcmillan Publish, 1986. p. 82-123.

FREIRE, E. C.; Algodão Colorido. **BIO Tecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília ano II, n. 9, p. 36-39, 1999.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J.B. Embriogênese Somática e Sementes Sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Culturas de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília, Embrapa-CBAB. Cap. II, v. 2, p. 533-568, 1999.

JIMÉNEZ, V. M. **Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones**. Revista Brasileira de Fisiologia. Veg., V.13, n. 2, p.196-223, jun. 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

NITCH, C. La culture de pollen isolé sur milieu synthétique. **C. R. Academic Science**, Paris, v. 278, p. 1031-1034, 1974.

TROLINDER, N. L.; GOODIN, J. R. Somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Plant Cell Report**. Berlin, v. 6, p. 231-234. 1987.

ZHANG, B.; LIU, F.; YAO, C. Plant regeneration via somatic embryogenesis in cotton. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 60, p. 89-94, 2000.

## PALAVRAS-CHAVES

Cultura de tecidos; Embriogênese somática; Regeneração *in vitro*.

## Efeito de diferentes concentrações hormonais e antioxidantes sobre a indução de calos em algodão (*G. hirsutum* L.).

SILVA, Kleptura de Oliveira e<sup>1</sup>; CÂMARA, Marianne de Melo Arruda<sup>2</sup>; ALOUFA, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Bióloga, Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: kletinha@yahoo.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3215 3189; <sup>2</sup>Aluna do Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente PRODEMA - Subprograma/UFRN. Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: mariannebio@hotmail.com; Fone/Fax: (0\*\*84) 3215 3189; <sup>3</sup>Dr.Professor do Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia/DBEZ. Universidade Federal do Rio Grande do Norte./UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: magdi-aloufa@bol.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3211-9205.

### INTRODUÇÃO

A sustentabilidade da agricultura como uma das questões chave na problemática do meio ambiente revela, antes de tudo, a crescente insatisfação com a agricultura moderna; indicando a necessidade social de práticas que, simultaneamente, conservem os recursos naturais e forneçam produtos mais saudáveis. Embora a cultura algodoeira possua imensa aplicabilidade agrônômica, esta é uma cultura muito suscetível ao aparecimento de patogenias que causam reduções significativas na produtividade e na qualidade da fibra do algodão. As perspectivas do uso das técnicas de cultura *in vitro* podem ser integradas como parte da resolução da problemática na produção de algodão, objetivando uma produção mais estável. A viabilização de plantas resistentes a doenças vem obtendo um importante papel, sob o ponto de vista agrônômico. Um sistema eficiente de regeneração de planta *in vitro* caracteriza-se pela rápida e contínua produção de embriões somáticos (Zhang et al, 2000). Segundo Litz et al. (1998), a indução de culturas embriogênicas depende do genótipo, tipo de explante, estágio de desenvolvimento do explante e da composição do meio de cultivo *in vitro*. Um dos entraves na cultura de tecidos *in vitro* é a oxidação fenólica, que é ocasionada pela resposta aos ferimentos no explante, e se manifesta como um escurecimento do tecido vegetal, muitas vezes dificultando o cultivo.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de dois meios de cultura, MS (1962) e Nitch (1974), sob influência dos reguladores de crescimento 2,4-D e 2IP, bem como o emprego dos antioxidantes ácido ascórbico e carvão ativado sobre a indução de calos em três variedades de algodão.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Foram utilizadas sementes dos cultivares de algodoeiro herbáceo, CNPA FACOAL, CNPA BRS 201 e CNPA ITA 96 obtidas da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Algodão(CNPA), no Município de Campina Grande, PB. As sementes passaram por processos de desinfestação em lavagens com etanol 70%, por cinco minutos, e hipoclorito de sódio 2%, por 20 minutos, e quatro lavagens em água destilada e autoclavada, cada enxágüe com duração de cinco minutos. Posteriormente, a fim de germinarem, foram colocadas em frascos contendo água destilada e esterilizada em papel filtro. Após dois dias de sua germinação *in vitro*, porções de hipocótilos de 1 cm de tamanho foram introduzidas em meio de cultura sólido, Murashige & Skoog (1962) e Nitch

(1974), e suplementadas com três concentrações hormonais: C<sub>1</sub> (glicose + 0,1mg/L de 2,4D e 1,0mg/L de 2IP); C<sub>2</sub> (glicose + 0,1mg/L de 2,4D e 1,0mg/L de 2IP e 150mg de ácido ascórbico) e C<sub>3</sub> (glicose + 0,1mg/L de 2,4D e 1,0mg/L de 2IP e 10mg de carvão ativo). Cada tratamento recebeu as três variedades (CNPA FACOAL, CNPA ITA 96 e CNPA BRS 201) com o objetivo de induzir calos. As culturas permaneceram incubadas a uma temperatura de 26 ± 2°C sob um fotoperíodo de 12 horas luz e intensidade luminosa de 30 μM.m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup>. Estas culturas foram analisadas durante 30 dias para a indução de calos. Após quatro semanas, os calos obtidos foram transferidos para meios frescos de mesma composição e suplementação hormonal durante três subcultivos sucessivos visando à manutenção dos calos e observação da oxidação nos tratamentos testados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 unidades experimentais e 3 repetições para todos os tratamentos de indução de calos e diferenciação de brotos, cada uma composta por 1 explante. Os dados analisados são referentes à indução de calos embriogênicos e à taxa de oxidação polifenólica, diferenciados, mediante a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos calos embriogênicos em todos os tratamentos utilizados, para as três variedades testadas, o que possivelmente pode ser atribuído aos genótipos da espécie estudada, associado aos tipos de reguladores de crescimento. Resultados semelhantes foram descritos por Carvalho et al. (2001) quando obtiveram a indução de calos embriogênicos e não-embriogênicos utilizando suplementações de ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) e 2-isopenteniladenina (2IP) em meio básico MS. Pesquisas sobre embriogênese somática apontam o uso de 2,4-D para a cultura de tecidos em *Gossypium hirsutum*, como fizeram Trolinder e Goodin (1987), que observaram embriões somáticos em suspensões celulares de oito cultivares de *G. hirsutum* cultivados em meio MS, com diferentes concentrações de 2,4-D e cinetina.

Para a indução de calos em todas as variedades estudadas, as suplementações C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> adicionadas ao meio básico MS não determinaram respostas muito diferentes entre si; mas a suplementação C<sub>3</sub> determinou baixo percentual de calogênese na variedade CNPA FACUAL (Figura 1). A observação de diferentes respostas por parte dos genótipos utilizados em nosso estudo, as quais surgiram 60 dias após a inoculação, vai ao encontro das sugestões de John e McStewart (1992) e Bajaj e Gill (1992) que afirmam que genótipos diversos respondem de forma diferenciada à organogênese *in vitro*. Para Carvalho et al. (2001), a presença dessas estruturas pode indicar a fase inicial de embrióides. Os calos obtidos nos meios MS e Nitch, com as suplementações C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>, apresentaram taxas de oxidação maiores que as observadas nos calos cultivados com a suplementação C<sub>1</sub>, sem adição dos antioxidantes (Figura 2). Possivelmente, os antioxidantes, absorvem os reguladores de crescimento e outras substâncias importantes no desenvolvimento dos calos. Para Kohlenbach e Wernicke (1978), o carvão ativado exerce função fundamental no meio de cultura, impedindo a incidência de luz na base do explante, reduzindo a oxidação e absorvendo os compostos tóxicos presentes no ágar.



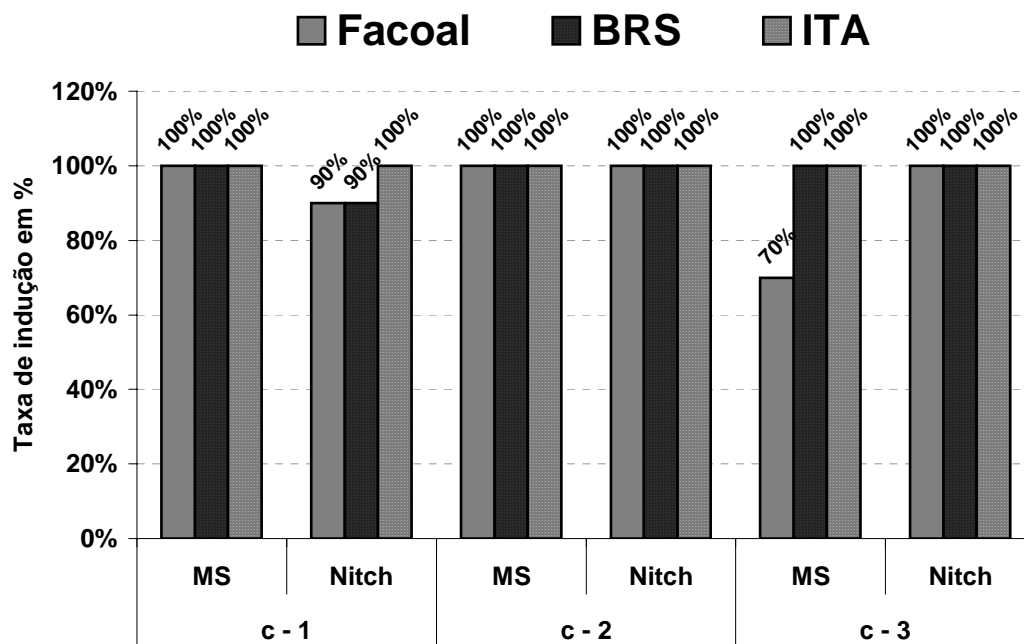


Figura 1 – Percentagem de indução de calos de algodão após 90 dias de avaliação, sob o efeito de três suplementações, nas variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA FACUAL.

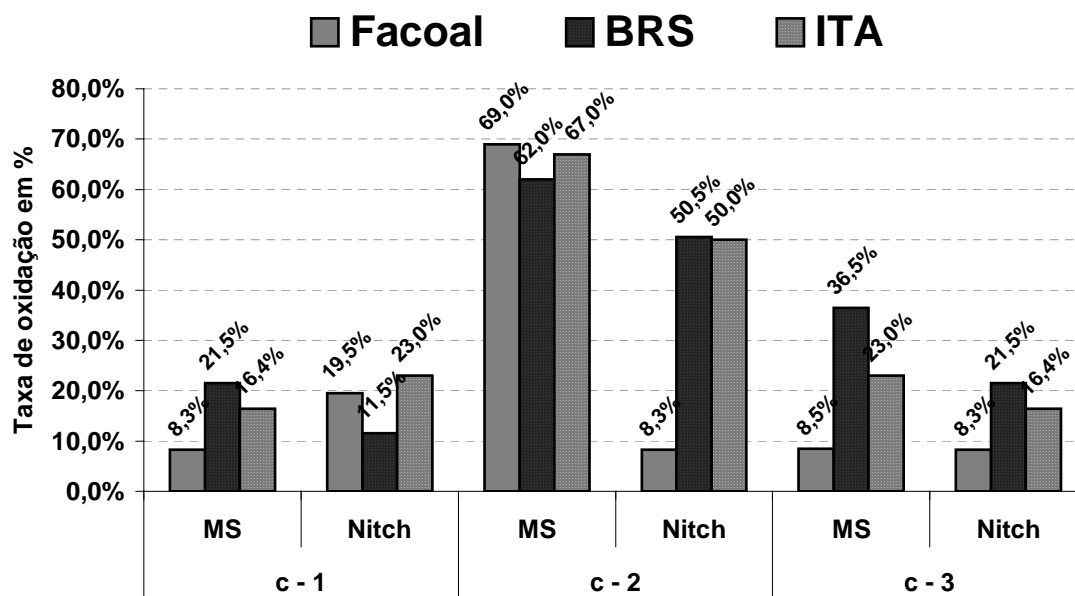


Figura 2 – Percentagem da taxa de oxidação na formação de calos de algodão, nas variedades CNPA FACUAL, CNPA ITA 96 e CNPA BRS 201, em três concentrações hormonais nos meios de cultura.

## CONCLUSÕES

De forma geral, a aplicação das suplementações hormonais combinadas aos meios Nitch e MS propiciou percentuais satisfatórios na indução de calos em *G. hirsutum*. Entretanto, a adição do carvão ativado não reduziu de forma satisfatória as taxas de oxidação. A implicação resultante da oxidação nos leva a recomendar o uso de outros tipos de antioxidantes na indução de calos desta espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y. P. S.; GILL, M. S. Micropropagation of cotton (*Gossypium species*). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed). **Biotechnology in agriculture and forestry: high-tech and micropropagation III**. [S. I.]: Berlin Heidelberg-Springer-Verlag, v. 19, p. 484-504, 1992.

CARVALHO, J. M. F. C.; BENITO, E. G.; PEREZ, C. Análise histológica de calogênese e embriogênese das cultivares de algodão CNPA Precoce 2 e Coker 312. **Revista de Oleaginosas e Fibras**, Campina Grande, v. 5, n.1, p. 235-239, jan./abr. 2001.

JOHN, M. E.; McSTEWART, J. Genes for jeans: biotechnological advance in cotton. **Tibtech**, OECD DEVELOPMENT CENTRE, v. 10, p. 165-170, 1992.

KOGLNBACH, H. W.; WERNICKE, W. Investigations on the inhibitory effect of agar and the function of active carbon in the function of active carbon in anther culture. **Zetschirift fuer Pflansenphysiologie**, v. 86, p. 463-472, 1978.

LITZ, R. E., CHAVEZ, V. C.; MOON, P.A. Induction of embryogenic cultures from mature-phase tropical and subtropical trees and control of somatic embryo maturation and germination. In: MANTELL, S. H.; BRUNS, S.; TRAGARDH, C. et al. **Recent advances in biotechnology for conservation and management**. Stockholm: International Foundation for Science, p. 232-243, 1998.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

NITCH, C. La culture de pollen isolé sur milieu synthétique. **C. R. Academic Science**, Paris, v. 278, p. 1031-1034, 1974.

TROLINDER, N. L.; GOODIN, J. R. Somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Plant Cell Report**. Berlin, v. 6, p. 231-234. 1987.

ZHANG, B.; LIU, F.; YAO, C. Plant regeneration via somatic embryogenesis in cotton. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 60, p. 89-94, 2000.

## PALAVRAS-CHAVES:

*Gossypium hirsutum*, 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), 2IP (2-isopenteniladenina).

## Efeito do BAP e 2IP sobre a indução de calos e regeneração *in vitro* de algodão (*G. hirsutum* L.).

Silva, Kleptura de Oliveira e<sup>1</sup>; Freitas, André Luiz Bezerra Falcão<sup>2</sup>; Aloufa, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Bióloga, Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: kletinha@yahoo.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3215 3189; <sup>2</sup>Aluno do Curso de Graduação em Biologia, Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: zandreluz@hotmail.com; Fone/Fax: (0\*\*84) 3215 3189; <sup>3</sup>Dr. Professor do Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia/DBEZ. Universidade Federal do Rio Grande do Norte./UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: magdi-aloufa@bol.com.br; Fone/Fax: (0\*\*84) 3211-9205.

### INTRODUÇÃO

O algodoeiro herbáceo é considerado uma cultura muito suscetível a diversas pragas (Cia, 2000) que causam prejuízo ao seu cultivo e tais patogenias podem surgir logo após a emergência das plantas. A aplicação de tecnologias visando à melhoria da produção no aspecto fitossanitário pode ser uma alternativa para resolver parte dos problemas de produção desta cultura. O desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos vegetais *in vitro* para algodão tem sido um dos processos significativos para o avanço do melhoramento genético na obtenção de novos cultivares resistentes a doenças. Vários trabalhos já foram escritos demonstrando a capacidade de embriogênese somática de diferentes explantes dessa espécie; por exemplo os de Liu (1986) que estudou a indução de embriogênese somática nas espécies silvestres de algodão, *Gossypium raimondii* e *Gossypium davidsonii*, e os trabalhos de Finer (1988), que obteve embriões somáticos em suspensões celulares da cultivar Coker 310 a partir de cotilédones. O objetivo deste trabalho é verificar o efeito da adição de diferentes reguladores de crescimento ao meio de cultivo, MS (1962) e Nitch (1974), na indução de calos e regeneração de brotos em três variedades de *Gossypium hirsutum* a fim de, posteriormente, selecionar células resistentes às doenças que atingem a cultura de algodão.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Foram utilizadas sementes dos cultivares de algodoeiro herbáceo, CNPA FACOAL, CNPA BRS 201 e CNPA ITA96 obtidas da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (CNPA), no Município de Campina Grande, PB. As sementes passaram por processos de desinfestação em lavagens com etanol 70%, por cinco minutos, e hipoclorito de sódio 2%, por 20 minutos, e quatro lavagens em água destilada e autoclavada, cada enxágüe com duração de cinco minutos. Posteriormente, a fim de germinarem, foram colocadas em frascos contendo água destilada e esterilizada em papel filtro. Após dois dias de sua germinação *in vitro*, porções de hipocótilos de 1 cm de tamanho foram introduzidas em meio de cultura sólido, Murashige & Skoog (1962) e Nitch (1974), e suplementadas com três concentrações hormonais: 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP(C<sub>1</sub>); 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP e 150 mg de ácido ascórbico(C<sub>2</sub>) e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP e 10 g de carvão ativado(C<sub>3</sub>). Cada tratamento recebeu as três variedades (CNPA FACOAL, CNPA ITA 96 e CNPA BRS 201) com o objetivo de induzir calos. As culturas permaneceram incubadas a uma temperatura de 26 ± 2°C sob um fotoperíodo de 12 horas luz e intensidade luminosa de 30 μM.m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup> Estas culturas foram

analisadas durante 30 dias para a indução de calos e diferenciação das partes aéreas. Após quatro semanas, os calos obtidos foram transferidos para meios frescos de mesma composição e suplementação hormonal durante três subcultivos sucessivos visando a manutenção dos calos e regeneração de brotos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 unidades experimentais e 3 repetições para todos os tratamentos de indução de calos e diferenciação de brotos, cada uma composta por 1 explante. Os dados analisados são referentes à indução de calos embriogênicos e à percentagem de brotos diferenciados, mediante a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das análises efetuadas com relação à indução de calos, observa-se elevados percentuais (100%) para percentagem de indução de calos nas três variedades na suplementação de 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP e 150 mg de ácido ascórbico (C<sub>2</sub>), no meio MS e NITCH; provavelmente em decorrência da composição do meio de cultivo associado às suplementações hormonais (Figura 1). Segundo Litz et al. (1998), a indução de culturas embriogênicas depende do genótipo, do tipo de explante e do estágio de desenvolvimento do explante, além da composição do meio de cultivo *in vitro*. De modo geral, observou-se que a melhor resposta em termos de indução de calos em todos os meios estudados para as variedades foi da ITA 96; este fato sugere que este genótipo em questão responde de forma mais apropriada ao estudo proposto. Bajaj e Gill (1992), afirmam que genótipos diversos respondem de forma diferenciada à organogênese *in vitro*. Com relação à diferenciação de brotos, os melhores resultados foram observados para a variedade FACOAL no meio MS sob efeito da concentração C<sub>3</sub> (90% de regeneração de brotos), dados não verificados para a mesma variedade quando trabalhada em meio semelhante de cultura, na concentração de 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de 2IP (C<sub>1</sub>) (Tabela 1), provavelmente devido aos reguladores de crescimento; segundo Grattapaglia e Machado (1998), às citocininas mais utilizadas comercialmente e à 6-benzilaminopurina (BAP), que geralmente apresenta melhores resultados *in vitro*.

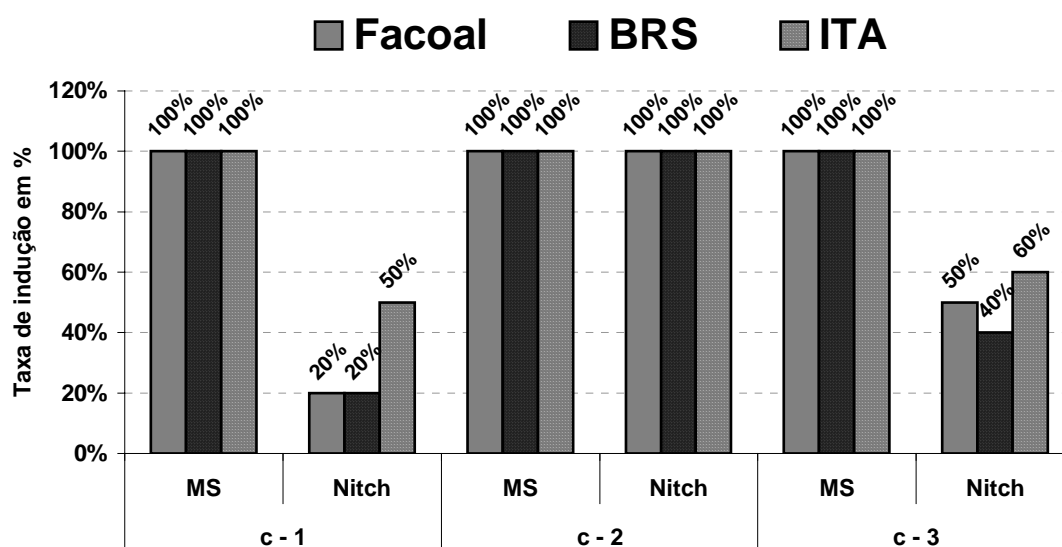


Figura 1 – Percentagem de indução de calos de algodão, sob o efeito de três suplementações, nas variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA FACOAL.

Concentrações	Meios de cultura	
	MS	NITICH
	Variedades	
2,5 mg.L <sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L <sup>-1</sup> de 2IP(C <sub>1</sub> )	FACOAL 0% de brotos	FACOAL 0% de broto
	ITA 96 0% de brotos	ITA 96 30% de brotos
	BRS 201 0% de brotos	BRS 201 10% de brotos
2,5 mg.L <sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L <sup>-1</sup> de 2IP e 150 mg de ácido ascórbico(C <sub>2</sub> )	FACOAL 0% de brotos	FACOAL 20% de brotos
	ITA 96 60% de brotos	ITA 96 20% de brotos
	BRS 201 0% de brotos	BRS 201 30% de brotos
2,5 mg.L <sup>-1</sup> de BAP e 2,5 mg.L <sup>-1</sup> de 2IP e 10 g de carvão ativado(C <sub>3</sub> )	FACOAL 90% de brotos	FACOAL 20% de brotos
	ITA 96 30% de brotos	ITA 96 40% de brotos
	BRS 201 0% de brotos	BRS 201 10% de brotos

Tabela 1 – Quantidade média em porcentagem de brotos regenerados nas variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA, sob dois meios de cultura e diferentes concentrações hormonais

## CONCLUSÕES

As variações quanto às taxas na indução de calos e organogêneses são esperadas nas técnicas de cultivo *in vitro*, pois as concentrações nutricionais (reguladores de crescimento, antioxidantes e meios de cultura) e suas interrelações determinam o desenvolvimento e as respostas morfogênicas dos explantes nas espécies cultivadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y. P. S., GILL, M. S. **Micropropagation of cotton (*Gossypium* species)**. In: **Biotechnology in agriculture and forestry**. v. 19. high-tech and micropropagation III. Y. P. S. Bajaj (Ed.). Springer-verlag, Berlin Heidelberg, p. 484-504.

CIA, E. **Doenças do algodão**. Cultivar, Pelotas, v. 22, p. 52-54, 2000.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa - SPI/CNPH, 1998. p. 183-260.

LITZ, R. E., CHAVEZ, V. C.; MOON, P.A. Induction of embryogenic cultures from mature-phase tropical and subtropical trees and control of somatic embryo maturation and germination. In: MANTELL, S. H.; BRUNS, S.; TRAGARDH, C. et al. **Recent advances in biotechnology for conservation and management**. Stockholm: International Foundation for Science, 1998. p. 232-243.

LIU, Z.-H.; WANG, W.-C. & YEN, Y.-S. **Effect of hormone treatment on root formation and endogenous indole-3-acetic acid and polyamine levels of *Glycine max* cultivated *in vitro***. Botanical Bulletin of the Academia Sinica, v. 39, p. 113-118, 1998.

Finer J. j. **Plant regeneration from somatic embryogenic suspension cultures of cotton, *Gossypium hirsutum* L.** Plant Cell Reports, v. 7, p. 399-402, 1988

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. Physiologia Plantarum. Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

NITCH, C. **La culture de pollen isolé sur milieu synthétique**. C. R. Academic Science, Paris, v. 278, p. 1031-1034, 1974.

## PALAVRAS-CHAVE

*Gossypium hirsutum*; indução de calos; reguladores de crescimento; regeneração *in vitro*.

## Effect of the GSNO in the Genic Expression in Cells Suspension of Sugar Cane.

Costa-Netto, Antônio Paulino da<sup>1</sup>; Shishido, Silvia Mika<sup>2</sup>; Duarte, Rodrigo Drummond<sup>1</sup>; de Oliveira, Marcelo Ganzarolli de<sup>2</sup> and Menossi, Marcelo<sup>1</sup>

1 - University State of Campinas, Center of Molecular Biology and Genetic Engineering - CBMEG/UNICAMP, Postal Code 6010, CEP 13083-970, Campinas, São Paulo, Phone: (19) 3521-1143, email: [apcnetto@passosuemg.br](mailto:apcnetto@passosuemg.br), [menossi@unicamp.br](mailto:menossi@unicamp.br).

2 - University State of Campinas, Institute of Chemistry - IQ/UNICAMP, Postal Code 6154, CEP 13084 – 862, Campinas, São Paulo, Phone: (19) 3521 – 3000, email: [mgo@iqm.unicamp.br](mailto:mgo@iqm.unicamp.br) .

Plant-pathogen interactions, apoptosis, respiration and stomatal closure are some of the process that are modulated at least in part by nitric oxide (NO). Only recently a NO forming enzyme was cloned in *Arabidopsis thaliana* and the knowledge on the genes that are modulated by this molecule is limited. In this work we evaluated the effect of a NO donor on the gene expression in sugarcane cells suspension. Nylon cDNA arrays containing 6144 genes were hybridized with cDNA obtained from cells exposed to 0.1, 1.0 and 5.0 mM for six hours. Thirteen genes were induced and two were repressed. Genes encoding aminotransferases, peroxidases and proteins with unknown functions were differentially expressed. The role of these gene in the putative NO pathway in sugarcane will be described.

Keywords: Sugar Cane, Cell Suspension, Nylon Arrays and Nitric Oxide.

Financial Support: CNPq and FAPESP

## Certificação da pureza genética em *Gladiolus* sp. por meio de marcadores morfológicos.

Ferreira, Clarissa Alves<sup>1</sup>; Von Pinho, Édila Vilela de Resende<sup>2</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>3</sup>; Salgado, Kalinka Carla Padovani de Carvalho<sup>4</sup>; Pereira, Gabriela Santos<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia) (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1842, email: [clarissaaf04@yahoo.com.br](mailto:clarissaaf04@yahoo.com.br), <sup>2</sup> Professora da Universidade Federal de Lavras (UFLA/DAG) Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1319, email: [edila@ufla.br](mailto:edila@ufla.br), <sup>3</sup> Professora da Universidade Federal de Lavras (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1786, email: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br) <sup>4</sup>Pesquisadora da FAPEMIG (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1842, email: [kaka@ufla.br](mailto:kaka@ufla.br), <sup>5</sup> Graduanda em Agronomia (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1842, email: [gabipereira87@yahoo.com.br](mailto:gabipereira87@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

O gladiolo tem grande importância como flor de corte e pertence a família botânica Iridaceae, subfamília Ixioidea, envolvendo entre 250 a 300 espécies (Rees, 1992).

Atualmente, para se manterem no mercado, as empresas produtoras de bulbos procuram monitorar todo o processo produtivo visando um produto com alta pureza genética evitando-se as contaminações varietais.

Apesar de apresentarem limitações por requererem tempo e espaço e muitos serem avaliados em plantas adultas, os marcadores morfológicos são tradicionalmente usados na caracterização de cultivares, para o registro e proteção de cultivares (Vieira, 2004).

As pesquisas relacionadas com a certificação da pureza genética em flores são escassas. Nesse trabalho foram realizadas a caracterização e a certificação da pureza genética de variedades de *Gladiolus* sp. por meio de marcadores morfológicos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na área experimental do Setor de Floricultura do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras utilizando-se bulbos de onze variedades, provenientes da Empresa Terra Viva, localizada na cidade de Holambra, SP, descritas na Tabela 1.

TABELA 1. Descrição das variedades utilizadas na pesquisa. UFLA, Lavras-MG, 2007.

Variedades	Florescimento (dias)	Coloração das Flores
1 Withe Friendship	65	Branca
2 White Goddess	75	Branca
3 Priscilla	75	Rosa, branca e amarela
4 Rose Friendship	65	Rosa
5 San Martin	75	Rosa
6 Gold Field	85	Amarela
7 Yester	85	Amarela com o centro vermelho
8 T 704	75	Lilás
9 Traderhorn	75	Vermelho com branco
10 Red Beauty	75	Vermelho
11 Peter Pears	70	Coral

Para a caracterização das variedades, as parcelas foram constituídas de 25 plantas, avaliando-se as seguintes características: peso, perímetro, cor da túnica, cor dos aros de inserção da túnica e cor dos bulbos, cor, número, presença de antocianina e tamanho das folhas; cor e tamanho das flores, porte da planta, número de flores, vida de vaso, comprimento da haste. Para a certificação da pureza genética, foram instaladas parcelas constituídas de 24 plantas e bulbos contendo contaminantes de outra variedade em diferentes proporções.

O delineamento experimental utilizado para o primeiro e para o segundo experimento foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos



pelas diferentes variedades. No segundo experimento, foram utilizadas somente três variedades para compor os tratamentos. As avaliações foram realizadas por três avaliadores que desconheciam a porcentagem existente de contaminação. Foram calculadas as porcentagens de acerto e de erro com base nos resultados obtidos e foi calculado o desvio padrão da média dos resultados. Para verificar a significância dos desvios entre os resultados obtidos pelos avaliadores foi utilizado o teste de qui-quadrado ( $\lambda^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na caracterização das variedades, em casa de vegetação, Tabela 2, observou-se que pela cor da túnica rosa foi possível diferenciar a variedade Traderhorn das demais. Já para a cor da inserção da túnica, as variedades San Martin, Gold Field e Peter Pears foram diferenciadas das demais variedades.

A cor dos bulbos é considerada um descritor importante, pois permite a separação de variedades logo após a colheita desses, sem demanda de espaço e tempo.

Por meio da cor das folhas não foi possível separar as variedades analisadas, exceto a Traderhorn que possui as folhas verdes arrouxeadas. Devido à variação do nível de nitrogênio disponível no solo, deve-se tomar cuidado com a variação da cor da folha e geralmente nas folhas mais jovens essa tonalidade é alterada (Bonow, 2004).

Foi observada a presença de antocianina na primeira folha em todas as variedades, exceto na variedade Yester. Porém, em alguns casos, a presença de antocianina foi observada somente abaixo do nível do solo, o que dificulta sua rápida visualização. A presença de antocianina também foi observada entorno do limbo foliar da segunda folha da variedade Red Beauty e a presença de antocianina na ponta das primeiras folhas somente na variedade White Goddess. Porém essa última foi observada somente no início do ciclo. Segundo Bonow (2004), em arroz, a herança da pigmentação de antocianina é bastante complexa, por ser controlada por vários genes, além de sofrer grande influência do ambiente.

A cor das flores foi o descritor mais importante para diferenciar as variedades, permitindo a separação de todas as variedades analisadas. Entretanto, esse descritor pode ser observado somente na fase do florescimento da cultura, demandando tempo e espaço.

Por meio do porte da planta foi possível separar as variedades em três grupos de porte alto, médio e baixo.

Tanto o comprimento como a largura do limbo foliar variaram entre as variedades, tanto aos 30 dias após o plantio quanto na época da emissão da espiga. Somente as variedades Gold Field e Red Beauty mantiveram o maior comprimento e maior largura do limbo foliar durante todo o ciclo da cultura. A variedade Peter Pears durante o florescimento apresentou o maior comprimento da folha e a segunda maior largura. Portanto essa característica mostrou-se bastante instável.

Somente as variedades Peter Pears e San Martin possuíam um menor número de folhas em relação às outras. Quando foi realizada uma avaliação nas variedades no momento da emissão da espiga, foi possível diferenciar a variedade Gold Field, com o maior número entre todas as demais.

Em relação ao número de flores e a vida de vaso houve a separação das variedades em dois grupos. No primeiro, apenas as variedades Gold Field, Traderhorn e Peter Pears apresentaram um número maior de flores em relação às demais. Já as variedades que tiveram maior vida de vaso foram Priscilla, T-704 e Red Beauty.

O peso e o perímetro dos bulbos avaliados antes do plantio permitiram o agrupamento das variedades em três grupos. As variedades White Goddess e Gold Field apresentam os maiores pesos e perímetros simultaneamente quando avaliados. Já quando foram avaliados após a colheita, o peso e o perímetro dos bulbos permitiram diferenciar as variedades em dois grupos. As variedades que apresentaram os maiores pesos e perímetros simultaneamente foram a White Goddess e San Martin.

Por meio de todas as características foi possível o agrupamento das variedades em grupos, exceto para o comprimento da haste das flores. Entretanto, é importante ressaltar que para a diferenciação das variedades devem ser considerados diferentes descritores.

TABELA 2. Caracterização morfológica qualitativa e quantitativa de onze cultivares de gladiolos. UFLA. Lavras, MG, 2007.

	Withe Friendship	White Goddess	Priscilla	Rose Friendship	San Martin	Gold Field	Yester	T 704	Traderhorn	Red Beauty	Peter Pears
Cor da Túnica	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro	Rosa	Dourado e rosa claro	Dourado e rosa claro
Cor da inserção da túnica	Dourado	Dourado	Dourado	Dourado	Rosa claro	Rosa claro	Dourado	Dourado	Dourado	Dourado	Rosa forte
Cor dos bulbos	Amarelo	Amarelo	Rosa goiaba claro	Amarelo	Laranja claro	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Vermelho escuro	Laranja	Amarelo
Cor das folhas	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde e arrouxeada	Verde	Verde
Presença de antocianina na 1ª folha	Sim. Vinho abaixo do solo	Sim. Vinho acima do solo	Sim. Vinho acima do solo	Sim. Vinho abaixo do solo	Sim. Vinho acima do solo	Sim. Vinho abaixo do solo	Não	Sim. Vinho abaixo do solo	Sim. Vinho Acima do solo	Sim. Vinho acima do solo	Sim. Vinho acima do solo
Presença de antocianina entorno do limbo foliar na 2ª folha	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não
Presença de antocianina na ponta da folha	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Cor das flores	Branca	Branca com pontos rosa	Rosa, branca e amarela	Rosa claro	Rosa	Amarela	Amarela c/ o centro vermelho	Lilás	Vermelha c/ o centro branco	Vermelha	Coral
Porte da planta	Baixo	Médio	Médio	Baixo	Médio	Alto	Médio	Médio	Médio	Alto	Alto
Compr. da folha aos 30 dias (cm)	40,46 b	41,75 b	34,06c	48,11a	23,22d	46,36a	35,78c	38,40b	43,70a	48,32a	
Larg. da folha aos 30 dias (cm)	3,18b	3,96a	2,79c	4,21a	1,38d	3,16b	2,68c	2,61c	2,37c	2,83c	
Nº de folhas aos 30 dias	3,00a	3,50a	3,00a	3,50a	2,00b	3,50a	3,00a	3,25a	3,25a	3,75a	1,75b
Nº de folhas na EE	6,00c	7,00b	6,75c	7,00b	6,50c	8,00a	7,25b	6,50c	6,50c	7,00b	7,00b
Compr. de folhas na EE (cm)	83,55e	101,97c	107,64b	81,92e	101,63c	121,52a	91,64d	89,95d	110,17b	113,88a	121,52a
Larg. da folha na EE (cm)	4,38a	4,40a	4,50a	4,44a	3,41c	3,85b	3,99b	3,23c	3,39c	3,59c	3,98b
Nº de flores na haste C	8,25b	8,25b	7,00b	8,00b	7,75b	10,25a	7,25b	8,00b	9,00a	7,25b	10,00a
Compr. da haste (cm)	60,92a	66,60a	62,22a	67,31a	71,99a	77,88a	70,89a	65,29a	68,28a	61,37a	65,18a
Vida de vaso (dias)	4,25b	4,75b	5,75a	4,50b	4,75b	4,25b	4,50b	5,50a	4,50b	5,25a	3,75b
Compr. da flor (cm)	8,54b	8,29b	9,34a	8,65b	9,76a	9,35a	8,17b	9,11a	8,97a	9,11a	8,46b
Larg. da flor (cm)	9,54b	9,46b	10,08a	10,11a	10,00a	10,49a	9,39b	8,64c	9,95a	9,41b	9,22b
Peso dos bulbos AP (g)	22,06b	28,28a	20,39b	18,18c	17,23c	30,21a	18,02c	14,94c	16,22c	20,71b	22,14b
Perímetro dos bulbos AP (cm)	12,91a	13,83a	12,88b	12,09c	12,14c	14,60a	12,83b	12,43c	12,11c	12,51c	13,14b
Peso dos bulbos DC (g)	34,63b	55,39a	44,39a	31,83b	58,34a	49,57a	38,17b	26,81b	25,15b	34,90b	39,57b
Perímetro dos bulbos DC (cm)	16,35b	17,97a	18,36a	16,29b	19,09a	17,17b	16,61b	15,05b	15,41b	15,93b	17,06b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si na linha pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.  
EE – emissão da espiga; AP – antes do plantio; DC – depois da colheita.

Na Tabela 3, estão apresentados os resultados médios dos percentuais de acerto e de erro obtidos durante a certificação da pureza varietal.

Na caracterização morfológica efetuada nos bulbos, para a variedade Traderhorn, houve uma porcentagem de acerto de 100%. A principal característica observada foi a cor do bulbo avermelhada, que era bastante diferente do contaminante. A menor porcentagem de acerto ocorreu para a variedade White Friendship, com apenas 48,83%. Nesse caso tanto a variedade White Friendship e seu contaminante, White Goddess, possuem bulbos amarelos, variando apenas na intensidade da cor.

Na avaliação realizada aos 30 dias após o plantio, a maior porcentagem de acerto, 88,89% e a menor de erro, 8,66% foram observadas para a variedade Traderhorn. Essa alta porcentagem de acerto foi observada pela presença acentuada da cor verde arrouxeada e largura das folhas e o porte médio da variedade Traderhorn. O contaminante, Rose Friendship, possui a cor das folhas na tonalidade esverdeada, folhas largas e porte baixo. A variedade Gold Field e seu contaminante, Peter Pears, apresentam ciclos bem distintos, que tornou fácil sua diferenciação. A porcentagem de acerto observada para essa variedade foi de 72,92%. Entretanto, para a variedade White Friendship foi observada a menor porcentagem de acerto, 15,28% e a maior porcentagem de erro, 17,68%.

No florescimento, a avaliação permitiu a total separação das variedades e de seus contaminantes, com uma porcentagem de acerto de 100% e uma porcentagem de erro de 0%. A principal característica avaliada nesse estágio foi a cor da flor.

A identificação das cultivares foi facilitada nos estádios mais avançados de desenvolvimento das plantas.

TABELA 3. Resultados de identificação (% de acerto e % de erro) de bulbos e plantas provenientes de diferentes variedades em várias épocas de avaliação. UFLA. Lavras, MG, 2007.

Variedade		Bulbos	Épocas de		Florescim.
			30 dias AP	60 dias AP	
White Friendship	% acerto	48,83± 26,02*	15,28± 21,28	23,61± 15,91	100,0± 0,0
	% erro	0,18± 0,09	17,68± 10,33	17,47± 8,01	0,0± 0,0
Gold Field	% acerto	91,66± 14,43	72,92± 41,61	75,0± 33,07	100,0± 0,0
	% erro	0,02± 0,02	17,63± 21,13	16,93± 22,36	0,0± 0,0
Traderhorn	% acerto	100,0± 0,0	88,89± 12,73	94,45± 4,81	100,0± 0,0
	% erro	0,02± 0,04	8,66± 13,11	5,05± 6,90	0,0± 0,0

\* - Desvio padrão da média

AP- após o plantio

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados do teste de qui-quadrado, utilizado para verificar a significância dos desvios entre os resultados obtidos pelos três avaliadores. Pode-se observar a não significância desses entre os resultados obtidos pelos três avaliadores indicando que os erros foram devido ao acaso.

As avaliações realizadas nas variedades Traderhorn e na Gold Field, independentemente da época, apresentaram baixos valores de qui-quadrado juntamente com as altas taxas de acerto, indicando assim, ser possível a separação dessas variedades de seus respectivos contaminantes por meio de marcadores morfológicos.

TABELA 4. Resultados do teste de qui-quadrado ( $\lambda^2$ ) aplicados aos dados de identificação de bulbos e plantas provenientes de variedades diferentes em várias épocas de avaliação, obtidos por três avaliadores. UFLA. Lavras, MG, 2007.

Variedade	Avaliador	Bulbos	Épocas de Avaliação		
			30 dias AP	60 dias AP	Florescimento
White Friendship	1	0,17	0,63	1,23	0
	2	1,50	2,03	0,90	0
	3	1,04	2,50	2,03	0
	$\lambda^2$	2,71 NS	5,15 NS	4,15 NS	0 NS
Gold Field	1	0,0	0,04	1,29	0
	2	0,03	1,75	0,14	0
	3	0,0	0	0	0 NS
	$\lambda^2$	0,03 NS	1,79 NS	1,43 NS	0
Traderhorn	1	0,0	0,32	0,0	0
	2	0,0	0,0	0,04	0
	3	0	0,04	0,04	0
	$\lambda^2$	0 NS	0,36 NS	0,08 NS	0 NS

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade.

\* - Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo

## CONCLUSÃO

Os descritores morfológicos são eficientes para a identificação e certificação da pureza genética das variedades de *Gladiolus* sp..

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONOW, S. **Caracterização morfológica, isoenzimática e molecular de cultivares de arroz**. 2004. 125p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

REES, A. P. **Ornamental bulbs, corms and tubers**. Wallingford: CAB International, 1992. 220 p.

VIEIRA, E. S.N. **Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares na caracterização de cultivares de soja e café**. 2004. 137 p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

## PALAVRAS-CHAVES

Gladiolo; pureza varietal; caracterização morfológica.

## **Estudo da embriogênese somática em duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*).**

Medeiros, Lidiane N.<sup>1</sup>; Macedo, C.E.C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Centro de Biociências, [lidianenoberto@yahoo.com.br](mailto:lidianenoberto@yahoo.com.br) ; <sup>2</sup> Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### **INTRODUÇÃO**

A cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) é uma das culturas em destaque no panorama agrícola brasileiro e mundial, que atualmente aparece como uma das fontes de combustível mais rentável e renovável. Ocupa uma área plantada de mais de 6,5 milhões de hectares no Brasil, utilizada nas indústrias de açúcar, bebidas e combustível, dentre outros subprodutos (Cesnik & Miocque, 2004). Em 1998, a produção brasileira correspondeu a 27% da produção mundial (FAO, 1998). Para o Estado do Rio Grande do Norte a cana-de-açúcar é de grande importância, não apenas pela economia, mas, pela representatividade histórica norte-riograndense de velhos engenhos que constituíam a principal unidade de produção.

A Usina Estivas destaca-se por abastecer cerca de 90% do Estado do Rio Grande do Norte com açúcar, através do cultivo de variedades provenientes de regiões com solo argiloso. Como o solo no qual tais variedades são cultivadas, retém pouca água por ser arenoso, a usina é forçada a despender gastos elevados com irrigação.

Pesquisas que visem o aumento da produtividade das usinas são indispensáveis para o crescimento do setor sucroalcooleiro. Uma alternativa eficiente é o melhoramento de plantas através da cultura *in vitro* de tecidos vegetais.

A cultura de calos é utilizado em programas de melhoramento, devido a produção de variantes somaclonais (variabilidade genética). Além do que, com a indução de calos, há obtenção de uma maior população de células com capacidade de serem expostas a seleção *in vitro* em presença de agentes estressores.

A técnica de embriogênese somática indireta associada à seleção *in vitro*, segundo Duncan (1997) ajuda a triar mutantes viáveis e que possam se desenvolver em plântulas. Sendo, então, uma forma útil para se obter plântulas resistentes a determinado fator de estresse, como o déficit hídrico.

Nesse contexto, o presente estudo visa determinar entre duas variedades de cana-de-açúcar, qual é a mais eficaz em termos de velocidade e de formação de calos, e qual variedade produz uma maior massa de calos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Explantes obtidos a partir do ápice caulinar de duas variedades de cana-de-açúcar: RB 72454 (suscetível a baixa disponibilidade de água), e, a SP 81-3250 (resistente a baixa disponibilidade de água) foram utilizados neste trabalho.

Antes da inoculação, fora do fluxo laminar, foi realizada assepsia lavando os palmitos com detergente neutro, em seguida os mesmos foram mergulhados em hipoclorito de sódio 1% por 5 min e lavados três vezes com água destilada.

No fluxo laminar, os palmitos passaram por outro tratamento asséptico: foram mergulhados em álcool 70% por 1 minuto; depois no hipoclorito de sódio 20% com 3 gotas de detergente neutro por 15 minutos; e, por fim lavados três vezes com água destilada e autoclavada.

Após o procedimento asséptico, cada palmito foi desfolhado até a visualização do domo meristemático, ápice caulinar com cerca de 2 cm de comprimento. Neste foram feitos cortes transversais obtendo-se 10 discos, cada um considerado como um explante, de 2mm de espessura. Os cinco primeiros discos correspondiam a região apical (mais próxima ao domo meristemático) e os cinco últimos correspondentes a região basal do explante (mais distantes do domo meristemático) (Figura 1).

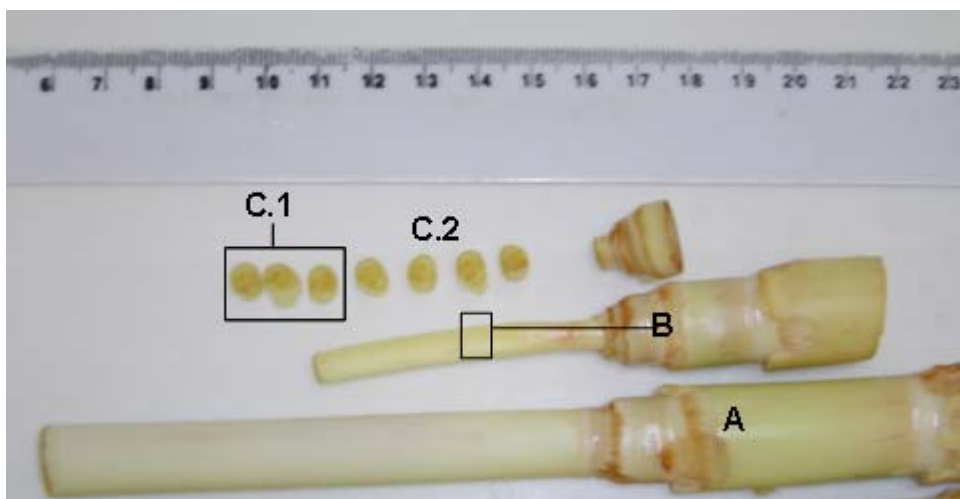


Figura 1: A) palmito desfolhado; B) ápice caulinar indicando o domo meristemático; e, C.1) discos da região apical e C.2) da região basal.

Cada grupo de cinco discos foram distribuídos em placas de petri contendo meio básico MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com  $30\text{gL}^{-1}$  de sacarose,  $100\text{mgL}^{-1}$  de inositol,  $1\text{gL}^{-1}$  de 2,4-D e  $2\text{gL}^{-1}$  de fitagel e mantidos no escuro por 90 dias. Os explantes foram subcultivados três vezes em intervalos de 20 dias.

A análise dos resultados obtidos durante o experimento foi através da média percentual, para o aspecto do calo, para o número de calos formados por região do explante próximo ao meristema e a massa de calos formada. O tempo médio de indução de calos foi analisado através do número total de explantes segundo cada velocidade em dias (5, 10 e 15, respectivamente) e calculando a média ponderada (Callegari-Jacques, 2003) para cada variedade, segundo a fórmula:

$$T_m = \frac{\sum (n^\circ \text{ exp} \times 5) + (n^\circ \text{ exp} \times 10) + (n^\circ \text{ exp} \times 15)}{N}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O início de formação de calos por explante de cada variedade foi observado diariamente, determinando-se assim a velocidade de calogênese. Decorridos 5, 10 e 15 dias após a inoculação observou-se respectivamente taxas de calogênese e desvio padrão (12, 71 e 17%;  $\sigma = 2,85$ ) para RB 72454 e taxas de calogênese e desvio padrão (39, 61 e 0%;  $\sigma = 3$ ) para SP 81-3250, cuja formação de calos iniciou mais rápido (Figura 2).

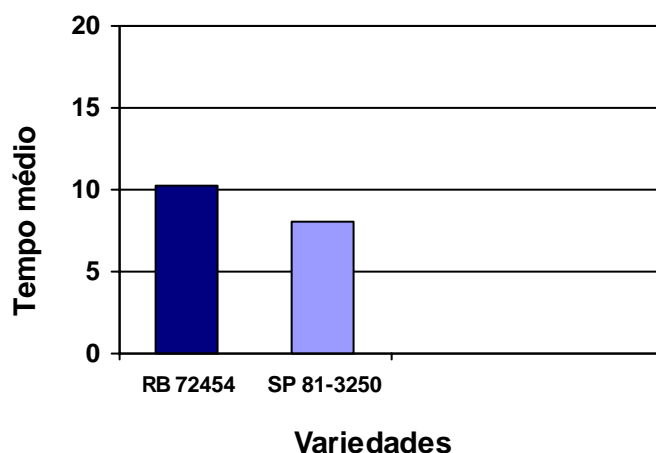


Figura 2: Velocidade média em dias da formação dos calos a partir da inoculação de discos oriundos do ápice caulinar extraídos das variedades RB 72454 e SP 81-3250.

Dentre as características qualitativas que contribuem para definir uma melhor resposta *in vitro* de determinada variedade em relação à outra, está o aspecto do calo, se: compactos (C), friáveis (F) ou, no mesmo explante, friável e compacto (F/C). Dentre os aspectos dos calos, o friável (Figura 3) foi o que apresentou maior porcentagem quando comparados aos demais tipos de calos e, que segundo Liu (1983) e Falco et al (1996) calos friáveis tem uma melhor capacidade de regenerar plântulas do que os calos com aspecto compacto. Com relação aos calos friáveis, as taxas obtidas para a variedade RB 72454 foram de 38% para região apical e 62% para região basal, e para a SP 81-3250 58% para a região apical e 42% para a basal (Figura 4).

Os calos friáveis provenientes dos explantes da RB 72454 originaram-se preponderantemente na região basal, enquanto que na SP 81-3250 houve maior taxa para os explantes da região apical (mais próxima ao meristema). Correlacionando estes dados com a produção de massa de calos, observa-se que a variedade SP 81-3250 obteve uma maior produção de calos, provavelmente porque a região apical é mais próxima do meristema, região esta onde ocorre um maior número de divisões celulares, o que possibilita a obtenção de maior formação de massas de calos em período curto, além de maiores probabilidades de calos embriogênicos com capacidade de regenerar plântulas.

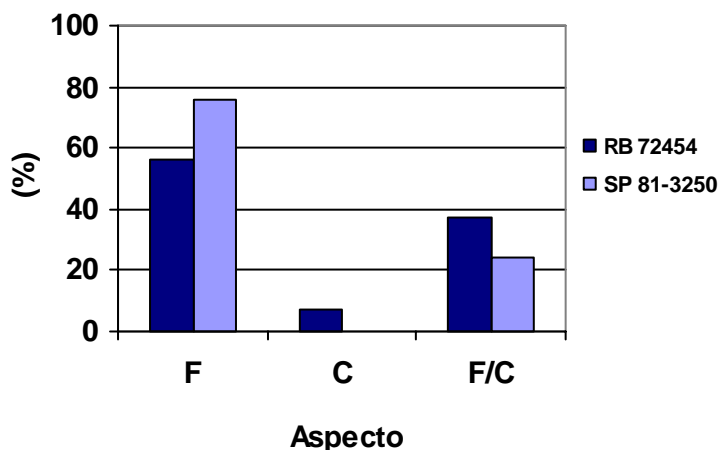


Figura 3: Porcentagem dos tipos de calos formado: friáveis (F), compactos (C) e friáveis/compactos (F/C) nos explantes (totais: apicais e basais) das variedades RB 72454 e SP 81-3250.

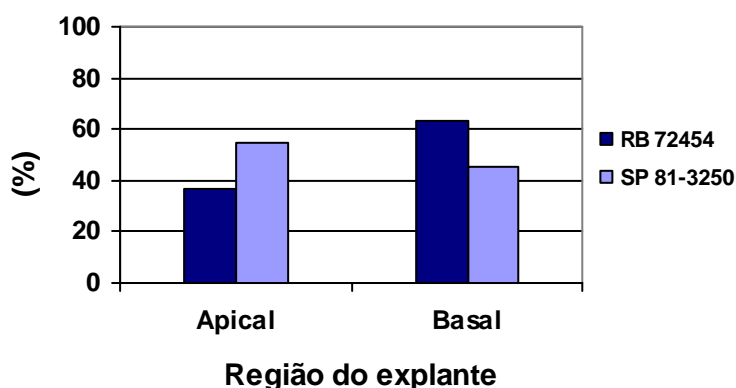


Figura 4: Porcentagem da produção de calos friáveis diferenciando as duas regiões (apical e basal) para as duas variedades, RB 72454 e SP 81-3250.

Em termos de produtividade total de massas de calos pelas variedades, observa-se, que a SP 81-3250 teve 14% a mais que a RB 72454 (Figura 5). Isso, em cultivo *in vitro*, representa vantagem de uma variedade quando comparada a outra, devido a um maior número de células que por sua vez aumenta as possibilidades de

obtenção de variantes somaclonais resistentes a um determinado fator de estresse abiótico.

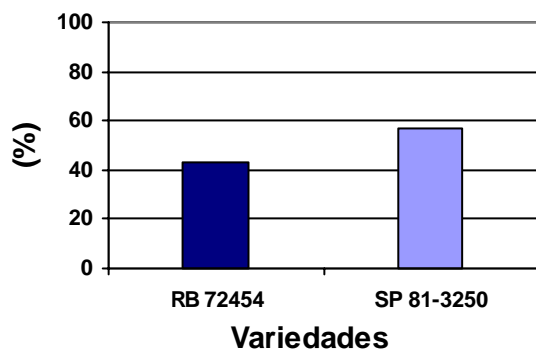


Figura 5: Porcentagem da produção total de massa de calos a partir dos explantes das variedades RB 72454 e SP 81-3250.

## CONCLUSÕES

A variedade SP 81-3250 é mais eficaz no que diz respeito à economia de tempo para obtenção de calos, pois a mesma apresentou, além de maior produção de massas de calos, estes com aspecto friável com maior capacidade de regeneração de plântulas. Faz-se, porém, necessário estudos com relação à capacidade de regeneração de calos de ambas variedades.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2003.

CESNIK, R. & MIOCQUE, J. Melhoramento da cana-de-açúcar. Brasília, DF: **EMBRAPA**, 2004.

DUNCAN, R. R. (1997). Tissue Culture – Induced variation in crop improvement. **In: Advances in Agronomy (Sprks, D. L.)** ed. Academy Press, New York, p.201-239, 1997.

FAO (Roma, Itália). Yearbook Production. **FAO Statistics Series**, Rome, v.51, n.148, 142p, 1998

FALCO, M.C.; MENDES, B.M.J.; TULMANN NETO, A.; GLORIA, B.A. Histological characterization of *in vitro* regeneration of Sugarcane sp. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.9, p.93-97, 1996.

LIU, M. Sugarcane. En: **Handbook of plant cell culture**, 1983.

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

## PALAVRAS-CHAVES

*Saccharum sp.*; cana-de-açúcar; embriogênese somática; regeneração.

1

---

## <sup>1</sup> AGRADECIMENTOS

Usina Estivas, finep, CNPq e DBG - UFRN



## Resposta de calos de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) a diferentes tempos de exposição ao polietilenoglicol.

Medeiros, Lidiane N.<sup>1</sup>; Macedo, C.E.C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Centro de Biociências, [lidianenoberto@yahoo.com.br](mailto:lidianenoberto@yahoo.com.br) ; <sup>2</sup> Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar apresenta-se como um dos principais produtos agrícolas do Brasil, tendo grande importância na economia nacional, sendo utilizada para a produção de açúcar e álcool, dentre outros subprodutos (Cesnik & Miocque, 2004).

A Usina Estivas é uma das cinco maiores usinas do nordeste, localizada no Rio Grande do Norte, apresentando uma área de cultivo de cana caracterizada pelo solo arenoso com pouca capacidade para retenção de água. A usina cultiva variedades que provêm de regiões de solo argiloso e com temperaturas mais amenas, diferente das condições edafo-climáticas locais, dificultando a adaptação das plantas cultivadas. O potencial produtivo torna-se, então, limitado devido à deficiência hídrica que causa danos fisiológicos nas variedades cultivadas (Brito, 2005).

O estresse hídrico limita a disponibilidade de água para as células, resultando na diminuição da oferta de nutrientes minerais e alterando os padrões metabólicos e fisiológicos na planta. Tais alterações interferem no crescimento, desenvolvimento, na floração e na frutificação da planta (Bray, 1997).

Pesquisas que visem o aumento da produtividade das usinas são indispensáveis para o crescimento do setor sucroalcooleiro. Uma alternativa eficiente é o melhoramento de plantas através da cultura *in vitro* de tecidos vegetais. A obtenção e seleção de calos e sua posterior regeneração (formação de plantas), através da técnica de embriogênese somática indireta, pode contribuir na seleção de variedades de interesse agrônomo, obtendo-se plantas *in vitro* mais resistentes a um determinado fator estresse, como o déficit hídrico.

A cultura de calos é utilizado em programas de melhoramento, pois esta técnica pode gerar variabilidade genética (variantes somaclonais) além de proporcionar uma grande população suscetível à seleção *in vitro*. Entretanto para se realizar a seleção *in vitro* é necessário não só estabelecer a dose resposta face ao agente estressor como o tempo de exposição que o material biológico, neste caso calos. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é determinar o tempo resposta a exposição de calos embriogênicos de cana-de-açúcar ao polietilenoglicol (PEG), agente estressor utilizado para simular o estresse hídrico.

### MATERIAL E MÉTODOS

Dentre as diversas variedades cultivadas pela Estivas, destacam-se as variedades RB72454 e a SP813250, caracterizando-se por uma alta produtividade agrícola. No entanto, quando cultivadas na Mesorregião do litoral Potiguar, essas variedades diferem-se quanto a resistência ao déficit hídrico: A RB72454 se apresenta suscetível à baixa disponibilidade de água, enquanto que a SP813250 é mais resistente.

Calos embriogênicos das variedades RB72454 e SP813250 com idade de 45 dias foram selecionados e inoculados em MS básico (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com sacarose e inositol, na ausência (controle – CTRL) e na presença de PEG-6000 (326,261g L<sup>-1</sup>) para induzir estresse hídrico. Os calos permaneceram na presença de PEG durante cinco tempos de exposição: 5, 15, 30, 60 e 90 dias (T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente). Foram inoculados duas massas de calos por frasco com cerca de 5-7 mm de diâmetro, sendo quatro frascos por tempo de exposição e para cada variedade (RB72454 e SP813250). Dentre as oito massas de calos utilizadas para cada tratamento, quatro eram provenientes da região apical mais próxima ao domo meristemático e, quatro da região

basal, mais distante do meristema. Após o término de cada período de exposição ao estresse, os calos em meio com PEG e seu respectivo controle (CTRL), foram transferidos para o meio de regeneração (MS básico, suplementado com 30 gL<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mgL<sup>-1</sup> de inositol e 2 gL<sup>-1</sup> de fitagel), onde permaneciam por 80 dias (quatro subcultivos, com intervalo de 20 dias). Ao final de cada subcultivo foram calculadas a taxa de oxidação e de regeneração (conversão em plantas) dos calos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de oxidação variaram conforme a variedade e o tempo de exposição ao polietilenoglicol (PEG). Observa-se que nos calos de ambas variedades o aumento da oxidação (exceto no tempo de exposição de 60 dias) é diretamente proporcional ao tempo de exposição ao PEG (Gráfico 01 A-B), embora a variedade RB72454 tenha apresentado as maiores taxas (Gráfico 01-A). Provavelmente o PEG possa estar agindo sobre os compostos fenólicos que ocasionam a oxidação ou ainda tal resposta ser variedade dependente ou ambas hipóteses.

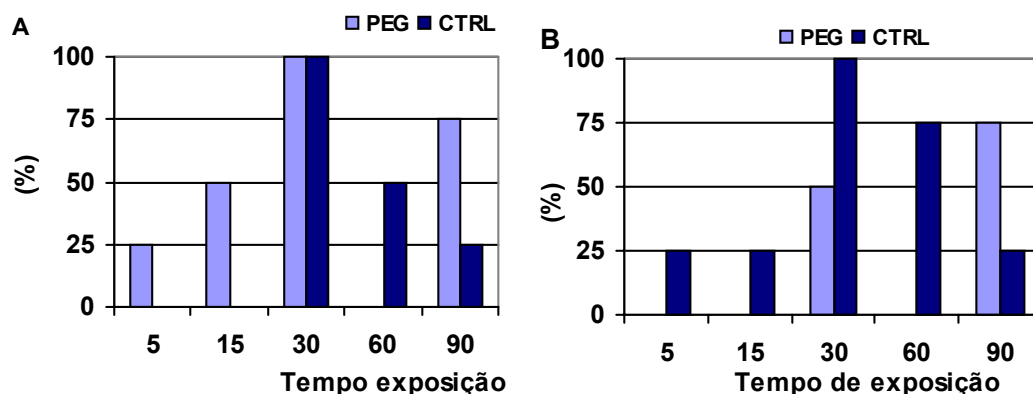


Gráfico 01: Taxa de oxidação para as variedades RB72454 (A) e SP813250 (B), relacionados aos cinco tempos de exposição ao PEG comparado ao seu respectivo controle (CTRL).

Ainda com relação à oxidação, as taxas obtidas variaram segundo a região do explante (basal ou apical) e em função do tempo e da variedade. Em geral e para os calos da variedade RB72454, e independente da exposição ou não ao agente estressor, uma maior oxidação foi observada na região apical enquanto que nos calos da variedade SP tal resposta foi mais acentuada na região basal SP813250 (Gráfico 02 A -D). Possivelmente na variedade RB72454 tal resposta esteja relacionada a sua maior proximidade com o domo meristemático, local onde está ocorrendo maior quantidade de reações metabólicas devido às divisões celulares constantes, ocasionando maior concentração de compostos fenólicos.

E na variedade SP813250 a resposta pode estar associada apenas a exposição e um maior contato da região basal do explante com o meio ambiente, conseqüentemente com o oxigênio atmosférico.

A capacidade de conversão de calos embriogênicos em plantas variou em função do tempo de exposição ao PEG e da variedade. Uma menor capacidade de regeneração foi observada nos calos provenientes da variedade RB72454 e apenas nos 2 primeiros tempos de exposição ao PEG. Diferentemente, para os calos da variedade SP813250 houve uma maior quantidade de plantas regeneradas e principalmente nos primeiros três tempos de exposição ao PEG (Gráfico 03: A - B).

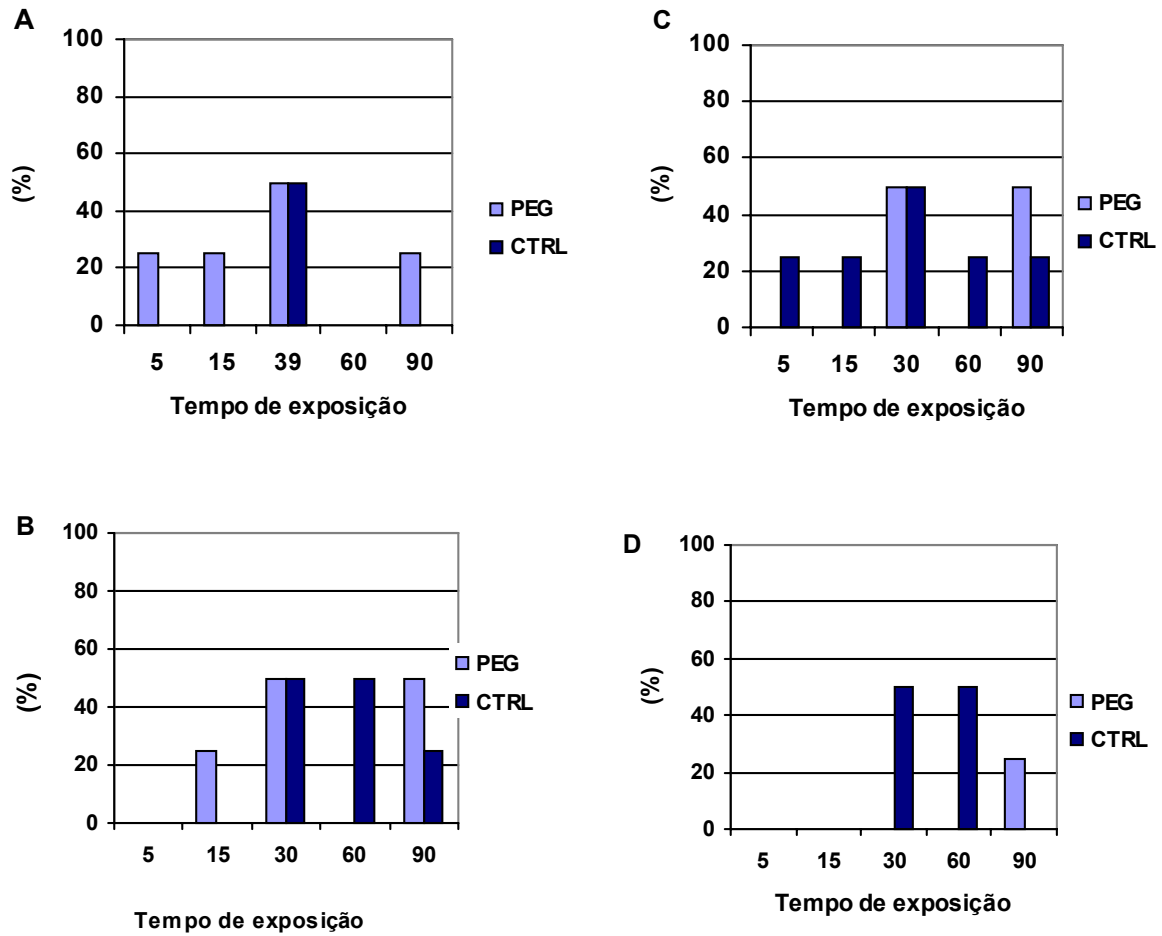


Gráfico 02: Taxa de oxidação para a variedade RB72454 região basal (A) e apical (B), e variedade SP813250 região basal (C) e apical (D), nos cinco tempos de exposição ao PEG e seu respectivo controle (CTRL).

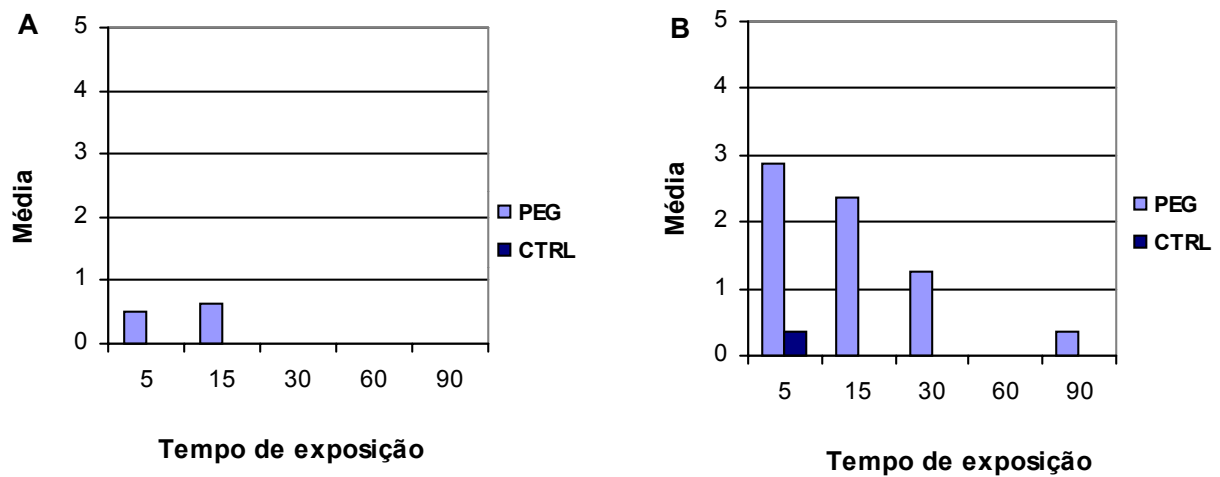


Gráfico 03: Número médio de plantas obtidas por calos das variedades RB72454 (A) e SP813250 (B), inoculados na presença (PEG) e na ausência de (CTRL) em função dos tempos de exposição ao agente estressor.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que, a resposta dos calos de cana-de-açúcar ao polietilenoglicol, agente estressor utilizado para simular um déficit hídrico, é variedade e tempo de exposição dependentes. E que para os parâmetros estudados neste trabalho a variedade SP813250 é mais resistente quando comparada a RB72454.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAY, E. A. Plant response to water deficit. **Acta Horticulture**. n.355: 213-219, 1997.

BRITO, L. K. F. L. Estabelecimento da seleção *in vitro* de genótipos de cana-de-açúcar (*Sarccharum sp.*) Mais resistentes ao estresse hídrico. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. p. 83. 2005.

CESNIK, R. & MIOCQUE, J. Melhoramento da cana-de-açúcar. Brasília, DF: **EMBRAPA**, 2004.

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

## PALAVRAS-CHAVES

*Saccharum sp.*; cultivo *in vitro*; oxidação; estresse hídrico; Polietilenoglicol.

1

---

<sup>1</sup> AGRADECIMENTOS

Usina Estivas, finep, CNPq e DBG - UFRN

# ADEQUAÇÃO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO DO MEIO MT PARA O CULTIVO DE EMBRIÕES IMATUROS DE TANGERINEIRA 'CLEÓPATRA'

Morais-Lino, Lucymeire Souza<sup>1</sup>; Silveira, Daniela Garcia<sup>2</sup>; Souza, Antônio da Silva<sup>3</sup>; Soares Filho, Walter dos Santos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), BR 116, Km 03, CEP 44031-460, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3224-8132, e-mail: [lsmorais@yahoo.com.br](mailto:lsmorais@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Botânica (UEFS), e-mail: [danielags@ig.com.br](mailto:danielags@ig.com.br); <sup>3</sup>Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, C.P. 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8031, e-mail: [assouza@cnpmf.embrapa.br](mailto:assouza@cnpmf.embrapa.br), [wsoares@cnpmf.embrapa.br](mailto:wsoares@cnpmf.embrapa.br).

## INTRODUÇÃO

O *Citrus* e gêneros afins reúnem uma imensa variabilidade genética, passível de ser explorada em hibridações visando o desenvolvimento de novas variedades. Entretanto, o melhoramento genético dos citros pelos métodos convencionais tem sido seriamente limitado, principalmente pela poliembrionia das sementes da maioria das espécies e variedades. Conseqüentemente, cada vez mais aumenta a demanda por métodos que permitam separar os embriões zigóticos dos nucelares (Bastianel et al., 1998). A presença de embriões nucelares tem possibilitado a perpetuação natural de características varietais desejáveis (Hanna & Bashaw, 1987), mas prejudica a germinação dos embriões zigóticos e a distinção precoce das plântulas híbridas dos nucelares (Koller, 1994; Domingues et al., 1998).

O sucesso da cultura de tecidos como meio de propagação de plantas é muito influenciado pela natureza do meio de cultura utilizado (George, 1993), sendo que a concentração de reguladores de crescimento no meio nutritivo é um fator determinante no crescimento e no padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultura de tecidos.

Na cultura de embrião imaturo, reguladores de crescimento são muitas vezes usados para evitar a germinação precoce ou para estimular o crescimento embrionário. Dependendo da espécie, o embrião jovem pode ser estimulado a crescer por citocininas, por auxinas ou por giberelinas. As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas na cultura de tecidos. A formação de raiz, parte aérea e calo em cultura de tecidos é regulada pela disponibilidade e interação dessas duas classes de reguladores de crescimento (Skoog & Miller, 1986).

Este trabalho tem por objetivo adequar concentrações dos reguladores de crescimento ácido naftalenoacético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) no meio de cultura para a germinação normal de embriões imaturos de tangerineira 'Cleópatra'.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, em Cruz das Almas, BA. Os frutos foram coletados em plantas de tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Citros.

Os frutos após serem lavados tiveram suas sementes removidas que, em câmara de fluxo laminar, sofreram assepsia com álcool (70%) por 5 minutos e hipoclorito de sódio (2%) por 20 minutos, sendo em seguida lavadas três vezes em água destilada autoclavada. Com o auxílio de estereomicroscópio, bisturi e pinça, os integumentos das sementes foram excisados longitudinalmente a partir da região oposta à micrópila, tomando-se o cuidado de não provocar danos aos embriões.

Os embriões de cada semente foram agrupados em quatro classes distintas de tamanho, a saber: < 1,0 mm; 1,0 - 1,9 mm; 2,0 - 2,9 mm e > 6,0 mm, utilizada como testemunha.

As medidas ( $\mu\text{m}$ ) foram tomadas com o auxílio de uma lente micrométrica graduada conectada na ocular do estereomicroscópio, considerando as dimensões do embrião

incluindo os cotilédones. As mensurações foram convertidas para milímetros, utilizando-se um fator de correção ( $x = 0,157$ ).

Os embriões foram cultivados em meio MT (Murashige & Tucker, 1969) contendo como compostos básicos somente a sacarose, o ágar, metade da concentração normal de macronutrientes e vitaminas, e concentração normal de micronutrientes do MT. O ajuste dos reguladores de crescimento foram realizado respeitando uma combinação de uma dose de ANA mais uma de BAP, em cada experimento. De acordo com o mencionado, foram observadas as seguintes doses para o ANA (0,0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 mg.L<sup>-1</sup>) e para o BAP (0,00; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 mg.L<sup>-1</sup>), considerando 10 repetições.

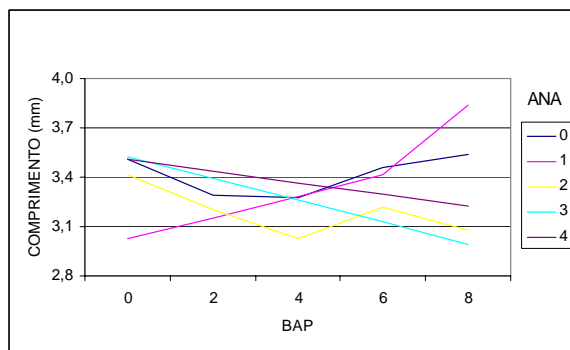
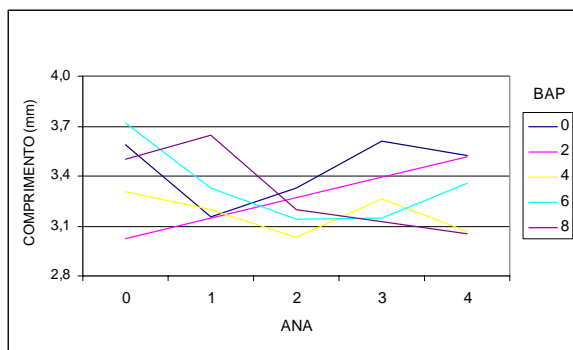
As variáveis porcentagem de germinação e porcentagem de plântulas normais (dados não mostrados), foram submetidas à análise de variância não-paramétrica, utilizando-se o aplicativo SAEG (Sistema para Análises Estatísticas). Para o variável comprimento de plântulas, efetuou-se a análise de variância com o aplicativo SANEST (Sistema de Análise Estatística).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para porcentagem de germinação de embriões, estatisticamente não houve diferenças significativas entre os 25 tratamentos e os quatro tamanhos de embrião estudados. No tocante ao caráter porcentagem de plântulas normais, verificou-se o mesmo resultado para porcentagem de germinação de embriões, onde todos os tratamentos não diferiram entre si estatisticamente (dados não apresentados).

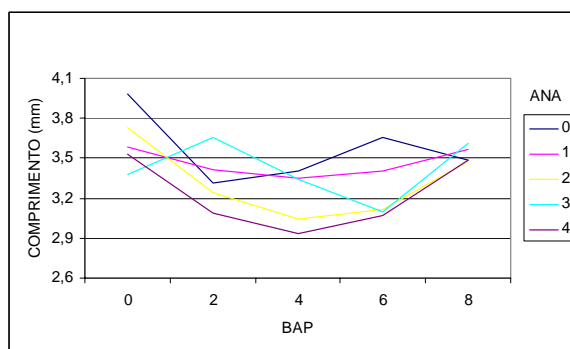
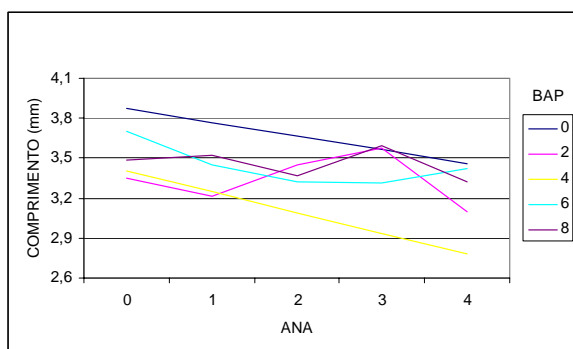
Os resultados do ajuste das doses dos reguladores de crescimento, em relação ao comprimento de plântulas, encontram-se nas Figuras 1 a 4. De um modo geral, verificou-se que, para cada classe de tamanho de embrião, há uma combinação de doses de ANA e BAP mais adequada. Recorreu-se à análise de regressão polinomial para obter resultados mais claros, observando-se que, para embriões menores do que 1 mm, de maior interesse neste trabalho, os níveis de ANA dentro dos fatores de BAP, o fator 8 de BAP foi o que proporcionou maiores comprimentos de plântulas. Quanto aos níveis de BAP dentro dos fatores de ANA o melhor resultado foi o que utilizou o fator 1 de ANA (Figura 1). Para os demais tamanhos observou-se resultados diferentes para as diversas combinações entre os níveis de ANA e BAP (Figuras 2,3 e 4).

Assim, visando a germinação de embriões imaturos, principalmente os de tamanho inferior a 1,0 mm devido à sua importância neste estudo, tem-se como mais recomendável o emprego da combinação de 0,01 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0,08 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Cabe acrescentar que as respostas relativas à germinação dos embriões e ao crescimento e desenvolvimento das plântulas dependem do equilíbrio entre auxinas e citocininas para que ocorra a diferenciação e organogênese celular em cultura de tecidos e órgãos *in vitro* (George & Sherrington, 1984). Isto pode ser verificado nas Figuras 1 a 4, onde observa-se que as variações entre as dosagens dos reguladores de crescimento podem determinar efeitos negativos ou não, a depender da dosagem de ANA e/ou de BAP utilizada.



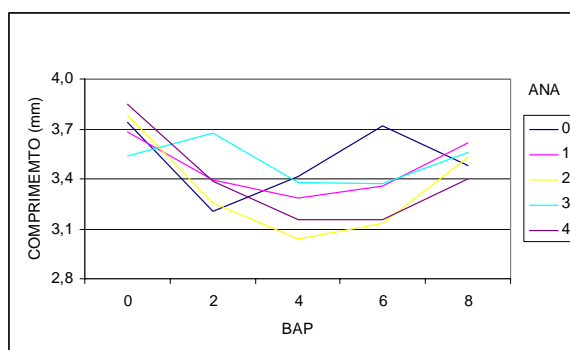
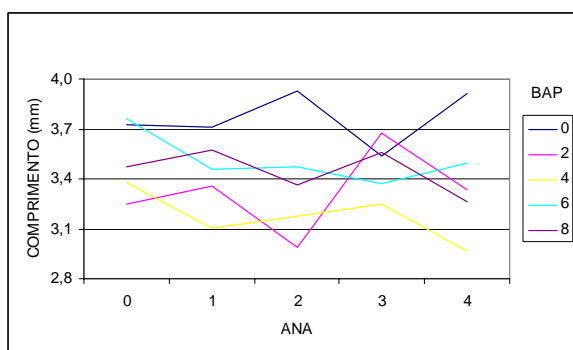
BAP: 0, 2, 4, 6 e 8 = 0; 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 mg. L<sup>-1</sup>, respectivamente; ANA: 0, 1, 2, 3 e 4 = 0; 0,01; 0,02; 0,03 e 0,04 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Figura 1. Comprimento de plântulas de tangerineira 'Cleópatra' (*C. reshni* Hort. ex Tan.), cultivadas em meio de Murashige & Tucker (1969), com diferentes concentrações de ANA e BAP, em função do tamanho do embrião (< 0,9 mm).



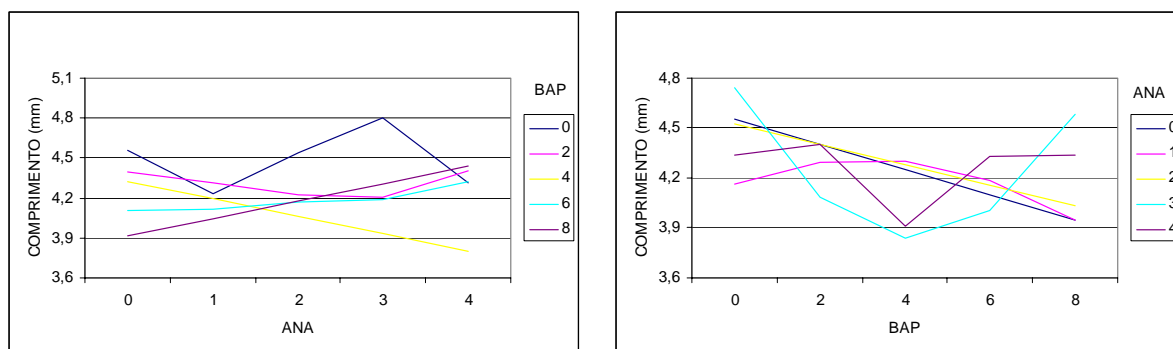
BAP: 0, 2, 4, 6 e 8 = 0; 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 mg. L<sup>-1</sup>, respectivamente; ANA: 0, 1, 2, 3 e 4 = 0; 0,01; 0,02; 0,03 e 0,04 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Figura 2. Comprimento de plântulas de tangerineira 'Cleópatra' (*C. reshni* Hort. ex Tan.), cultivadas em meio de Murashige & Tucker (1969), com diferentes concentrações de ANA e BAP, em função do tamanho do embrião (1,0 a 2,9 mm).



BAP: 0, 2, 4, 6 e 8 = 0; 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 mg. L<sup>-1</sup>, respectivamente; ANA: 0, 1, 2, 3 e 4 = 0; 0,01; 0,02; 0,03 e 0,04 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Figura 3. Comprimento de plântulas de tangerineira 'Cleópatra' (*C. reshni* Hort. ex Tan.), cultivadas em meio de Murashige & Tucker (1969), com diferentes concentrações de ANA e BAP, em função do tamanho do embrião (2,0 a 2,9 mm).



BAP: 0, 2, 4, 6 e 8 = 0; 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 mg. L<sup>-1</sup>, respectivamente; ANA: 0, 1, 2, 3 e 4 = 0; 0,01; 0,02; 0,03 e 0,04 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Figura 4. Comprimento de plântulas de tangerineira 'Cleópatra' (*C. resnyi* Hort. ex Tan.), cultivadas em meio de Murashige & Tucker (1969), com diferentes concentrações de ANA e BAP, em função do tamanho do embrião (> 6,0 mm).

## CONCLUSÕES

Visando a germinação normal de embriões imaturos (< 3,0 mm) e o desenvolvimento de plântulas normais de tangerineira 'Cleópatra', deve-se utilizar as doses de 0,01 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0,08 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. O resgate de embriões sexuais imaturos reduz o risco de aborto e competição com os nucelares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASTIANEL, M.; SCHWARZ, S. F.; COLETA FILHO, H. D.; LIN, L. L.; MACHADO, M.; KOLLER, O. C. Identification of zygotic and nucellar tangerine seedlings (*Citrus* spp.) using RAPD. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 1, 1998.

DOMINGUES, E. T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A.; SUGAHARA, V. Y. Poliembrião em clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas. **Bragantia**, Campinas, v. 57, n. 2, p. 251-258, 1998.

GEORGE, E. F. The components of culture media. In: GEORGE, E. F. (Ed.). **Plant propagation by tissue culture**. Part 1. The technology. Eversley: Exegetics, 1993, p. 273-343.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. Plant growth regulators. In: GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. (Ed.). **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories**. Eversley: Exegetics, 1984, p. 284-330.

HANNA, W. W.; BASHAW, E. C. Apomixis: its identification and use in plant breeding. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 1136-1139, 1987.

KOLLER, O. C. Melhoramento: In: **Citricultura: laranja, limão e tangerina**. Porto Alegre: Rígel, 1994. 446 p.

MURASHIGE, T.; TUCKER, D. P. H. Growth factor requirements of *Citrus* tissue culture. In: CHAPMAN, H. D. (Ed.). **Proceedings of the first international citrus symposium**. Riverside: University of California, 1969. v. 3, p. 1155-1161.

SKOOG, F.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. **Symposium of Society for Experimental Biology**, v. 25, p. 127-133, 1986.

## PALAVRAS-CHAVES

*Citrus resnyi* Hort. ex Tan., resgate de embriões, meio de cultura.



## Híbridos de abacaxi com potencial ornamental.

Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>1</sup>; José Renato Santos Cabral<sup>1</sup>, Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>1</sup>; Olivia Maria Nepomuceno<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa postal 007, Cruz das Almas- Bahia, Cep: 44380-000, (75) 3621 8094, fernanda@cnpmf.embrapa.br, jrenato@cnpmf.embrapa.br, janay@cnpmf.embrapa.br; <sup>2</sup> Estudante em Engenharia Agrônômica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - Bahia, Cep: 44380-000.

## INTRODUÇÃO

A grande variabilidade genética existente no banco Ativo de germoplasma de Abacaxi da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical permitiu a identificação e seleção de genótipos com valor ornamental, trabalho que vem sendo realizado desde 2002 (Cabral & Souza, 2006; Souza et al, 2005; Souza et al, 2006). Genótipos silvestres das variedades botânicas *Ananas comosus* var. *comosus*; *Ananas comosus* var. *ananassoides*; *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius* já foram identificados de acordo com características ornamentais ligadas ao uso, que pode ser para flor de corte, plantas de vaso ou paisagismo de parques e jardins. Como parte desse trabalho estabeleceu-se um programa de melhoramento genético de abacaxi voltado para a obtenção de híbridos que pudessem corresponder à atual demanda por novidades no mercado de abacaxi ornamental, atualmente em franca expansão (Cabral e Souza, 2006). O *Ananas comosus* var. *bracteatus* tem despertado interesse nos produtores de abacaxi ornamental, principalmente pela beleza e intensa coloração de suas inflorescências e de seus frutos. No entanto, todos os genótipos dessa variedade botânica possuem espinhos, o que constitui uma limitação para a comercialização desse produto, ainda que no Ceará haja uma discreta exportação para países Europeus. Dentre os genótipos mais conhecidos dessa variedade está o 'abacaxi tricolor' usado principalmente para parques e jardins. Suas folhas são variegadas e o fruto tem uma coloração rosa intensa, formando um conjunto de beleza exuberante. Os cruzamentos foram realizados visando principalmente a obtenção de plantas sem espinhos, hastes longas e sem deformação, assim como inflorescências e frutos de beleza intensa e diferentes do atual *Ananas comosus* var. *erectifolius*, que domina atualmente 75% do mercado. As progênies oriundas desses cruzamentos se encontram atualmente em condições de campo e estão sendo caracterizadas com base nos descritores desenvolvidos especificamente para abacaxi ornamental (Barros et al, 2005). Estão sendo selecionados híbridos sem espinhos para uso como plantas de vaso e paisagismo, com coloração que varia do verde pálido ao verde intenso e roxo claro ao roxo intenso, folhas eretas ou decumbentes e frutos de tamanhos e formas variadas. As maiores limitações encontradas se referem à seleção de materiais para flor de corte, devido às exigências do mercado, que demandam hastes longas e sem nenhum tipo de deformação. O objetivo desse trabalho é apresentar parte dos resultados referentes ao cruzamento entre *Ananas São Bento* (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) x Primavera (*Ananas comosus* var. *comosus*, ressaltando a beleza e o grande potencial dos híbridos que já foram selecionados.

## METODOLOGIA

Foram realizados cruzamentos entre 'Tricolor' (*Ananas comosus* var. *bracteatus*), que é variegado, e 'Primavera' (*Ananas comosus* var. *comosus*) e entre *Ananas São Bento* (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) e Primavera (*Ananas comosus* var. *comosus*). Os híbridos obtidos foram avaliados em condições de campo, utilizando-se as práticas culturais recomendadas no

sistema de produção para o abacaxi convencional. As progênies foram avaliadas, utilizando-se 20 descritores mínimos, de acordo com Barros et al., 2005. Esses descritores se referem as seguintes características: porte da planta, coloração das folhas, presença de variegação, presença/ausência de espinhos, comprimento e largura da haste, tamanho e coloração das inflorescências e dos frutos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cruzamento do abacaxi 'Tricolor' (Figura 1A) com o 'Primavera' resultou em 100% de plantas albinas, que morreram após a germinação, inviabilizando o melhoramento genético deste genótipo por hibridação. Por outro lado, o cruzamento de Ananas São Bento (Figura 1B) (*Ananas comosus* var. *bracteatus*), genótipo com potencial ornamental, com 'Primavera' resultou em uma progênie de 34 genótipos que apresentaram plantas com folhas verdes de tonalidades distintas. Não houve segregação para o caráter presença de espinhos nas bordas das folhas, obtendo-se 100 % de plantas com folhas lisas (sem espinhos). Cruzamentos de 'Primavera' com outros parentais têm proporcionado 100% de plantas com folhas lisas. As variações mais significativas ocorreram em relação à coloração e tamanho das inflorescências e dos frutos. Algumas plantas apresentam porte pequeno, o que pode ser interessante para seu uso em vasos. Dentre os genótipos selecionados, um destacou-se por suas características superiores ao genótipo silvestre parental. Esse genótipo possui porte médio, folhas lisas e de coloração verde intensa, cuja inflorescência é muito bonita (Figura 1C). Uma das grandes vantagens dessa variedade botânica é a durabilidade pós-colheita de suas flores (se cortadas nessa fase) ou do fruto. Em contrapartida, o tamanho das hastes, pode significar uma das limitações para o uso como flor de corte, uma vez que, de acordo com as exigências do mercado externo para os abacaxis ornamentais, o ideal está em torno de 45 a 50 cm, sendo que nesse material isto está em torno de aproximadamente 25 a 30 cm. Esse genótipo está sendo multiplicado *in vitro* para que se possa proceder à avaliação clonal, visando-se confirmar a estabilidade de suas características, que fizeram desse genótipo, um novo híbrido de abacaxi com potencial ornamental.

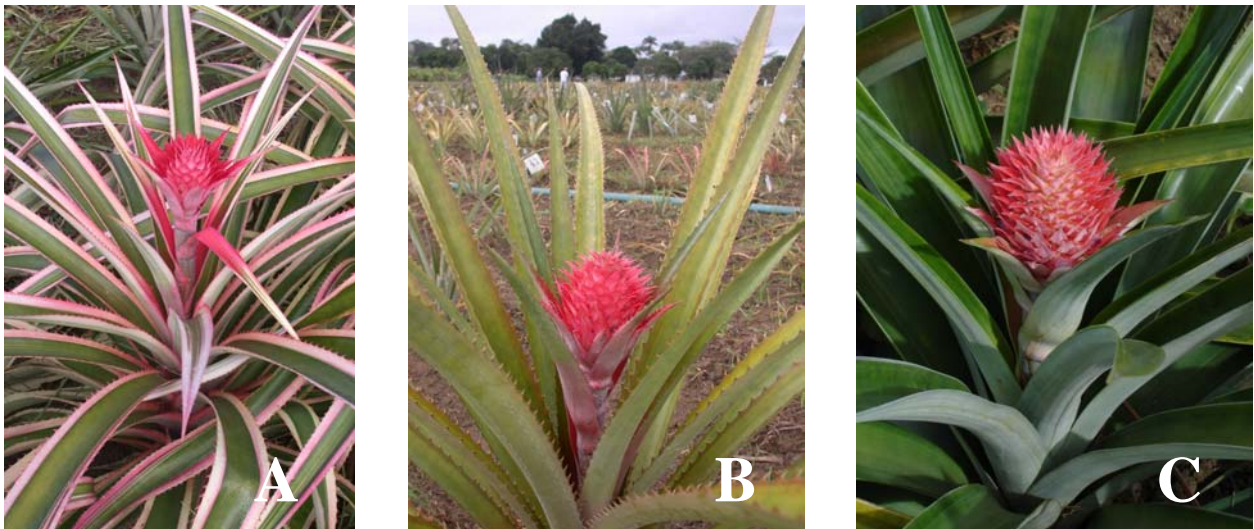


Figura 1. Plantas do abacaxi 'Tricolor' (A); Ananas São Bento (B) e o novo híbrido selecionado (C).

## CONCLUSÃO

O cruzamento do abacaxi 'Tricolor' com o 'Primavera' resultou em 100% de plantas albinas, inviabilizando o melhoramento genético deste genótipo por hibridação.

A progênie resultante do cruzamento de Ananas São Bento (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) e 'Primavera' produziu plantas com características de interesse, que necessitam, no entanto de uma série de avaliações para a confirmação de seu valor ornamental.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, L.M.; FERREIRA, F.R.F.; CABRAL, J.R.; SOUZA, F.V.D.; FÁVERO, A; MENDES, R.A. Descriptors to characterize and evaluate the ornamental species of Ananas in Brazil IN: 45º Congresso Brasileiro de Olericultura/15 Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais/ 2 Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas. **Journal of the Brazilian Association Horticulture Science**. v.23, n.2, p.524, 2005.

CABRAL; J.R.S.; SOUZA, F.V.D. In Breeding for ornamental pineapple **Pineapple News. Newsletter of the pineapple working group, International Society for horticultural Science** N.13.P.14-16, may, 2006.

SOUZA, F.V.D.; SOARES, T.L.; CABRAL, J.R.S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; CASTELLAN, M. S; RITZINGER, R.; PASSOS, O.S. Pesquisas em andamento com fruteiras ornamentais IN: 12ª **International Week of Fruit Crop, Floriculture and Agroindustry**. Frutal 2005. Anais... Fortaleza, 2005. CD room.

SOUZA, F.V.D.; CABRAL, J.R.S.; CARDOSO, J.L.; BENJAMIN, D.A. Identification and selection of ornamental pineapple plants **Acta Horticulturae**. Leuven. 702, february. p.93-99. 2006.

## PALAVRAS CHAVE

*Ananas comosus* var. *bracteatus*; recursos genéticos; melhoramento genético.

## Caracterização de variedades de *Gladiolus* sp. por meio de izoenzimas.

Ferreira, Clarissa Alves<sup>1</sup>; Von Pinho, Édila Vilela de Resende<sup>2</sup>; Salgado, Kalinka Carla Padovani de Carvalho<sup>3</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>4</sup>; Pereira, Gabriela Santos<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia) (UFLA/DAG), Caixa Postal 03037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1842, email: [clarissaaf04@yahoo.com.br](mailto:clarissaaf04@yahoo.com.br), <sup>2</sup> Professora da Universidade Federal de Lavras (UFLA/DAG) Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1319, email: [edila@ufla.br](mailto:edila@ufla.br), <sup>3</sup> Pesquisadora da FAPEMIG (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1842, email: [kaka@ufla.br](mailto:kaka@ufla.br). <sup>4</sup> Professora da Universidade Federal de Lavras (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1786, email: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br), <sup>5</sup> Graduanda em Agronomia (UFLA/DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1842, email: [gabipereira87@yahoo.com.br](mailto:gabipereira87@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A demanda pelos bulbos de gladiólos (*Gladiolus* sp.), pertencente à família Iridaceae, no mercado externo vem contribuindo para o investimento de empresas nacionais nessa espécie. No entanto, há uma grande exigência dos países importadores quanto à pureza genética das cultivares comercializadas dessa espécie, principalmente em relação à cor da flor. Sabe-se que o uso de marcadores morfológicos para a caracterização de cultivares pode demandar grande tempo e espaço além de muitos desses serem influenciados pelo ambiente de produção.

Os marcadores moleculares de proteínas, produtos de expressão gênica, podem ser utilizados como descritores para a caracterização de cultivares (Vieira, 2004). Esses marcadores apresentam na maioria dos casos, polimorfismo, permitindo distinguir, em várias espécies um grande número de cultivares, sendo rápido e de fácil execução. Porém esses marcadores podem variar em função da parte e do estágio de desenvolvimento da planta analisada (Bonow, 2004).

O número de trabalhos visando à certificação da pureza genética em flores é bastante reduzido. Dessa forma, nesse trabalho foram avaliados marcadores moleculares de proteína visando à caracterização de variedades de gladiólos.

### MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi desenvolvida na área experimental e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Para a avaliação de polimorfismo entre as variedades de gladiólos foram utilizadas onze variedades (Withe Friendship, White Goddess, Priscilla, Rose Friendship, San Martin, Gold Field, Yester, T-704, Traderhorn, Red Beauty, Peter Pears) provenientes da Empresa Terra Viva, localizada na cidade de Holambra, SP.

Para a extração de enzimas foram coletadas, para cada variedade, a terceira folha definitiva de dezesseis plantas, escolhidas ao acaso e cinco bulbos de cada variedade. As folhas e os bulbos foram macerados em N<sub>2</sub> líquido até a obtenção de um pó bem fino. Em seguida, foram adicionados a 100 mg do tecido verde 250µL do tampão de extração, o qual se constitui de Tris HCl 0,2M pH 8 e 0,1% de β-mercaptoetanol que foi adicionado no momento do uso. Os tubos contendo as amostras das folhas e dos bulbos de cada variedade e tampão de extração foram deixados a 4°C por uma noite e centrifugados a 14.000xg por 30 minutos, a 4°C. Foram aplicados 60µL do sobrenadante da cada amostra em gel de poliácridamida 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). No tampão de corrida foram utilizados Tris-glicina pH 8,9 e a corrida eletroforética a 4°C, por duas horas, a uma voltagem constante de 150V. Após os géis foram revelados para os sistemas enzimáticos α-amilase, álcool desidrogenase (ADH), esterase (EST), peroxidase (PO), malato desidrogenase (MDH), catalase (CAT) (Alfenas, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os sistemas enzimáticos que foram testados, foi detectada baixa atividade para a enzima peroxidase (PO) nos bulbos sem ocorrência de polimorfismo entre as variedades testadas (Figura 1). Já em folhas, seis padrões eletroforéticos diferentes foram gerados, o que possibilitou a distinção das variedades Priscilla, Gold Field, Traderhorn, Red Beauty. Para as variedades San Martin e Yester não foi detectada atividade para essa enzima. A atividade da peroxidase pode estar relacionada com a intensa atividade celular dessa enzima na eliminação dos peróxidos formados nas folhas.

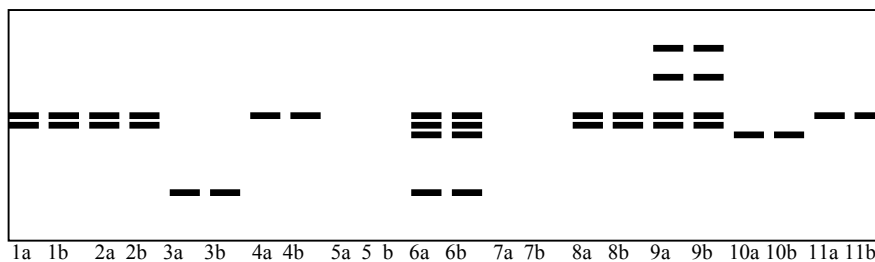
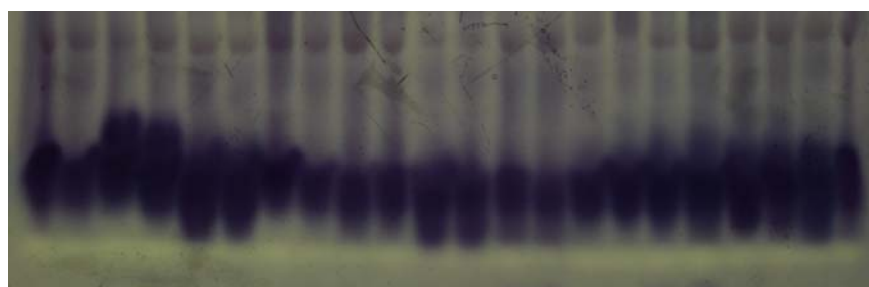


FIGURA 1. Padrões eletroforéticos, da enzima peroxidase extraída de tecidos de folhas de gladiolos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Quanto ao sistema enzimático malato desidrogenase (MDH) nos tecidos dos bulbos (Padrões não apresentados), foram obtidos cinco padrões eletroforéticos diferentes, sendo as variedades separadas em cinco grupos: 1) Priscilla, San Martin, T 704 e Red Beauty; 2) Rose Friendship e Gold Field; 3) Yester e Traderhorn; 4) White Goddess e Peter Pears e 5) White Friendship. Nos tecidos das folhas (Figura 2) também foram obtidos cinco padrões, mas o agrupamento dos padrões das variedades foram diferentes em relação aos bulbos, sendo separadas nos seguintes grupos: 1) Gold Field; 2) San Martin e Yester; 3) Priscilla, Traderhorn, Red Beauty e Peter Pears; 4) White Friendship, Rose Friendship e T 704 e 5) White Goddess. A enzima malato desidrogenase catalisa a conversão de malato a oxalacetato, tendo uma importante função dentro do ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO<sub>2</sub> nas plantas.



1a 1b 2a 2b 3a 3b 4a 4b 5a 5b 6a 6b 7a 7b 8a 8b 9a 9b 10a 10b 11a 11b

FIGURA 2. Padrões eletroforéticos da izoenzima malato desidrogenase, extraídos de folhas de gladiolos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Para a álcool desidrogenase (ADH), nos tecidos dos bulbos, (Padrões não apresentados) todos os padrões obtidos foram monomórficos, exceto para a variedade Traderhorn. Nos tecidos das folhas, (Figura 3), foram observados quatro padrões eletroforéticos diferentes para as variedades San Martin, Traderhorn, Red Beauty em relação às demais variedades.

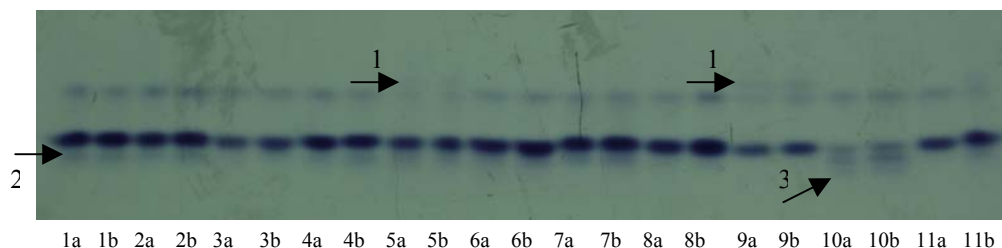


FIGURA 3. Padrões eletroforéticos da isoenzima álcool desidrogenase, extraídos de tecidos de folhas de gladiólos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tanto nos tecidos de bulbos quanto nos tecidos de folhas houve atividade da  $\alpha$ -amilase. Em bulbos (Figura 4), foi observado polimorfismo entre todas as variedades. Já em folhas, foram observados somente dois padrões eletroforéticos (Padrões não apresentados).

As enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases estão envolvidas no principal sistema de degradação de amido dos materiais de reserva (Ferreira, 2006).

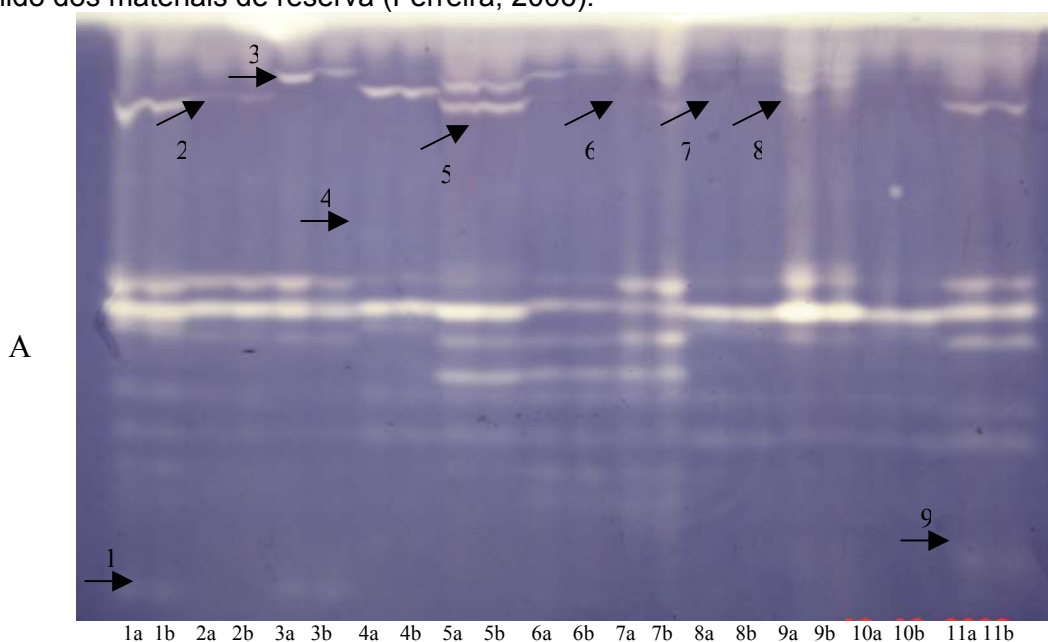


FIGURA 4. Padrões eletroforéticos da isoenzima  $\alpha$ -amilase, extraídos de bulbos de gladiólos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Para a catalase foram observados sete padrões nos bulbos, (Padrões não apresentados), sendo possível a distinção das variedades White Friendship, Yester, Traderhorn, Peter Pears. Em folhas não foi observado polimorfismo entre as variedades analisadas por essa enzima. Essas enzimas são importantes catalisadores que atuam como reguladoras dos níveis de  $H_2O_2$  e sua atividade consiste na conversão de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ .

Os padrões observados para a isoenzima esterase (Figura 5), em folhas, foram polimórficos, permitindo a separação de todas as variedades. Para os padrões observados dos tecidos dos bulbos foi possível distinguir cinco padrões diferentes (Dados não apresentados). A esterase é uma enzima que participa da hidrólise de ésteres de membrana.

Em várias espécies como feijão (Vieira, 2000), arroz (Bonow, 2004) e trigo (Cardoso e Nedel, 2002) foi possível a distinção de cultivares por meio da enzima esterase. Vale ressaltar que certas enzimas podem ser controladas por diferentes locos nos diferentes



estádios de desenvolvimento e tecidos, o que deve ser considerado ao se utilizar enzimas como marcadores (Alfenas, 1998).

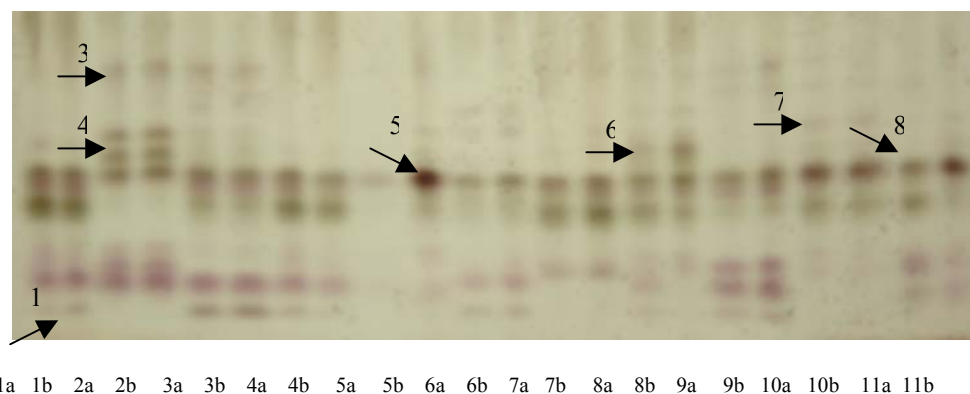


FIGURA 5. Padrões eletroforéticos da isoenzima esterase, extraídos de tecidos e de folhas de gladiolos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

### CONCLUSÃO

Dentre os sistemas enzimáticos testados, por meio da  $\alpha$ -amilase extraída dos bulbos e da esterase extraída das folhas foi possível separar as onze variedades de gladiolos avaliadas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações** em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

BONOW, S. **Caracterização morfológica, isoenzimática e molecular de cultivares de arroz**. 2004. 125p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CARDOSO, E. T.; NEDEL, J. L. Padrões eletroforéticos de cultivares de trigo indicadas para região sul do Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 203-209, mar./abr. 2002.

FERREIRA, L. A. **Bioestimulante e fertilizantes associados ao tratamento de sementes de milho e soja**. 2006. 56p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIEIRA, E. S.N. **Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares na caracterização de cultivares de soja e café**. 2004. 137 p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIEIRA, E. S. N. **Similaridade genética entre cultivares de feijão do grupo carioca por meio de marcadores morfológicos e moleculares visando à certificação da pureza genética**. 2000. 84p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

### PALAVRAS-CHAVES

Gladiolo; marcador molecular de proteínas; enzimas.

## **Análise de expressão transiente de gene mediada de *Agrobacterium* em frutos de banana.**

Matsumoto, kazumitsu<sup>1</sup>; Coelho, Marly Catarina Felipe<sup>2</sup>; Cabral, Glaucia Barbosa<sup>3</sup>; Aragão, Francisco José Lima<sup>4</sup>; Teixeira, João Batista<sup>5</sup>; Monte, Damares de Castro<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – PqEB – Final - Av.W5 Norte – 70770-900 Brasília-DF, fone (61) 3448-4700, email: [kazumoto@cenargen.embrapa.br](mailto:kazumoto@cenargen.embrapa.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [marlyc@cenargen.embrapa.br](mailto:marlyc@cenargen.embrapa.br); <sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [gbcabral@cenargen.embrapa.br](mailto:gbcabral@cenargen.embrapa.br); <sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [aragao@cenargen.embrapa.br](mailto:aragao@cenargen.embrapa.br); <sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [batista@cenargen.embrapa.br](mailto:batista@cenargen.embrapa.br); <sup>6</sup>Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [damares@cenargen.embrapa.br](mailto:damares@cenargen.embrapa.br).

Transformação genética estável de plantas é geralmente um processo prolongado, envolvendo em muitos casos mais de um ano de regeneração, propagação e seleção de transgênicos. Análises de expressão transiente são úteis para economizar tempo em estudos de função de genes, particularmente em genes que expressam em fruto. Sistema de expressão transiente de um gene repórter em frutos de banana foi então desenvolvido. Em frutos maduros, *Agrobacterium tumefaciens*, cujo plasmídeo contém o gene de *gus*-intron sob o controle do promotor de CaMV 35S, foi infiltrada nos frutos por meio de uma seringa. Em frutos imaturos, as *Agrobacteria* foram infiltradas por vácuo nos frutos fatiados e foram co-cultivados. Ensaio histoquímico de GUS foi realizado a 3 dias depois da infiltração ou co-cultivo. A manipulação dos frutos maduros na análise histoquímica era difícil e baixa expressão de GUS foi obtida. Por outro lado, os frutos imaturos fatiados eram fáceis de manipular e alto nível de expressão foi observado. O sistema de expressão transiente desenvolvido neste estudo pode ser útil para análises rotineiras de validação de função de genes em frutos.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Agrobacterium tumefaciens*; *Musa sp.*; GUS; gene repórter.



## Viabilidade e germinação in vitro de grãos de pólen de bananeiras *Musa balbisiana* Cola (BB).

Taliane Leila Soares<sup>1</sup>; Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>3</sup>; Antônio da Silva Souza<sup>2</sup>; Sebastião Oliveira e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072; <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, ssouza@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br. <sup>3</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com

### INTRODUÇÃO

A maioria das bananeiras que produz frutos comestíveis é resultante da hibridização intra/inter específica das espécies de diplóides selvagens *Musa acuminata* Colla (genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (genoma B). Entretanto, as variedades cultivadas podem apresentar diferentes combinações genômicas: AA, AB, AAA, AAB, ABB, AAAA, AAAB, AABB e ABBB a depender do número básico de cromossomos. Não existem cultivares do grupo BB, BBB ou BBBB, provavelmente devido a ausência de partenocarpia o que não acontece normalmente com os diplóides AA (Ploetz et al., 2007).

O genoma B está presente na maioria das bananeiras produzidas mundialmente (Ssebuliba et al., 2006) e apresenta genes que conferem resistência a doenças e tolerância à seca, bem como maior valor nutritivo. O genoma A, por sua vez, é considerado como fonte de genes de interesse para o programa de melhoramento genético de plantas, já que confere características organolépticas e de produtividade (Oselebe et al., 2005).

Até o momento, existem poucas pesquisas na literatura relatando a viabilidade e germinação in vitro de grãos de pólen de bananeira, especialmente trabalhos envolvendo a *Musa balbisiana*.

A germinação de grãos de pólen in vitro permite verificar a sua fertilidade (viabilidade), sendo de grande importância em programas de melhoramento. Entretanto, este método é influenciado por diferentes fatores, incluindo os constituintes do meio de cultura, o pH, a temperatura e o tempo de incubação (Franzon et al., 2006). O meio básico é constituído de muitas substâncias orgânicas e inorgânicas como sacarose, ácido bórico, nitrato de cálcio, nitrato de potássio e sulfato de magnésio podendo variar ainda a combinação com outros nutrientes (Parton et al., 2002, Moutinho et al., 2001, Galletta, 1983). A viabilidade do pólen também é influenciada pelo estágio de desenvolvimento da flor e pelas condições de armazenamento.

Na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical vêm sendo conduzidos vários experimentos sobre a germinação in vitro de grãos de pólen de diferentes ploidias visando a identificação de gametas masculinos com alta viabilidade para utilização em programas de hibridação (Soares et al., 2006).

O objetivo desse trabalho foi determinar o efeito de diferentes pHs sobre a germinação de grãos de pólen in vitro e o crescimento do tubo polínico, bem como verificar a viabilidade do pólen em bananeiras diplóides do grupo genômico BB.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de pólen de *Musa balbisiana* (BB) do Banco de germoplasma da Embrapa, listados na Tabela 1, oriundos de flores coletadas na antese. Os grãos de pólen, sem qualquer processo de desinfestação, foram inoculados em 40 mL de meio de cultura contendo 15% de sacarose, 0,01% de ácido bórico, 0,01% de nitrato de potássio, 0,03% de nitrato de cálcio e 0,02% de sulfato de magnésio, solidificado com 0,8% de ágar,

previamente distribuído em placas de Petri, subdivididas em quadrantes, cada uma representando uma repetição, totalizando 8 repetições para cada pH estudado (5,8, 7,0 e 8,0). As placas foram mantidas em condições controladas de temperatura de 27±1°C, no escuro até a realização da contagem dos grãos de pólen germinados e a medição do comprimento do tubo polínico, 24 horas após a inoculação em meio de cultura, respectivamente. Considerou-se grãos de pólen germinados quando o comprimento do tubo polínico foi igual ou maior ao diâmetro do próprio grão de pólen.

Para análise da viabilidade os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores recém-abertas, corados com carmim acético a 2%, e observadas ao microscópio ótico. Estimou-se o percentual de fertilidade do pólen que representou a taxa entre o número de grãos de pólen corados (viáveis) e não corados e com citoplasma retraído (não viáveis). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três pHs (5,8, 7,0 e 8,0) e 8 repetições para cada variedade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da interação dos diplóides (BB) com os diferentes níveis de pHs na porcentagem de grãos de pólen germinados e comprimento do tubo polínico pode ser observado na Tabela 1.

De forma geral, o meio de cultura ajustado para pH 7,0, proporcionou em média melhor germinação do pólen (83%), assim como maior comprimento do tubo polínico (3,86mm), em relação aos pHs 5,8 (66,87% e 1,97mm) e 8,0 (54,6% e 2,63mm). Soares et al. (2006), observaram o efeito do pH na faixa de 5,8 e 7,0 na germinação in vitro de pólen de diplóides melhorados (AA), assim como o alongamento do tubo polínico, e constataram que houve diferenças entre os genótipos e entre os pHs testados, sendo que o meio de cultura ajustado para o pH 7,0, proporcionou em média melhor germinação do pólen (atingindo 90% no diplóide 9187-01), assim como maior comprimento do tubo polínico (4,25mm no diplóide 4154-08).

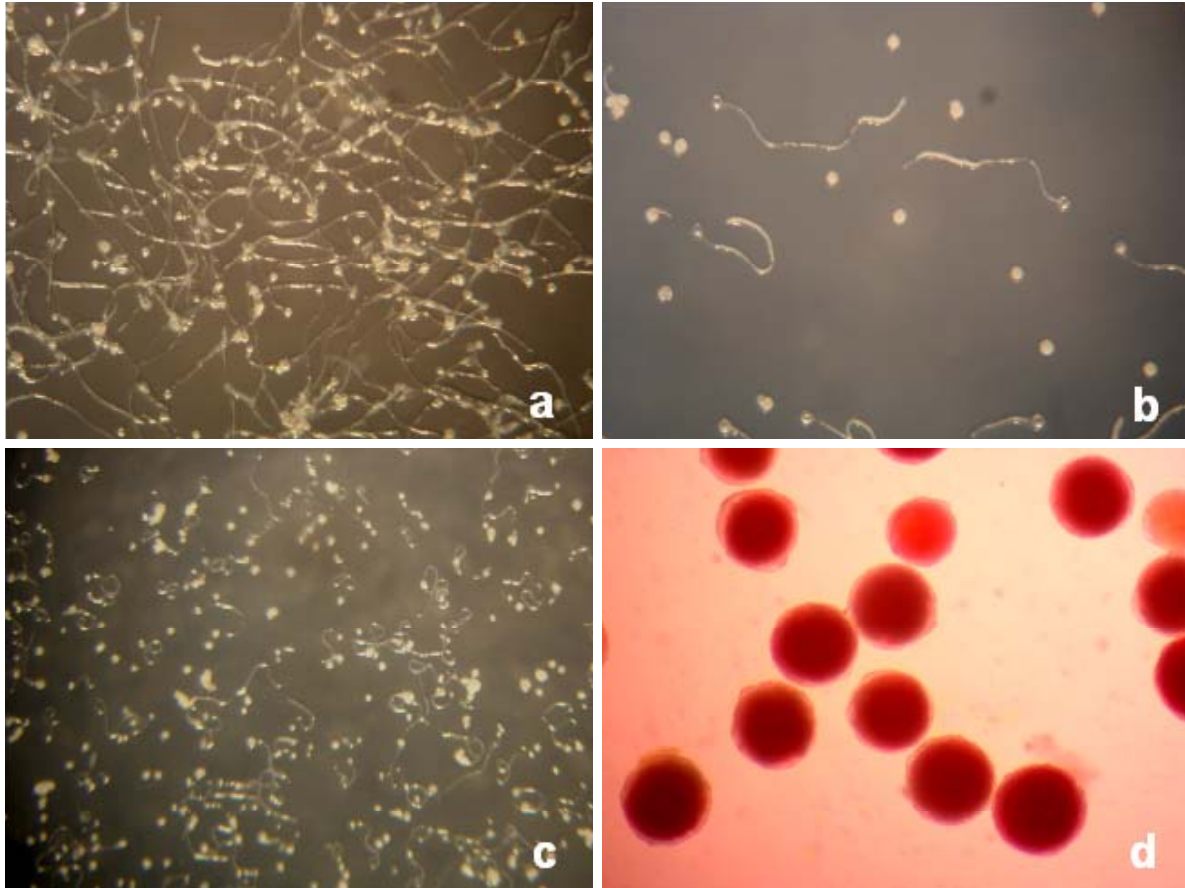
As mais altas porcentagens de germinação foram obtidas pelos diplóides BB-Panamá, BB-França e Butuham com valores médios de grãos de pólen germinados de 93,81% e 90,83% e 89,93%, respectivamente, quando cultivados em pH 7,0 (Figura 1a). Entretanto, para variável comprimento do tubo polínico, o diplóide Butuham foi o que se destacou (5,05mm) seguido de BB-Panamá (4,41mm) no pH 7,0. Por outro lado, o diplóide BB-IAC apresentou a mais baixa porcentagem de germinação, com 21,92%. O menor crescimento do tubo polínico foi verificado em Butuham com 1,65mm no pH 5,8.

Tabela 1. Germinação, comprimento do tubo polínico e viabilidade dos grãos de pólen em diferentes genótipos de *Musa balbisiana* (BB).

Genótipos	Germinação de pólen (%)			Comprimento do tubo polínico (mm)			Viabilidade (%)
	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,0	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,0	
<i>Musa balbisiana</i>	66,44	69,38	53,40	2,29	3,02	2,83	95,66
BB-França	82,47	90,83	79,29	2,30	3,38	2,52	95,00
BB-IAC	29,78	71,54	21,92	3,09	3,43	2,04	99,33
BB-Panamá	82,35	93,81	86,50	2,49	4,41	3,51	99,66
Butuham	61,87	89,93	32,69	1,65	5,05	2,26	96,33

Embora as avaliações tenham sido realizadas 24 horas após a inoculação no meio, os grãos de pólen de alguns genótipos começaram a germinar duas horas após a inoculação no meio de cultura.

Através da avaliação dos grãos de pólen de bananeiras (BB), corados com carmim acético para diferenciar grãos de pólen viáveis e inviáveis, verificou-se que todos os genótipos apresentaram uma viabilidade acima de 95%. Entretanto, BB-IAC e BB-Panamá foram os que apresentaram maior percentagem de pólen viáveis acima de 99% (Tabela 1, Figura 2a)



**Figura 1.** Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen de Musas do genoma (BB). a) BB-Panamá, alta percentagem de germinação e tubo polínico longo em pH 7,0; b) BB-IAC, baixa percentagem de germinação em pH 5,8. c) Butuham, alta percentagem de germinação e tubo polínico curto em pH 5,8; d) BB-IAC, coloração com carmim acético dos grãos de pólen viáveis.

Nota-se, portanto, que é necessário um ajuste adequado do meio de cultivo, já que a viabilidade dos diferentes genótipos foi superior à percentagem de germinação in vitro. Esses resultados da viabilidade provavelmente refletem as respostas diferenciadas dos genótipos, já que as condições de cultivo realizada neste trabalho foi a mesma para todos materiais, a exemplo da temperatura, umidade e coleta das inflorescências masculinas no mesmo estágio fisiológico.

## CONCLUSÃO

As melhores respostas na percentagem de germinação e comprimento do tubo polínico de grão de pólen foram obtidas no meio ajustado em pH 7,0, para todos os genótipos estudados.

A viabilidade do pólen, estimada com o uso de carmim acético foi superior a 95% na maioria dos genótipos testados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRAZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (MYRTACEAR). Jaboticabal: **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.28, n.1 p. 18-20. 2006.

GALLETTA, G. J. Pollen and seed management. In: MOORE, J. N.; JANINICK, J. (eds.). **Methods in fruit breeding**. Purdue University Press, p.23-47, 1983.

MOUTINHO, A.; CAMACHO, L.; HALEY, A.; PAIS, M. S.; TREWAVAS, A.; MALHÓ, R. Antisense perturbation of protein function in living pollen tubes. **Sex Plant Reprod**. v. 14, p.. 101-104, 2001.

OSELEBE, H. O.; TENKOUANO, A.; PILLAY, M.; OBI, I. U.; UGURU, M.I. Ploidy and genome segregation in *Musa* breeding populations assessed by flow cytometry random amplified polymorphic DNA markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. v. 30, não paginado, 2005.

PARTON, E. VERVAEKE, I.; DELEN, R.; VANDENBUSSCHE, B.; DEROOSE, R.; DE PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**. v. 125, p. 155-161, 2002.

PLOETZ, R. C.; KEPLER, A. K.; DANIELLS, J.; NELSON, S. C. Banana and plantain - an overview with emphasis on Pacific island cultivars. **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**. v.1. p.1-27, 2007.

SOARES, T. L.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, A. S.; MORAIS, L. S.; JESUS, O. J.; SOUZA, E. H.; SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A. Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen em bananeiras diploides. **XVII Reunião internacional da Associação para Cooperação nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical**. Joenvile: v.1, 2006. 328p.

SSEBULIBA, R.; TALENGERA, D.; MAKUMBI, D.; NAMANYA, P.; TENKOUANO, A.; TUSHEMEREIRWE, W.; PILLAY, M. Reproductive efficiency and breeding potential of East african highland (*Musa* AAA-EA) bananas. **Field Crops Research**. v. 95, p. 250-255, 2006.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa balbisiana*, tubo polínico, pH, grupo genômico BB.

## Estudo da fertilização in vivo em bananeiras diplóides e triplóides.

Taliane Leila Soares<sup>1</sup>; Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>3</sup>; Antônio da Silva Souza<sup>2</sup>; Sebastião Oliveira e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072; <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, ssouza@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br. <sup>3</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com.

## INTRODUÇÃO

As cultivares de bananeira que apresentam em sua constituição combinação dos genomas A e B (AAB, ABB) são as mais produzidas mundialmente, embora o comércio internacional esteja centrado nas cultivares do subgrupo Cavendish (AAA), por causa da palatabilidade e qualidade dos frutos, bem como do alto rendimento (Fortescue e Turner, 2005a). Entretanto, a maioria das cultivares apresenta esterilidade feminina, além de serem suscetíveis a certas doenças foliares e pragas que causam sérias perdas de rendimento (Ssebuliba et al., 2006).

Para a obtenção de novas variedades é muito importante a exploração da variabilidade genética encontrada entre as diversas formas selvagens da espécie *Musa acuminata* e nas cultivares do grupo AA, que são usadas como genitores masculinos e fonte de resistência a doenças como o mal-do-Panamá e as Sigatokas amarela e negra, mantendo outras características desejáveis (Silva et al., 1999).

Embora sejam relatados na literatura vários fatores que podem ser responsáveis pela ausência ou baixa produção de sementes em cultivares de bananeira, existem poucas informações que elucidam quais as barreiras físicas e/ou bioquímicas que limitam ou impedem a produção de sementes. Segundo Fortescue e Turner (2005b), falhas no saco embrionário causadas por desbalanço nos cromossomos contribuem para uma maior esterilidade em bananeiras comestíveis, tanto diplóides como triplóides.

O objetivo do estudo foi investigar o processo de fertilização in vivo da bananeira mediante a comparação do desenvolvimento dos óvulos em diplóides melhorados com óvulos de cultivares triplóides do subgrupo Cavendish e do grupo Prata (Pacovan).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas cinco plantas de cada diplóide e triplóide listados na Tabela 1, selecionando-se uma planta de cada nível de ploidia como controle, para avaliar o desenvolvimento dos óvulos na ausência de polinização.

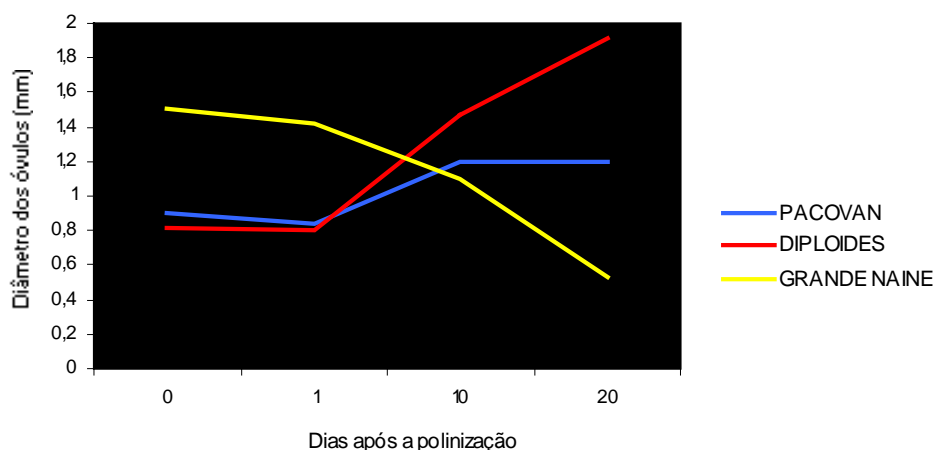
As inflorescências femininas foram protegidas, com sacos de polietileno um dia antes da antese (abertura floral), para evitar possíveis contaminações por pólen trazido por insetos. A polinização iniciou-se no dia seguinte à proteção das inflorescências femininas, quando estas se apresentaram receptivas, ou seja, com os lóbulos livres do estigma, encontrando-se, portanto, aptas para a polinização e fecundação. Foram polinizadas uma a duas pencas por dia até a emissão da última penca.

O pólen utilizado foi oriundo das anteras do diplóide (AA) M-53 e 9187-01 que foi selecionado em função de apresentar alta percentagem de germinação (Soares et al., 2007). As flores masculinas foram coletadas na antese e utilizadas para a realização de polinização manual, sendo o pólen distribuído na superfície do estigma. O pólen utilizado foi coletado na antese para garantir o desenvolvimento normal do tubo polínico e um crescimento uniforme, uma vez que os grãos de pólen coletados um ou dois dias após a antese tendem a reduzir a viabilidade (Tangmitcharoen e Owens, 1997).

Após a polinização, os cachos foram devidamente identificados e protegidos com saco de polietileno até a última emissão da penca, para evitar a entrada de formigas e outros insetos que pudessem trazer pólen de outras plantas ou até mesmo retirar o pólen recém distribuído. Amostras de flores foram coletadas diariamente desde 1 até 20 dias após a polinização, sendo avaliado o tamanho (diâmetro) do óvulo com auxílio de um estereomicroscópio, utilizando-se ocular e lâmina micrométrica, sendo os dados, posteriormente, transformados em milímetros. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 (genótipos) x 20 (dias) sendo composto por três repetições, mensurando-se 30 óvulos/repetição.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tamanho dos óvulos fertilizados dos diplóides (AA) aumentou linearmente ao longo dos dias após a polinização. Resultados similares nesse trabalho foi obtido com as variedades de Pacovan, já que o tamanho dos óvulos aumentou linearmente com os dias de polinização. Efeito contrário, foi observado com os óvulos das cultivares triplóides (AAA), já que houve redução no tamanho dos óvulos com a passar dos dias após a polinização (Figura 1).



**Figura 1.** Alterações no diâmetro dos óvulos de bananeiras diplóides (AA) e triplóides (AAA, AAB), até os vinte dias após a polinização manual.

Com um dia após a polinização, os valores médios do tamanho dos óvulos variaram de 0,79mm nos diplóides a 1,12mm nos triplóides AAA. Aos vinte dias após a polinização observou-se que ocorreu um aumento no tamanho dos óvulos nos diplóides (1,91mm), uma tendência à estabilização nas variedades de Pacovan (1,19mm) e redução dos mesmos nas cultivares triplóides (AAA), atingindo em média 0,90mm (Tabela 1 e Figuras 2).

Nas variedades Pacovan e Grande Naine foram constatadas uma região necrosada na porção inicial do ovário (Figura 2b,d-f), em uma frequência de quase 100% já no primeiro dia após a polinização, tanto para as plantas que foram polinizadas, quanto no tratamento controle. Essa região necrosada pode se constituir numa barreira para o crescimento do tubo polínico em direção ao óvulo, impedindo a ocorrência de fertilização (Soares et al., 2006).

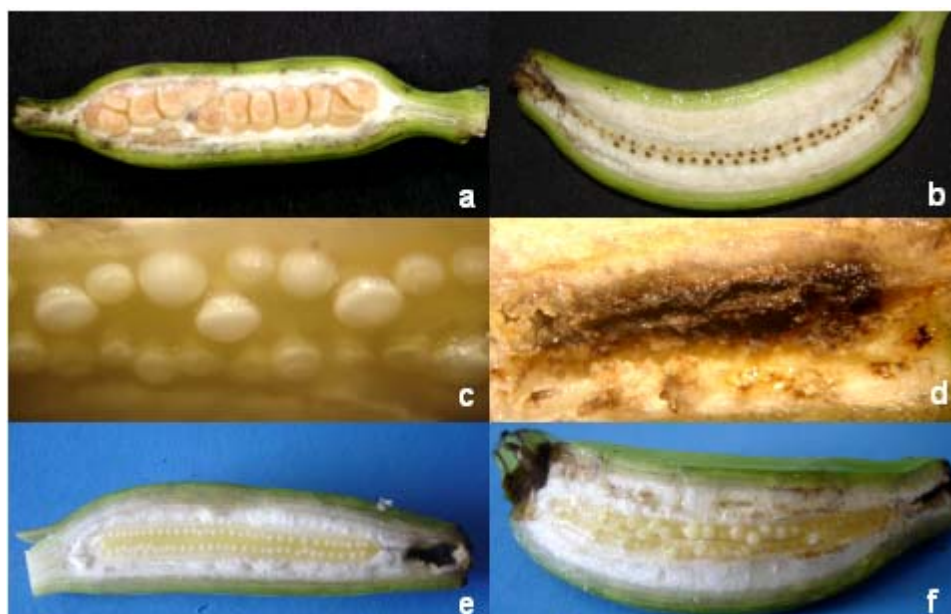
Na literatura são relatadas varias causas da esterilidade em bananeira (Sheperd et al, 1986; Fortescue e Tuner, 2005a), mas não se sabe ao certo que barreiras físicas e/ou bioquímicas interferem no processo de fertilização sob condições naturais. Portanto, mais estudos devem ser realizados para identificar e superar as barreiras que impedem a fertilização em cultivares de bananeira.

Novas técnicas de polinização in vivo precisam ser estudadas procurando aumentar a eficiência das polinizações controladas, bem como superar as barreiras pré-zigóticas que ocorrem nas cultivares do subgrupo Cavendish, viabilizando assim, a obtenção de híbridos resistentes aos principais patógenos, produtivos e com frutos de boa qualidade.

**Tabela 1.** Diâmetro (mm) dos óvulos de genótipos diplóides (AA) e triplóides (AAA) após 1, 10 e 20 dias da polinização com M-53 e 9187-01.

Genótipos	Diâmetro dos óvulos (mm)		
	Dias após a polinização		
<b>Diplóides AA</b>	1	10	20
0304-02	0,915	1,518	2,008
4252-05	0,742	1,433	1,667
5854-03	0,750	1,585	1,863
9179-03	0,815	1,439	1,995
9187-02	0,768	1,393	2,042
<b>Triplóides AAA</b>			
Nanicão Rossete	1,478	1,116	0,864
Nanicão SC-063	1,332	1,237	0,949
Grande Naine Magario	1,436	0,912	0,919
Grande Naine Rossete	1,505	1,360	(1)
Grande Naine SC-074	1,327	0,898	0,898
<b>Triplóides AAB</b>			
Pacovan	0,837	1,109	1,370
Pacovan	0,905	1,228	0,907
Pacovan	0,749	1,108	0,800
Pacovan	0,767	1,377	1,463
Pacovan	0,894	1,413	1,436

(1) Genótipos que apresentaram número de pencas inferior.



**Figura 2.** Inflorescência feminina da bananeira após a polinização. a) Diplóide 9187-02, sem necrose na região distal do ovário; b e d) 'Grande Naine Rossete' apresentando necrose na região distal do ovário; c) Pacovan, desenvolvimento dos óvulos



fertilizados 10 dias após a polinização. e e f) Desenvolvimento dos óvulos fertilizados 1 e 10 dias após a polinização na Pacovan.

## CONCLUSÃO

A ocorrência de uma necrose na região distal do ovário pode estar relacionada com a baixa produção de sementes em Pacovan e com a ausência de sementes em cultivares do subgrupo Cavendish.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FORTESCUE, J. A.; TURNER, D.W. The anatomy of ovule ontogeny of banana, plantain and enset (Musaceae). **Scientia Horticulturae**. v. 104, p. 479-492, 2005a.

FORTESCUE, J. A.; TURNER, D.W. The occurrence of a micropylar exudate in *Musa* and *Enset* (Musaceae). **Scientia Horticulturae**. v. 104, p. 445-461, 2005b.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Banana breeding in Brasil. In: PERSLEY, G. J. DE LANGHE, E. A. (ed.). **Banana and plantain breeding strategics**; proceedings of an international workshop led of cairns. Austrália: ACIAR, p.78-83. 1986.

SILVA, S. O.; ALVES, E. J.; LIMA, M. B.; SILVEIRA, J. R. S. Melhoramento genético da bananeira. In: BRUCKNER, C. H. (ed.) **Melhoramento de espécies frutíferas**. Viçosa: UFV, 1999.

SSEBULIBA, R.; TALENGERA, D.; MAKUMBI, D.; NAMANYA, P.; TENKOUANO, A.; TUSHEMERIRWE, W.; PILLAY, M. Reproductive efficiency and breeding potential of East african highland (*Musa* AAA-EA) bananas. **Field Crops Research**. v. 95, p. 250-255, 2006.

SOARES, T. L.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, A. S.; MORAIS, L. S.; JESUS, O. J.; SOUZA, E. H.; SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A. Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen em bananeiras diploides. **XVII Reunião internacional da Associação para Cooperação nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical**. Joenvive: v.1. 328p. 2006.

SOARES, T. L.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; MORAIS, L. S.; JESUS, O. J.; SOUZA, E. H.; SILVA, S. O. Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen em bananeiras diploides. **Crop Breeding**. 2007. (Submetido)

TANGMITCHAROEN, S.; OWENS, J. N. Pollen viability and pollen-tube growth following controlled pollination and their relation to low fruit production in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). **Annals of Botany**. v. 80, p. 401-410, 1997.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp., óvulo, polinização.



## Germinação de pólen in vitro de bananeiras ornamentais.

Soares, Taliane Leila<sup>1</sup>; Souza, Everton Hilo<sup>2</sup>; Santos-Serejo, Janay Almeida<sup>3</sup>; Souza, Antônio da Silva<sup>3</sup>; Silva, Sebastião Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072; <sup>2</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; <sup>3</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, ssouza@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br.

## INTRODUÇÃO

O cultivo de plantas ornamentais tem se destacado nos últimos anos como uma atividade agrícola bastante promissora, podendo ser comercializadas em vasos ou como flores de cortes e folhagens. As plantas ornamentais tropicais exóticas são muito apreciadas no mercado internacional devido a sua durabilidade e beleza.

O banco ativo de germoplasma de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical contém algumas espécies de ornamentais como *Musa velutina*, *Musa ornata*, *Musa acuminata* ssp. zebrina, *Musa laterita*, entre outras. Devido a variabilidade existente no banco de germoplasma recentemente foi iniciado um programa para obtenção de bananeiras ornamentais com característica apropriadas para uso em arranjos florais, paisagismo e para cultivo em vasos (Souza et al., 2007), sendo, portanto, de interesse a investigação sobre a fertilidade destes genótipos. Em bananeiras, estudos sobre a germinação in vitro de grãos de pólen têm auxiliado na identificação de genótipos com alta viabilidade dos gametas masculinos (Soares et al., 2007).

Várias pesquisas têm sido conduzidas a fim de estabelecer e padronizar meios de cultura e condições ambientais para avaliar a viabilidade de pólen em diversas espécies. Entretanto, sabe-se que a composição do meio e o pH estão entre os fatores que afetam a germinação do pólen in vitro.

Face ao exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a percentagem de germinação de grãos de pólen in vitro e o crescimento do tubo polínico em diferentes níveis de pHs, como também avaliar a viabilidade do pólen de bananeiras ornamentais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de pólen oriundos de flores, coletadas na antese, das bananeiras ornamentais listadas na Tabela 1. Os grãos de pólen, sem qualquer processo de desinfestação, foram inoculados em 40 ml de meio de cultura contendo 15% de sacarose, 0,01% de ácido bórico, 0,01% de nitrato de potássio, 0,03% de nitrato de cálcio e 0,02% de sulfato de magnésio, solidificado com 0,8% de ágar, previamente distribuído em placas de Petri, subdivididas em quadrantes, cada uma representando uma repetição, totalizando 8 repetições para cada pH estudado (5,8, 7,0 e 8,0). As placas foram mantidas em condições controladas de temperatura de 27±1°C, no escuro até a realização da contagem dos grãos de pólen germinados e a medição do comprimento do tubo polínico, 24 horas após a inoculação em meio de cultura. Considerou-se grãos de pólen germinados quando o comprimento do tubo polínico foi igual ou maior ao diâmetro do próprio grão de pólen.

Para análise da viabilidade, os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores recém-abertas, corados com carmim acético a 2% e observados ao microscópio ótico. Estimou-se o percentual de fertilidade do pólen que representou a taxa entre o número de grãos de pólen corados (viáveis) e não corados e com citoplasma retraído (não viáveis). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três pHs (5,8, 7,0 e 8,0) e 8 repetições para cada variedade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as variedades de bananeiras ornamentais avaliadas pode-se notar que houve diferenças nas respostas para os diferentes níveis de pHs tanto para a percentagem de germinação como para comprimento do tubo polínico (Tabela 1).

Tabela 1. Germinação, comprimento do tubo polínico e viabilidade dos grãos de pólen de diferentes genótipos de bananeiras ornamentais.

Genótipos	Germinação de pólen (%)			Comprimento do tubo polínico (mm)			Viabilidade (%)
	pH 5,8	PH 7,0	pH 8,0	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,0	
<i>M. basjoo</i>	4,86	3,68	7,67	1,83	1,75	1,94	63,00
<i>M. coccinea</i>	2,86	20,49	4,66	1,27	2,27	1,53	74,00
<i>M. laterita</i>	66,81	86,07	82,63	3,00	3,78	3,49	100,00
<i>M. acuminata</i> ssp. <i>zebrina</i> (Monyet)	5,80	2,75	0,96	2,57	2,59	1,12	88,66
<i>M. ornata</i>	85,08	92,64	83,37	3,10	3,47	3,15	99,33
<i>M. ornata</i> x <i>M. velutina</i> (Royal)	14,04	11,81	7,34	1,64	1,71	1,81	79,33
<i>M. velutina</i>	3,02	1,85	3,41	1,45	0,04	2,32	100,00

De maneira geral, após 24 horas de incubação o meio de cultura ajustado para pH 7,0, proporcionou em média melhor germinação do pólen (31,33%), assim como maior comprimento do tubo polínico (2,23 mm), em relação aos demais pHs 5,8 (26,07% e 2,12 mm) e 8,0 (27,15% e 2,19 mm), respectivamente.

No entanto, as mais altas percentagens de germinação foram obtidas para *Musa ornata* (92,64%) e *M. laterita* (86,07%) quando os grãos de pólen foram cultivadas em meio com pH ajustado para 7,0 (Tabela 1, Figura 1a).

Por outro lado, as mais baixas percentagem de germinação foram observadas na Monyet e na *M. velutina*, para todos os níveis de pHs estudados. Entretanto, em ambos genótipos a viabilidade do pólen foi alta (88,66% e 100%, respectivamente). Acredita-se que a baixa germinação in vitro ocorreu provavelmente devido à excessiva hidratação de pólen, o que favoreceu, também, a incidência de contaminantes (Tabela 1). A alta umidade e a composição do meio, ocasionando aumento da pressão osmótica, além da baixa resistência da parede celular, podem causar o rompimento dos grãos de pólen (Pio et al. (2002)

A importância da determinação do pH ideal nos processos fisiológicos que envolvem os grãos de pólen está associado a maior porcentagem de germinação que estes possam oferecer, garantindo maiores chances de fertilização (Salles et al., 2006), além de influenciar na disponibilidade de nutrientes, reguladores vegetais e no grau de solidificação do ágar (Pasqual et al., 2002).

Com relação a variável comprimento do tubo polínico mais uma vez a *M. laterita* e *M. ornata* apresentaram os maiores valores com 3,78 mm e 3,47 mm, respectivamente, quando cultivadas em pH 7,0.

Pode-se observar através da viabilidade com carmim acético, que cinco variedades apresentaram viabilidade acima de 80%, à exceção de *M. basjoo* e *M. coccinea* (Tabela 1). A *M. velutina* e a *M. laterita* apresentaram as maiores percentagens de pólen viáveis com 100% (Figura 1c). Os menores valores de pólen viáveis foram registrados na *M. basjoo* e *M. coccinea* com 63% e 74% de viabilidade (Tabela 1 e Figura 1d).

É interessante salientar que o pólen de bananeiras ornamentais foram coletadas de inflorescências no mesmo estágio fisiológico, ou seja, na antese. Para Franzon et al. (2006) é fundamental utilizar em programas de melhoramento o pólen em estágio adequado de maturação, para que o mesmo mantenha a viabilidade e capacidade de germinar quando for realizada a hibridação.

Os resultados obtidos indicam que existe uma discrepância entre os valores observados em termos de percentagem de grãos de pólen germinados e viáveis,

evidenciando a necessidade de ajuste adequado do meio de cultura para permitir melhor germinação *in vitro* de pólen de bananeiras.

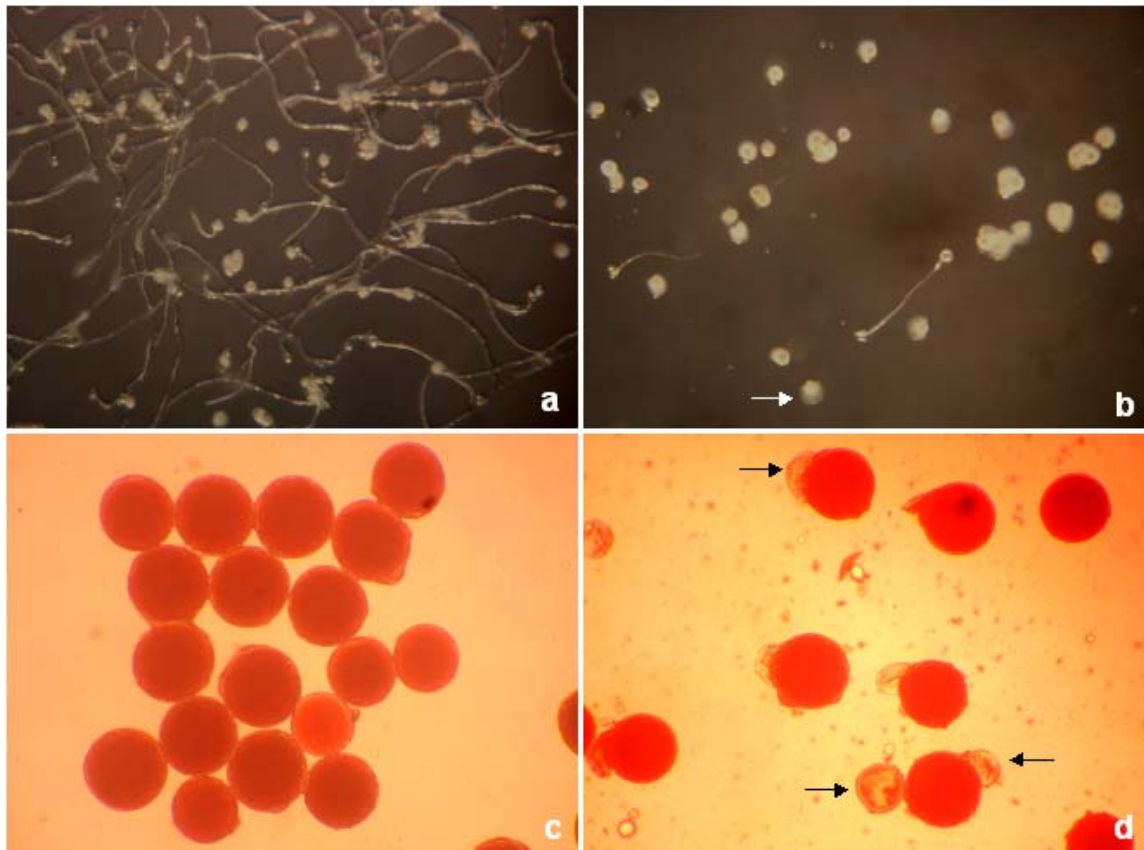


Figura 1. Germinação *in vitro* de grãos de pólen em meio de cultura com pH 7,0 (a-b) e viabilidade de pólen em bananeiras ornamentais (c-d). a) *Musa ornata*, alta percentagem de germinação e tubo polínico longo; b) *Musa velutina*, baixa percentagem de germinação, com eclosão de grãos de pólen (seta); c) *Musa velutina*, coloração com carmim acético dos grãos de pólen viáveis. d) *Musa basjoo*, grãos de pólen viáveis, com coloração escura, e não viáveis, não corados (seta).

## CONCLUSÃO

O meio de cultura ajustado para pH 7,0, proporcionou melhores respostas na percentagem de germinação de grão de pólen, bem como, maior comprimento do tubo polínico para a maioria dos genótipos estudados.

As bananeiras ornamentais testadas apresentam viabilidade de pólen superior a 80%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALOCH, M. J.; LAKHO, A. R.; BHUTTO, H.; SOLANGI, M. Y. Impact of concentrations on *in vitro* pollen germination of Okra, *Hibiscus esculentus*. **Journal of Biological Sciences**. v. 4, n.4, p. 402-403. 2001.

FRAZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação *in vitro* e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (MYRTACEAR). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.28, n.1 p. 18-20. 2006.

NUNES, J. C. O.; DANTAS, A. C. M.; PEDROTTI, E. L.; ORTH, A. I.; GUERRA, M. P. Germinação de pólen *in vitro* e receptividade do estigma em macieira cvs. Fuji e Golden Delicious. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 23, n. 1, p. 35 - 39, 2001.

PASQUAL, M.; FINOTTI, D. R.; DUTRA, L.; CHAGAS, E.; RIBEIRO, L. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerina 'Poncã' em função do pH e da concentração de ágar. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.8, n.3, p. 199-202. 2002.

PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; PIO, R.; PASQUAL, M. Utilização de ácido bórico na germinação de pólen de citros. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, **XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura em 2002**. SBF, Belém: p. 1-4. 2002.

SALLES, L. A.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SILVA, A. B. Sacarose e pH na germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Ciência e Agrotecnologia**. v.30, n.1, p. 170-174. 2006.

SOARES, T. L.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; MORAIS, L. S.; JESUS, O. J.; SOUZA, E. H.; SILVA, S. O. Germinação *in vitro* e viabilidade de grãos de pólen em bananeiras diplóides. **Crop Breeding**. 2007. (Submetido)

SOUZA, E. H.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D.; SILVA, S. O. Avaliação de híbridos de bananeiras ornamentais. In: Congresso de Melhoramento de Plantas, **IV Congresso de Melhoramento de Plantas em 2007**. São Lourenço: v. CD-ROM, 2007.

#### PALAVRAS-CHAVE

Musa ornamental, pólen, tubo polínico, viabilidade, pH.

## Como reduzir o porte de *Hemerocallis*?

Fogaça, Luciana Alves<sup>1</sup>; Besspalhok Filho, João Carlos<sup>2</sup>; Tombolato, Antonio Fernando Caetano<sup>3</sup>; Cuquel, Francine Lorena<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Agronomia, Produção Vegetal, UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 81531-990, Curitiba-PR, Fone (41) 33505728, email: [lufogaça@pop.com.br](mailto:lufogaça@pop.com.br); <sup>2</sup>Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo (DFF), Setor de Ciências Agrárias (SCA), UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 81531-990, Curitiba-PR, Fone (41) 33505728, email: [bespa@ufpr.br](mailto:bespa@ufpr.br); <sup>3</sup>Pesquisador do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Av. Barão de Itapura nº 1481, Caixa Postal 28, CEP 13012-970, Campinas, SP, Fone (19) 32415188, email: [tombolat@iac.sp.gov.br](mailto:tombolat@iac.sp.gov.br); <sup>4</sup>Doutora, Professora Adjunta, DFF, SCA, UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 81531-990, Curitiba-PR, Fone (41) 33505751, email: [francine@ufpr.br](mailto:francine@ufpr.br).

O aumento da produção e da comercialização de flores e plantas ornamentais no Brasil proporcionou um aumento da competitividade do setor. Com isso o mercado vem exigindo plantas de alta qualidade e características morfológicas diferenciadas. Uma planta ornamental que vem apresentando grande destaque no paisagismo é o *hemerocallis* (*Hemerocallis hybrida*). Algumas novas variedades dessa espécie, obtidas por meio de hibridizações, estão disponíveis no mercado nacional. As principais metas destas hibridizações têm sido a obtenção de flores maiores, com cores diferenciadas, maior número de flores por haste e de haste por planta, e menor porte. Entretanto, pouco se sabe sobre a herdabilidade desses caracteres em *hemerocallis* e o melhoramento tem sido feito com baixa eficiência devido aos poucos subsídios científicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a herdabilidade do porte de plantas de *Hemerocallis hybrida* oriundas de cruzamentos simples entre variedades diplóides. Foram realizados 30 cruzamentos entre 13 variedades. Estas variedades foram selecionadas em relação ao porte da planta (Porte Alto – altura superior a 80 cm; Porte Médio – de 60 a 80 cm de altura e Porte Baixo – de 35 a 60 cm). Após a seleção dos genitores, foram realizados os cruzamentos que consistiram em autofecundação e no cruzamento de dois genitores P1 x P2 e P2 x P1 (sempre nos dois sentidos). Dos cruzamentos realizados foram obtidas 26 famílias. O primeiro ano de avaliação da progênie demonstrou que a característica porte de planta para as 13 variedades analisadas apresentou herdabilidade individual de 0,006 e herdabilidade de família 0,04. Estes resultados são indicativos que num programa de melhoramento seria recomendado escolher famílias que apresentem maior herdabilidade do caráter desejado. As avaliações do segundo ano da progênie estão sendo conduzidas.

**PALAVRAS - CHAVE:** planta ornamental, melhoramento de plantas, herdabilidade, *Hemerocallis hybrida*.

## Otimização do processo de multiplicação *in vitro* de violeta africana.

Maria de Fátima Batista Dutra<sup>1</sup>; Medeiros, Lidiane Noberto<sup>2</sup>; Magdy Hamed Ibrahim Alloufa<sup>3</sup>; Cristiane Elizabeth Costa de Macedo<sup>4</sup> & Cibelle Vanúcia Santana Dantas<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Ms. Genética e Biologia Molecular – UFRN - Centro de Biociências - e-mail: [mfbdutra@hotmail.com](mailto:mfbdutra@hotmail.com);

<sup>2</sup>Mestranda do Centro de Biociências, [lidianenoberto@yahoo.com.br](mailto:lidianenoberto@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Prof. Dr. UFRN - Departamento de Botânica Ecologia e Zoologia; <sup>4</sup>Prof. Dra. - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Depto. Biologia Celular e Genética - [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); Graduanda do Centro de Biociências - [cibelley\\_cb@yahoo.com.br](mailto:cibelley_cb@yahoo.com.br). Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN

### INTRODUÇÃO

A propagação vegetativa *in vitro* ou micropropagação é a aplicação mais prática e de maior impacto na cultura de tecidos vegetais. Acredita-se que mais de 3000 genótipos estejam sendo micropropagados atualmente, porém a maioria está sendo de plantas ornamentais (KÄMPF, 2000).

A violeta africana é uma planta ornamental que apresenta flores atraentes e originalmente de cor violeta escuro, sobre folhas de um verde de médio a claro. As folhas são macias, achatadas e levemente acolchoadas, é uma das plantas mais populares de interior, mantendo-se florida durante todo o ano.

Hoje devido ao processo de hibridação existem no mercado nada menos do que 18 espécies e 6000 variedades. Como resultado de trabalhos realizados por cultivadores surgiram novas variedades cuja floração demora mais tempo que a original, sendo que estas se destacam também vantajosamente pela originalidade de suas flores.

As técnicas de cultura de tecidos possuem algumas vantagens em relação ao método convencional de propagação, um pequeno número de explantes podem regenerar milhares de plantas, possuem autenticidade varietal, obtenção de mudas em curto espaço de tempo, produção em qualquer época do ano, e boa qualidade fitossanitária sem o risco de disseminação de doenças (START, N. D.; CUMMING, B. G., 1976).

A micropropagação da *Saintpaulia ionantha* e espécies do mesmo gênero têm relação direta com o melhoramento da cultura, pois se selecionam plantas matrizes com tamanho e cor das flores, morfologia das folhas, pigmentação e apresentação geral das plantas DEBERG, P.C.(1986). A seleção é feita a partir de ampla produção *in vitro* de cultivares já existentes, provenientes de linhagens as quais mantém-se a taxa de crescimento e produtividade floral. Modificando as condições de cultura, e conduzindo os trabalhos para uma produção comercial, com esta técnica a taxa de multiplicação é de 5000 mudas a partir de 1 pecíolo em 3-4 meses (BILKEY & HILDEBRANDT, 1978). Neste sentido o presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo para multiplicação *in vitro* de violeta africana da variedade 'Pamela' usando o sistema de micropropagação.

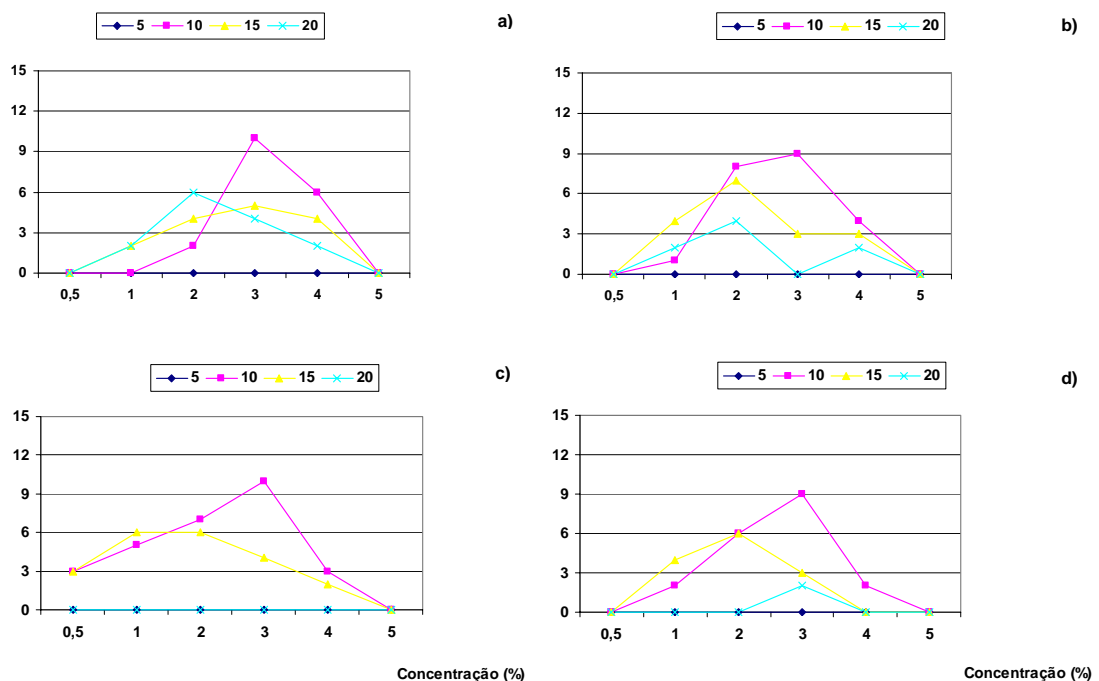
### MATERIAL E MÉTODOS

Folhas e pecíolos de violeta africana variedade "Pamela", foram excisados da planta, depois foram imersos em álcool comercial 70 % por 3 segundos. Em seguida foram submetidos ao hipoclorito de cálcio ou hipoclorito de sódio de acordo com variações de concentração de 1,0; 2,0; 3,0; e 4,0 % combinados com o tempo de exposição de 5, 10, 15 e 20 minutos e lavados três vezes em água destilada esterilizada. Após a desinfestação, os fragmentos vegetais (folha e pecíolo) foram cortados em pedaços de 1cm e inoculados em meio MS Murashige & Skoog (1962) em presença de diferentes combinações hormonais de ANA (0; 0,5; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0) X BAP (0; 0,5; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0) mg/l. O número médio de explantes sobreviventes foi computado 30 dias após a inoculação e o número médio de brotos regenerados por explante inoculado 90 dias após a inoculação também foi computado.

Brotos com 4 folhas, obtidos à partir dos explantes inoculados *in vitro*, foram selecionadas para o teste de enraizamento com MS ½, MS + 1mg/l de IBA e vermiculita sendo analisados nos intervalos de 10, 20, 30 e 60 dias. A aclimação foi realizada colocando-se as plantas enraizadas em uma bandeja contendo húmus de minhoca e protegida por saco plástico, as mesmas foram diariamente pulverizadas com água destilada, recebendo solução nutritiva de Hogland a cada 15 dias, estas foram mantidas sob iluminação artificial constante de 3000 lux, e temperatura de 26 ± 2°C. 60 dias após a inoculação ou plantio, foi computado o número médio de plantas que enraizaram nos diferentes tratamentos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em relação ao tipo de agente desinfestante e concentração dos mesmos revelam que tanto o hipoclorito de sódio quanto o hipoclorito de cálcio provocam reações semelhantes nos explantes de violeta. Não houve uma variação ou influencia significativa no número de fragmentos de folhas e pecíolos de violeta que sobreviveram em presença de um ou de outro agente na concentração de 3% e o tempo de exposição de 10 min. (Figura 1 a-d) . A medida que a concentração e o tempo de exposição aos dois agentes desinfestantes aumentaram, houve perda do número de explantes por necrose, confirmando os trabalhos de (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990), de que as concentrações das soluções desinfestantes bem como o tempo de exposição devem variar de acordo com a sensibilidade do tecido a ser desinfestado.

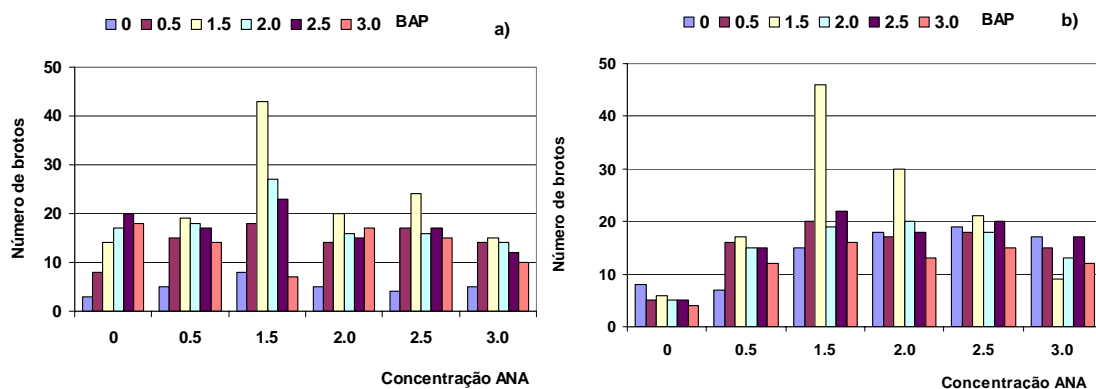


**Figura 1** – Número médio de explantes sobreviventes de folhas em presença de hipoclorito de cálcio (a) e hipoclorito de sodio (b) e de pecíolo em presença de hipoclorito de cálcio (a) e hipoclorito de sodio (b) computado 30 dias após a inoculação.

Adição de BAP e ANA ao meio de cultura MS favoreceu de forma significativa a formação de brotos tanto a partir de explantes de folhas como de pecíolo na concentração de 1,5 mg/l (Figura 2 a-b). Observa-se que com pecíolo a combinação de 1,5 mg/l de BAP e 2,5 mg/l de ANA também favoreceu a multiplicação dos explantes de pecíolo. Com folha o

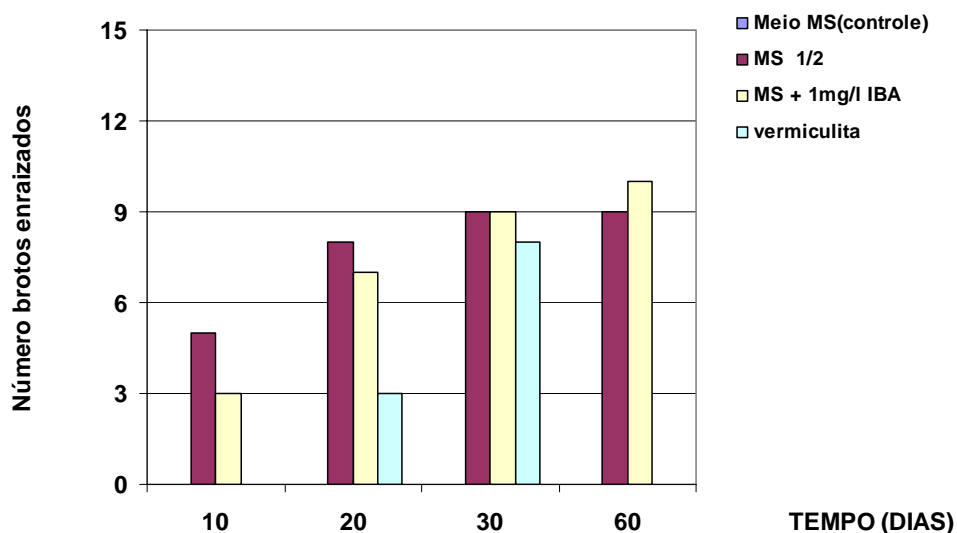


resultado que também foi considerado significativo foi de 2,0 mg/l de ANA e 1,5 mg/l de BAP.



**Figura 2** – Número médio de brotos de violeta formados a partir de explantes de pecíolos (a) e de folhas (b) em presença de diferentes combinações de ANA:BAP.

O tratamento que propiciou um maior número de raízes nas plantas obtidas através de micropropagação após 60 dias foi o meio MS + 1mg/l de IBA, seguido do meio MS ½, (Figura 3). Em relação a aclimatação observou-se que após 30 dias de cultura em húmus de minhoca, 60% das mudas estavam bem adaptadas, podendo assim serem transplantadas para vasos definitivos.



**Figura 3** – Número médio de brotos enraizados em diferentes meios de enraizamento (MS; MS ½; MS + IBA e vermiculita) em diferentes intervalos de tempo.

## CONCLUSÃO

O hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio demonstram resultados mais significativos na concentração de 3% e no tempo de 10 minutos, tanto em fragmentos de folha quanto pecíolo, os hormônios BAP:ANA na concentração de 1.5 mg/l é a combinação hormonal que demonstrou melhores resultados para cultura *in vitro* de violeta africana a partir de fragmentos de folha e de pecíolos, o meio que demonstrou melhores resultados para enraizamento *in vitro* de violeta africana variedade “Pâmela” é do MS +1mg/l IBA seguido MS ½.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BILKEY, P. C.; Mc Cowm, B.H.; HILDBRANDT, A. C. Micropropagation of african violets from petioles cross sections. **HortScience**, v.13,n.1, p. 37-38, 1978.

DEBERG, P.C. Recent trends in the application of tissue culture to ornamentals. In : GREEN,C.E.; SOMERS, D. A.; HACKETT, W.P.; BIESODER, D. D. **Plant tissue and cell culture**. New York: Alan R. Liss, Inc., 1986. p. 383-393.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília : ABCTP/EMBRAPA – CNPH, 1990. p. 99-170.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, v. 15, p. 473-497, 1962.

START, N. D.; CUMMING, B. G., *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. **HortSci**, v.11, p. 204- 206, 1976.

KÄMPF, A.N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guíba: Agropecuária, 2000. 254p.

PALAVRAS-CHAVES : *Saintpaulia ionantha*; gesneriaceae; violeta; micropropagação; cultivo *in vitro*.

## Similaridade genética entre indivíduos de palmeira-ráfia (*Rhapis excelsa* (Thunberg) Henry ex. Rehder) avaliado por marcadores RAPD

Pereira, M.B.M.<sup>1</sup>; Nogueira, G.F.<sup>2</sup>; Lacerda, G.A.<sup>3</sup>; Mendonça, E.G.<sup>4</sup>; Paiva, P.D.O.<sup>5</sup>; Paiva, R.<sup>5</sup>; Paiva, L.V.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Bolsista do Projeto Genoma Minas Gerais – BDTI-V, e-mail: michelemestrado@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG, e-mail: gabi\_bioufla@hotmail.com; <sup>3</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: guilhermebiologia@hotmail.com; <sup>4</sup>Mestranda do Curso de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: evaniafloresta@hotmail.com; <sup>5</sup>Professores Associados da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 303, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 3829-1359

### INTRODUÇÃO

A palmeira *Rhapis excelsa* (Thunberg) Henry ex. Rehder pertencente à família Palmae (Arecaceae) sendo popularmente denominada palmeira-senhora ou palmeira-ráfia.

Os genótipos de palmeiras com maior potencial agrônômico são normalmente reunidos em coleção, constituindo-se assim o Banco Ativo de Germoplasma (BAG). Trabalhos de caracterização dos BAGs de palmeiras vêm sendo realizados sob o aspecto botânico, genético e agrônômico (Bovi *et al.*, 1995a, 1995b). Sob o aspecto genético, vários trabalhos têm utilizado marcadores moleculares tipo RAPD para estimar a divergência genética de plantas de palmeiras, como o dendê (*Elaeis guineensis*) (Shah *et al.*, 1994). Os marcadores moleculares RAPD baseiam-se no fato de que os “primers” são curtos o suficiente para que as seqüências complementares arbitrarias de oligonucleotídeos encontrem seqüências complementares no genoma, de tal forma que pares de “primers” estejam localizados próximos e com os respectivos finais 3’ direcionados uns para os outros.

A palmeira-ráfia possui um grande valor ornamental e poucos estudos científicos foram realizados com a espécie. Um agravante neste sentido deve-se ao fato de plantas provenientes de um mesmo local apresentarem diferenças genéticas, pois o que se busca quanto ao parâmetro ornamental é a homogeneidade dos indivíduos. Assim, sabendo-se da alta eficácia dos marcadores moleculares tipo RAPD para distinguir geneticamente palmeiras, o intuito deste trabalho foi avaliar a similaridade genética em 10 plantas de palmeiras-ráfia providas de um mesmo local.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Material genético

Dez plantas de palmeira-ráfia provenientes de um mesmo local (Jardim Botânico – Rio de Janeiro – RJ) foram utilizadas nos estudos. Para análise do DNA foram coletadas e identificadas folhas jovens, acondicionadas em saco plástico em gelo e transportadas ao Laboratório Central de Biologia Molecular – UFLA onde foram armazenadas em freezer a -80 °C, até o momento da extração.

#### Extração e quantificação do DNA

O DNA foi extraído utilizando-se metodologia com adaptações, descrita por Wadt (1997). Cerca de 500mg de folhas jovens foram maceradas em almofariz de porcelana contendo N<sub>2</sub> líquido, até a obtenção de um pó fino. Durante a maceração adicionou-se 0,1g de PVP (polivinilpirrolidona) para auxiliar na prevenção da oxidação.

Para igualar as diferentes concentrações de DNA a 10ng/ml, foram feitas, para todos os genótipos, diluições em tampão TE de acordo com a expressão: Vol TE em µl = [(volume da amostra \* concentração da amostra) – (10 \* volume da amostra)]/10. A partir de então, as amostras se apresentaram totalmente adequadas para as reações de PCR-RAPD.

O volume final de cada reação de amplificação foi 12 µl contendo 3 µl de DNA (10 ng/µl), 1,2 µl Tris-HCl pH 8,4 (20 nmol/L), 0,24 µl de dNTPs (10 µmol/L), 1,8 µl do *primer* RAPD (10 µmol/L) correspondente e 0,6 unidades (U) de enzima *Taq* DNA polimerase. As reações de amplificação foram realizadas em termociclador modelo Mastercycler (Eppendorf, Hanburg, Germany), utilizando-se um programa com desnaturação inicial a 95 °C por 1 minuto, seguido por desnaturação 94 °C por 10 segundos, anelamento a 36 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. Os passos da desnaturação, anelamento e extensão foram repetidos 34 vezes e, em seguida, a reação foi finalizada por uma extensão a 72 °C por 7 minutos. Os fragmentos amplificados foram separados em gel de agarose 1,2% (m/v), em eletroforese e visualizados sob luz ultravioleta e fotografados no equipamento EDAS 290 (Kodak®). Somente foram consideradas as bandas monomórficas e polimórficas que se apresentaram de forma consistente e reproduzível nos géis de agarose.

#### Análise dos dados RAPD

Para determinar a frequência de banda para cada indivíduo, foi feita uma análise cuidadosa das fotografias dos géis. Através desta foi montado uma matriz fenotípica composta de 0 e 1, sendo 0 a ausência de banda e 1 a presença.

#### Identificação do número ótimo de marcadores

Com o intuito de verificar se o número de bandas polimórficas geradas pelos 19 primers de RAPD foi suficiente para determinar com precisão as estimativas de similaridades genéticas entre os indivíduos, foi realizada a análise de *bootstrap*.

#### Similaridade genética

A representação simplificada das similaridades foi realizada pela construção de dendogramas pelo método de agrupamento UPGMA –Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average (Sneath & Sokal, 1973).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### *Polimorfismo de marcadores RAPDs*

Entre os 59 *primers* inicialmente testados para as reações de RAPD, 19 foram selecionados por apresentarem amplificação de pelo menos um produto com padrão adequado (presença ou ausência). Foram obtidos 51 marcadores RAPD polimórficos e 30 marcadores monomórficos entre os indivíduos avaliados, logo 62,96% apresentaram polimorfismo.

Sawazaki *et al.* (1998) estudando a diversidade genética em palmeiras através dos marcadores isoenzimáticos e RAPD detectaram 96% de polimorfismo com os *primers* utilizados. No presente trabalho verificou-se que cada *primer* revelou de 1 a 7 locos polimórficos, produzindo cerca de 2,55 locos polimórficos por *primer*. A Figura 1 mostra exemplo dos perfis de amplificação obtidos com o *primer* OPP-10.

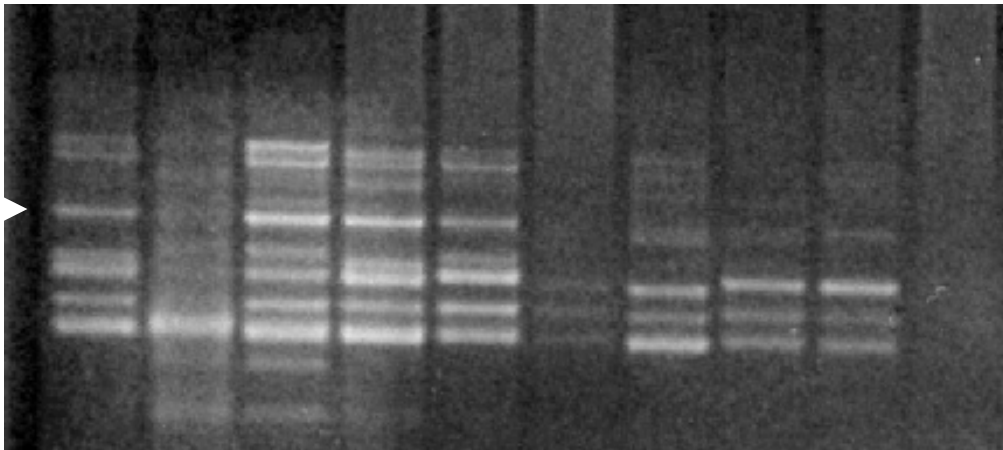


Figura 1: Eletroferograma de gel de agarose 1,2%, corrido a 100 v por 90' obtido a partir dos produtos da amplificação por RAPD com o primer OPP-10. A seta indica o perfil de banda considerada no trabalho.

Uma análise estatística descritiva das matrizes de distâncias geradas pelo coeficiente de similaridade mostrou que as distâncias entre os genótipos variaram de 0,18 a 1,00, apresentando média de 0,55.

O número de fragmentos polimórficos utilizados na avaliação da variabilidade genética em plantas é bastante variável, independente do grau de domesticação da espécie. Para espécies como samambaia *Dryopteris cristata*, espécie ainda não domesticada, Landergott *et al.* (2001) encontraram 27 fragmentos. Estopa *et al.* (2006), investigando a diversidade genética em duas populações naturais de *Eremanthus erythropapus* encontraram 56 fragmentos polimórficos. Portanto, os 51 fragmentos obtidos neste trabalho, podem ser considerados suficientes para a análise dos indivíduos em questão.

Com o propósito de avaliar o poder de discriminação dos marcadores RAPD, com base nas similaridades genéticas obtidas, procedeu-se a uma análise de agrupamento UPGMA, formando seis grupos distintos (Figura 2).

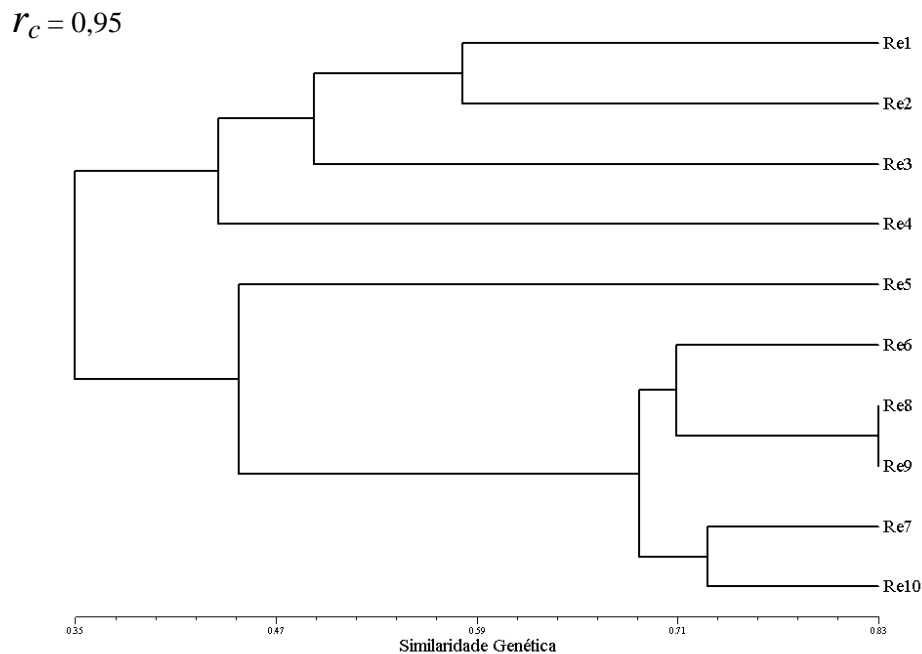


Figura 2: Dendrograma UPGMA para representação de 10 genótipos de palmeiras em função de similaridades genéticas entre elas calculadas, a partir de 51 bandas RAPDs.

Pode-se observar o forte agrupamento das plantas Re6, Re8, Re9, Re7, Re10, sendo que as plantas Re8 e Re9 podem ser consideradas clones já que não há diferença genética entre elas.

Os resultados obtidos confirmam que os 51 fragmentos polimórficos obtidos a partir de 19 *primers* RAPD foram eficientes para quantificar a similaridade genética das plantas de *Rhapis excelsa* Thunberg, já que o número ótimo de marcadores encontrados foi de 47 marcas polimórficas (Figura 3).

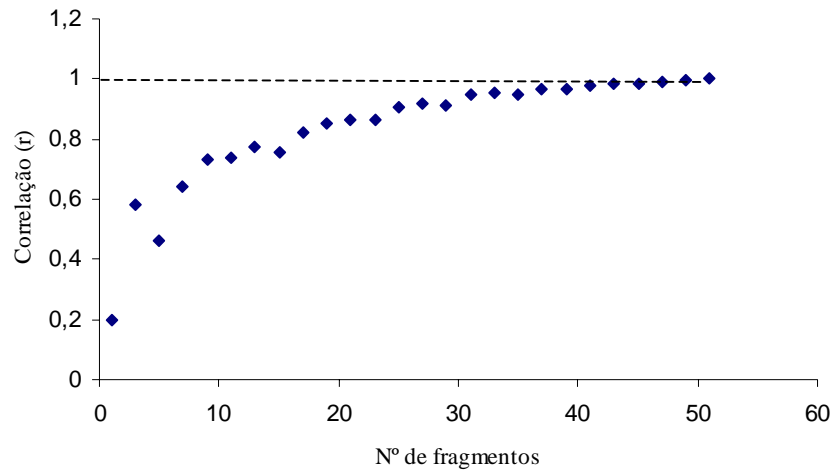


Figura 3: Resumo da análise de reamostragem contendo as correlações obtidas para diferentes números de fragmentos polimórficos do marcador RAPD na determinação do número ideal de bandas de *Rhapis excelsa*.

Além disso, pode ser considerada uma alta confiabilidade no agrupamento dos indivíduos com base no valor de correlação cofenética ( $r_c$ ) 0,95 (Figura 2). Segundo Xavier (2001), os resultados gerados pelo RAPD são muito confiáveis, pois os genótipos foram analisados em âmbito molecular. Isso significa que toda a variação detectada é de causa genética, anulando a influência do ambiente.

A obtenção de marcadores associados às plantas ornamentais de interesse é bastante desejável, uma vez que poucos estudos são feitos no intuito de identificar estas plantas. A identificação precoce por meio de marcadores tipo RAPD, é de muita importância em se tratando de espécies perenes, de ciclo longo, como as palmeiras (Sawazaki *et al.*, 1998). No entanto, deve ser ressaltado que os estudos realizados neste trabalho visaram apenas à prévia distinção de 10 plantas como clones ou não, estudos mais detalhados como a comparação com os aspectos morfológicos, devem ser realizados.

A multiplicação da palmeira-ráfia é realizada por meio de semente ou divisão de touceira, sendo mais difícil o primeiro processo, devido ao lento crescimento das mudas. As sementes germinam em torno de 130 dias (Lorenzi, 1996). Os resultados deste estudo sugerem que estes 10 indivíduos de palmeira-ráfia poderiam ser oriundos da propagação vegetativa através de touceiras, o que causaria o maior grau de similaridade.

Devido ao fato do Jardim Botânico - RJ ser, reconhecidamente, considerado uma forma de conservação *ex situ* sugere-se duas populações de palmeira-ráfia. Onde a população A seja propagada por sementes a fim de se manter a variabilidade genética e a população B propagada por touceiras para uniformizar a arquitetura ornamental desejada dos indivíduos.

## CONCLUSÕES

O polimorfismo RAPD observado nos 10 indivíduos de palmeira-ráfia possibilitou a diferenciação entre essas plantas provenientes de mesmo local (Jardim Botânico do Rio de Janeiro - RJ). Mesmo sendo os 10 indivíduos de *Rhapis excelsa* oriundos do JB, nota-se

que existe uma distinção genética ocasionando uma possível variação também no fenótipo podendo esta interferir na arquitetura ornamental dos espécimes.

Para uma diferenciação genética entre plantas da espécie *Rhapis excelsa* (Thunberg) Henry ex. Rehder são necessários à obtenção de no mínimo 47 bandas polimórficas, sendo os marcadores RAPD eficientes para esta análise.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOVI, M.L.A.; SPIERING, S.H.; SÁES, L.A. & GODOY, Jr.; G., **Coleta e caracterização morfológica de germoplasma de Euterpe**. Simpósio Nacional de Recursos Genéticos Vegetais, Campinas, 1995a. *Resumos*, p. 34.

BOVI, M.L.A.; GERMEK, E.B.; GALLO, P.B.; SÁES, L.A.; GODOY Jr.G.; MARTINS, A.L.M., PAULO, E.M.; KANTHACK, R.A.D.; MARTINS, F.P.; SANTOS, R.R.; BORTOLETTO, N.; CAMPANA, M.P. & CAMARGO, A.P. **Conservação e caracterização de germoplasma de pupunheira (*Bactris gasipaes*) em uso no Instituto Agrônomo**. Simpósio Nacional de Recursos Genéticos Vegetais, Campinas. , 1995b, *Resumos*, p. 66.

ESTOPA, R.A.; SOUZA, A.M.; MOURA, M.C.O.; BOTREL, M.C.G.; MENDONÇA, E.G.; CARVALHO, D. **Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropapus* (DC.) MacLeish)**. *Scientia Florestalis*. N. 70, p. 97-106, abril 2006.

LANDERGOTT, U.; HOLDEREGGER, R.; KOZLOWSKI; SCHNELLER, J.J. **Historical bottlenecks decrease genetic diversity in natural populations of *Dryopteris cristata***. *Heredity*, Oxford, v.87, n.3, p.334-335, 2001.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; COSTA, J.T.M.; CERQUEIRA, L.S.C.; FERREIRA, E. **Palmeiras no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 272 p.

SAWAZAKI, H.E.; BOVI, M.L.A.; SODEK, L.; COLOMBO, C.A. **Diversidade genética em palmeiras através de isoenzimas e RAPD**. *Rev. Brasil. Biol.* v.58 n.4, p. 681-691, 1998.

SHAH, F.H.; RASHID, O.; SIMONS, A.J. & DUNSDON, A.; **The utility of RAPD markers for the determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*)**. *Theor. Appl. Genet.* 89: p.713-718, 1994.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. W. H. Freeman, San Francisco, 1973.

XAVIER, K.G. **Diversidade genética em clones de *Eucalyptus* avaliados por marcadores RAPD, e variações nas propriedades da madeira**. Dissertação (Mestrado em Florestas de Produção) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, p. 2001.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Rhapis excelsa*, marcador molecular, dendograma.

## Indução de calos embriogênicos nas variedades RB 72 454 e SP 81 3250 de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*).

Brito, Lucila Karla Felix Lima de<sup>1</sup>; Lopes, Luciana Lima Ferreira<sup>2</sup>; Scortecci, Kátia Castanho<sup>3</sup>; Macedo, Cristiane Elizabeth Costa de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Técnico de nível superior da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN) - Laboratório de Biotecnologia Vegetal, R. Jaguarari, 2192 - CP 188, CEP 59062-500, Lagoa Nova, Natal, RN, fone/fax (84) 3232-2286/3232-5868, e-mail: [lucilaemparn@rn.gov.br](mailto:lucilaemparn@rn.gov.br); <sup>2</sup>Mestranda da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Centro de Biociências – Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Av. Sen. Salgado Filho, s/n, Lagoa Nova, CEP 59078-970, Natal, RN, fone: (84) 3215-3424, e-mail: [zenaida\\_auriculata@yahoo.com.br](mailto:zenaida_auriculata@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Centro de Biociências – Departamento de Biologia Celular e Genética – Laboratório de Biologia Molecular, e-mail: [katiascortecci@yahoo.com](mailto:katiascortecci@yahoo.com); <sup>4</sup>Professora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Centro de Biociências – Departamento de Biologia Celular e Genética – Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal, e-mail: [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br).

A cultura de tecidos pode ser uma ferramenta útil ao melhoramento de plantas. A embriogênese somática indireta pode permitir a obtenção de variantes somaclonais, de mutantes sólidos, além de fornecer uma ampla população apta a exposição a tratamentos mutagênicos. Em cana-de-açúcar, o emprego de 2,4-D é comum na indução de calos embriogênicos. No entanto, a dose pode variar em função da variedade. Assim, este trabalho objetivou avaliar a resposta das variedades RB 72 454 e SP 81 3250 ao tratamento com 2,4-D. Discos, com 5mm de diâmetro, foram excisados da região do ápice caulinar e cultivados em sais de MS, vitaminas de White, 0,6% de agar, 30% de sacarose e 2,4-D (2, 3, 4 e 5 mg.L<sup>-1</sup>). A cultura foi mantida no escuro, a temperatura ambiente. Foram realizados três subcultivos, sendo o primeiro após trinta dias e, os seguintes, a cada vinte dias. Diariamente, os explantes foram avaliados a fim de determinar as taxas de conversão em calos e o tempo de aparecimento dos calos. Após trinta dias, a oxidação foi classificada em quatro níveis: **so** – sem oxidação; **ob** – oxidação restrita a base; **od** – oxidação em postos difusos; **om** – oxidação de incidência generalizada moderada; **os** – oxidação de incidência generalizada severa. A cada subcultivo, foi determinada a massa fresca (MF) e, ao final do experimento, a taxa de crescimento relativo (TCR). A conversão em calos foi observada, em ambas as variedades, a partir do quinto dia após a inoculação, em todos os tratamentos e atingiu uma taxa de 100% ao final do experimento. A oxidação observada atingiu, em geral, níveis baixos e não comprometeu a proliferação celular (65,8% **so** na RB 72 454; 50,8% **so** na SP 81 3250). Os calos regenerados em níveis de oxidação **so** e **ob**, apresentavam aspecto translúcido e friabilidade. O meio contendo 3 mg.L<sup>-1</sup> 2,4-D induziu uma MF igual às das doses mais elevadas, porém a uma TCR maior que a dose de 2 mg.L<sup>-1</sup> (significativo ao nível de 5%, pelo teste de Dunn). Esses resultados indicam que a dose de 3 mg.L<sup>-1</sup> pode permitir a obtenção de uma massa celular apta ao tratamento mutagênico ou a regeneração de embriões somáticos, porém a uma TCR mais lenta. Isso indica a ocorrência de divisões celulares menos freqüentes, o que evitaria o acúmulo de mutações nas células e, com isso, o risco de obtenção de mutantes inviáveis. No entanto, são necessários estudos futuros, a fim de implementar a regeneração de embriões somáticos e avaliar a indução de variação somaclonal na dose 3 mg.L<sup>-1</sup> 2,4-D nas variedades em estudo.

### PALAVRAS-CHAVES

*Saccharum sp.*; RB 72 454; SP 81 3250; auxina; embriogênese somática.

---

Trabalho financiado com recursos do Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq e Usina Estivas.

## Estudos reprodutivos e citológicos em gérbera visando cruzamentos sexuais.

Raquel Dalla Lana Cardoso<sup>1</sup>; Magali Ferrari Grando<sup>2</sup>; Monique Inês Segeren<sup>3</sup>; Lizete Augustin<sup>4</sup>; Eunice Calvete<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo (UPF), Caixa Postal 611, 99001-970, Passo Fundo – RS, e-mail: [raqueldlcardoso@bol.com.br](mailto:raqueldlcardoso@bol.com.br); <sup>2</sup> Professoras do Programa de Pós-Graduação da UPF, e-mail: [magali@upf.br](mailto:magali@upf.br); [calveteu@upf.br](mailto:calveteu@upf.br) <sup>3</sup> Pesquisadora da ProClone, Holambra, São Paulo – SP, e-mail: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br), <sup>4</sup> Professora da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, e-mail: [augustin@upf.br](mailto:augustin@upf.br).

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera* spp.) pertence à Família Asteraceae, apresentando cerca de 30 espécies distribuídas pela África, Madagascar, Ásia tropical e uma espécie originada nos Andes do Peru, América do Sul (Barroso, 1991). As cultivares modernas de gérberas, *Gerbera hybrida* Hort, são plantas diplóides (2n=50) originadas do cruzamento entre *Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook e *Gerbera viridifolia* Schultz Bip. Híbridos naturais destas duas espécies não foram encontrados (Kloss et al., 2005; Sane & Gowda, 2005).

A gérbera apresenta a inflorescência do tipo capítulo, o qual é formado por flores vistosas, as quais variam quanto à forma da corola, sexualidade, simetria, fusão de órgãos e pigmentação. A *Gerbera hybrida* apresenta uma grande variabilidade de morfologia dos capítulos sendo estes classificados em simples, semidobrados e dobrados. As flores são classificadas de acordo com sua posição no capítulo. As flores do raio são as flores mais externas, as flores trans são intermediárias e as flores do disco são as centrais. Além dos híbridos comerciais, também são encontradas plantas com aspectos mais silvestres, ainda não melhoradas, das quais não se tem informações sobre o número de cromossomos. Tal informação é importante para viabilizar os cruzamentos sexuais, visto que estes materiais podem ser considerados fonte de variabilidade útil a programas de melhoramento, principalmente objetivando a obtenção de plantas mais adaptadas às condições climáticas da região.

Além do número cromossomos ser um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização de uma espécie e para a determinação de estratégias a serem empregadas no melhoramento genético, o estudo da viabilidade de pólen permite evidenciar a potencialidade reprodutora masculina contribuindo para o planejamento do melhoramento.

Ainda, para o desenvolvimento de programas de melhoramento baseados no cruzamento sexual, há a necessidade de se conhecer o modo de reprodução da espécie. Em gérbera, ainda há dúvidas quanto ao modo de reprodução.

Os objetivos deste trabalho foram investigar a ocorrência de geitonogamia e apomixia em gérbera, confirmar o número de cromossomos nos diferentes híbridos de gérbera (híbridos de capítulos simples, semidobrado e dobrado), determinar o número de cromossomos nos acessos não melhorados coletados no Rio Grande do Sul e Espírito Santo e a taxa de viabilidade do pólen, a fim de avaliar a relação citogenética e a possibilidade de cruzamentos entre os acessos estudados, além de fornecer subsídios para o melhoramento de gérbera através da determinação do sistema de reprodução.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Para análise cromossômica e da viabilidade do pólen foram utilizados 13 acessos de gérbera (Tabela1), sendo seis híbridos comerciais e sete acessos coletados em jardins do Rio Grande do Sul e Espírito Santo (cinco de *Gerbera jamesonii* e dois de *Gerbera* sp.). Os acessos foram cultivados em casa-de-vegetação e dispostos em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Passo Fundo. O estudo foi realizado entre dezembro de 2005 a setembro de 2006, na Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul.

Foram coletados ápices de raiz e pólen de 13 acessos de gérbera, seis deles híbridos comerciais (*Gerbera hybrida* Hort : Amazone, Cariba, Terra Fame, Pink Elegance, Asteca e Tenesse) e sete acessos não melhorados coletados em jardins. Para a contagem de cromossomos foram avaliadas células metafásicas intactas e para estimativa de viabilidade de pólen foi avaliado o número de grãos de pólen viáveis e não viáveis. Para determinar o



número de cromossomos os ápices de raiz foram coletados e pré-tratados com gelo por 24 horas, fixados em uma mistura de álcool etanol e ácido acético (3:1 v/v) por 24 horas, seguindo da hidrólise com HCl 1N a 60°C por 13 minutos e coloração com carmim acético 45%. Foram preparadas três lâminas para cada genótipo, sendo avaliadas 10 células metafásicas com núcleo intacto por lâmina. As análises foram realizadas em microscópio ótico com aumento de 1000x, sendo as metáfases avaliadas registradas no computador através do programa PixelView, com aumento de 1000x para a contagem do número de cromossomos.

**Tabela 1-** Relação, origem e classificação comercial dos acessos de gérbera *Gerbera hybrida* (Híbridos comerciais) *Gerbera jamesonii* e *Gerbera sp.* (Acessos de gérbera não melhorados).

Acessos	Espécie	Origem	Classificação	Coloração
Cariba	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Semi-dobrada	Vermelha
Amazone	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Amarelo-alaranjado
Pink Elegance	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Dobrada	Rosa Claro
Terra Fame	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Amarela
Asteca	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Vermelha
Tenessê	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Salmão
A7	<i>Gerbera jamesonii</i>	Espírito Santo	Semi-dobrada	Amarela
A8	<i>Gerbera jamesonii</i>	Espírito Santo	Simples	Rosa Pink
A9	<i>Gerbera jamesonii</i>	Jardim (Casca-RS)	Simples	Rosa Pink
A10	<i>Gerbera jamesonii</i>	Jardim (PassoFundo-RS)	Simples	Rosa
A11	<i>Gerbera sp</i>	Jardim (Casca-RS)	Dobrada	Salmão-avermelhada
A12	<i>Gerbera sp</i>	Jardim (Passo Fundo-RS)	Dobrada	Branca
A13	<i>Gerbera jamesonii</i>	Espírito Santo	Simples	Salmão

A estimativa de frequência da viabilidade do pólen foi realizada mediante a coloração com carmim acético 45% e observação em microscópio ótico. Foram preparadas quatro lâminas por acesso, avaliando-se 1000 grãos de pólen por lâmina, totalizando 4000 grãos de pólen por acesso. Considerou-se pólen viável aqueles com tamanho visivelmente normal, protoplasma corado e com a exina intacta. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo Teste Tukey a 5%.

Para investigação do sistema de reprodução, ocorrência de geitonogamia (cruzamento entre flores do mesmo capítulo) e apomixia, foram utilizados os híbridos Cariba, Pink Elegance e Terra Fame. Cinco tipos de isolamentos florais, foram realizados através da remoção de cada tipo de flores (flores do raio, trans e disco), conforme os tratamentos descritos na figura 1. Para cada tratamento de isolamento foram realizadas três repetições, sendo a unidade experimental, um capítulo. Após a manipulação, os capítulos foram protegidos com papel manteiga, sendo debulhados após 30 dias para avaliação dos aquênios. Foi avaliada a ocorrência de formação de sementes através da germinação dos aquênios, em caixas gerbox, sob papel filtro umedecidos com solução de 0,2% de nistatina e 0,02% de estreptomina, e mantidos em câmara BDO, a 24°C e ausência de luz. Sementes comerciais da empresa ISLA foram utilizadas como testemunha. A avaliação da germinação foi realizada aos 14 dias, mediante a verificação da emissão da radícula.

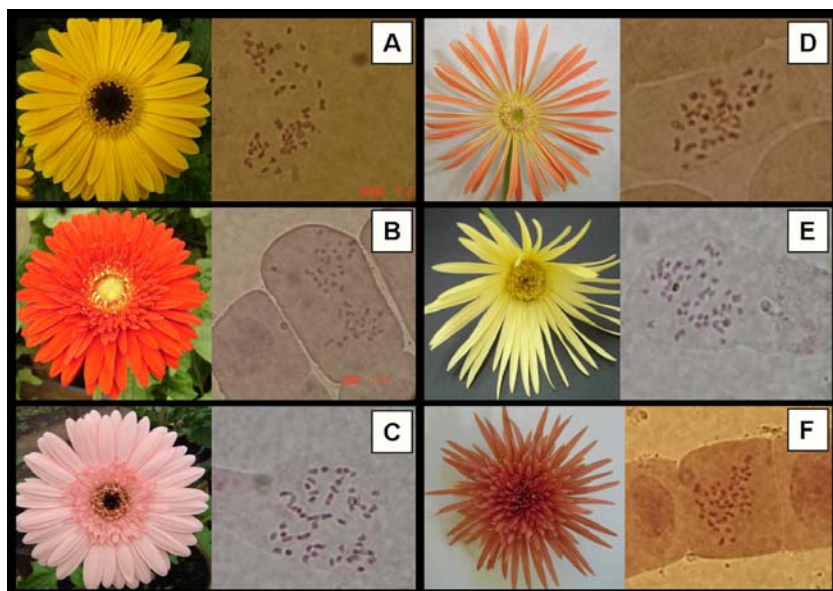


**Figura 1.** Tratamentos de isolamento de flores: T1 capítulo inteiro; T2 capítulo somente com as flores do raio; T3 capítulos somente com as flores do disco; T4 capítulos somente com as flores trans e T5 capítulos com somente as flores do raio e flores trans.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os acessos avaliados apresentaram 50 cromossomos, indicando que tanto os híbridos comerciais quanto os acessos não melhorados apresentaram o mesmo número de cromossomos. Mesmo os acessos apresentando variação quanto ao tipo de capítulo (capítulos simples, semidobrado e dobrado) não diferiram quanto ao número de cromossomos (Figura 2).

A figura 3 mostra os aspectos do estudo sobre a viabilidade do pólen. A média de viabilidade do pólen entre os acessos avaliados foi de 89,6%. A análise de variância permitiu constatar que houve diferença estatística entre os acessos para esta característica. O acesso 11 (silvestre) apresentou a menor freqüência de pólen viável (87,7%) e a cultivar Tenesse a maior (99,3%) quando comparado com os demais (Tabela 2). Os dados obtidos permitem concluir que os acessos não melhorados, apesar de serem diferentes morfologicamente aos cultivares híbridos apresentam o mesmo número de cromossomos e viabilidade de pólen indicando a possibilidade de realizar cruzamentos entre os acessos analisados.

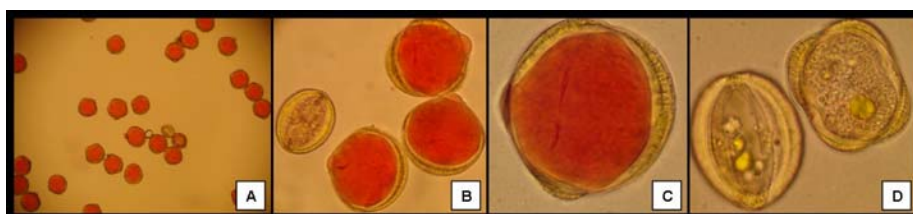


**Figura 2.** Número de cromossomos nos diferentes tipos de capítulos: A, B e C híbridos comerciais, sendo A) simples; B) semidobrado e C) dobrado, e D, E e F genótipos não melhorados, sendo D) simples; E) semidobrado e em F) dobrado.

**Tabela 2 –** Freqüência de polens viáveis em acessos comerciais e não melhorados de gérbera.

Acessos	Viabilidade Pólen	
1 Cariba	98,775	a
2 Amazone	96,825	a
3 Pink Elegance	98,200	a
4 Terra Fame	98,350	a
5 Asteca	97,175	a
6 Tenessê	99,275	a
7	98,450	a
8	96,050	a
9	97,925	a
10	96,875	a
11	87,675	b
12	97,725	a
13	98,825	a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 3.** Estudo da viabilidade do pólen. A) Pólen viáveis (aumento 100x), B) Polens viáveis corados e pólen não viável (aumento de 400x), C) Pólen viável e D) Pólen não viável (aumento de 1000x).

Quanto à determinação do sistema reprodutivo, apenas as sementes comerciais utilizadas como controle germinaram, numa taxa de 84%. Como não houve germinação dos aquênios dos demais acessos, conclui-se que a gérbera é uma espécie de fecundação cruzada, sem indícios de apomixia. Por isso, não há necessidade de emasculas as flores hermafroditas para fins de cruzamento, conforma sugerido por Souza *et al* (2005).

## CONCLUSÃO

Para os acessos de gérbera avaliados e condições experimentais utilizadas, conclui-se que há possibilidade de realizar a hibridação entre acessos comerciais e não melhorados visto que estes apresentam o mesmo número de cromossomos e alta viabilidade e que não há a necessidade de realizar a emasculação visto que a gérbera é uma espécie de fecundação cruzada e sem indícios de ocorrência de apomixia.

## LITERATURA CITADA

BARROSO, G. M.. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Vol.3. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1991. 312p.

SOUZA, J. C.; MENEZES, A.C.P.; SILVA, A. F.; PAZ, C. D.; SÁ, P. G. Hibridação artificial e germinação de sementes de gérbera (*Gerbera jamesonii*) no semi-árido. In: **45º Congresso Brasileiro de Olericultura, 15º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 2º Congresso de Cultura de Tecidos**,2005, Fortaleza. *Anais...*Fortaleza, 2005, p.547.

KLOSS, W.E.; GEORGE, C.G.; SORGE, L.K. Dark disk color in the floer of *Gerbera hybrida* is determined by a dominant gene Dc. **HortScience**. v. 40, n. 7, p.1992-1994, 2005.

SANE, A.; GOWDA, J.V.N. [Online]. *Characterization of gerbera (*Gerbera jamesonii*) genotypes using morphological characters*. 2005.Homepage: [www.fao.org](http://www.fao.org)

## PALAVRAS-CHAVES:

*Gerbera jamesonii*; *Gerbera hybrida*; gérbera; pólen; cromossomos; geitonogamia; apomixia.

## Isolamento e cultivo de micrósporos e pólen de feijão: primeiros resultados.

Rodrigues, Lia Rosane<sup>1</sup>; Beauvalet, Cíntia Silva<sup>2</sup>; Mariath, Jorge Ernesto de Araujo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador IV da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Caixa Postal 44, Veranópolis, RS, Brasil, fone 54 3441 1374, e-mail: liarr@ufrgs.br. <sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Departamento de Botânica, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>3</sup>Professor Titular do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

### INTRODUÇÃO

Plantas haplóides ou duplo-haplóides de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.,  $2n=2x=22$ ) ainda não foram obtidas *in vitro*, pois as técnicas para haplodiploidização estão em uma condição preliminar para essa espécie (Croser *et al.*, 2006). Micrósporos e pólen imaturo estão presentes em anteras de botões florais de 2 a 2,5 mm (Rodrigues *et al.*, 2006a). Nesse momento do desenvolvimento dos botões, as células dos tecidos estaminais (diplóides) estão em plena condição de proliferar-se *in vitro*, tal como registrado em *Cajanus cajan* (Vasil, 1967), *Medicago sativa* (Saunders & Bingham, 1972) e *Glycine max* (Rodrigues *et al.*, 2005), podendo inibir a resposta das células haplóides.

Várias outras limitações também são associadas ao cultivo de anteras (Rodrigues *et al.*, 2004), por isso, o cultivo de micrósporos isolados oferece melhores condições para a indução de micrósporos e pólen imaturo à embriogênese. Porém, ainda não há registro do emprego desse sistema em feijão. Por isso, foi executada uma seqüência de experimentos com o objetivo de estabelecer condições apropriadas para o isolamento e o cultivo de micrósporos e pólen imaturo de feijão.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Material vegetal:

Plantas da cultivar BR IPAGRO-44 foram semeadas em vasos e mantidas sob cuidados fitotécnicos em casa de vegetação (latitude 30°03'S, longitude 51°10'W, variação térmica de 14 a 30°C). No florescimento, botões florais foram coletados e tiveram suas brácteas removidas para seleção ao estereomicroscópio de acordo com o comprimento. Em fluxo estéril, botões de comprimento 2-2,5 mm foram desinfestados de acordo com Rodrigues *et al.* (2006b) e conservados sobre papel filtro autoclavado umedecido com água destilada esterilizada.

#### Teste de isolamento:

Os tratamentos constituíram-se no modo de preparo dos tecidos para o procedimento de isolamento: Imersos em meio nutritivo líquido, 20 botões foram seccionados transversalmente em 5 a 6 fatias e outros 20 botões foram divididos longitudinalmente em duas partes. Nos dois casos, sépalas, pétalas e gineceu não foram retirados. No tratamento controle, androceus foram excisados de 20 botões e reunidos em uma gota de meio. Foi usado o meio PTA-15 com pH 6 (Skinner & Liang, 1996), com a concentração previamente testada de 110 g sacarose L<sup>-1</sup>. Após o preparo de cada conjunto de botões, procedeu-se à maceração com bastão de vidro, acréscimo de 4 mL de meio líquido dentro de um erlenmeyer 50 mL e agitação em agitador magnético por 4 min. O extrato bruto foi submetido à filtração em malha de náilon com poros de 37 µm e tripla lavagem no mesmo meio através das etapas: centrifugação a 2000 rpm por 3 min (condição previamente testada); descarte de 700 µL do meio; ressuspensão do pélete em mesmo volume de meio. O procedimento foi repetido com outros 60 botões com o acréscimo de uma filtração adicional em malha com poros de 56 µm prévia à filtração em 37 µm. Os isolados obtidos de cada combinação de tratamentos (3 preparos dos botões x 2 modos de filtração) foram divididos em 4 alíquotas de 1 mL para a avaliação da qualidade da suspensão, totalizando 24 alíquotas. A partir de cada alíquota, 50 µL foram gotejados sobre hemocitômetro para determinação da densidade da suspensão (nº de células mL<sup>-1</sup> de meio). Em seguida, foi feita a amostragem para determinação de viabilidade das células em cultivo:

centrifugação por 4 min; remoção de 740  $\mu\text{L}$  do meio; retirada de 10  $\mu\text{L}$  do pélete fresco e mistura a 10  $\mu\text{L}$  do corante azul de algodão (AA) sobre lâmina de vidro; cobertura com lamínula; quantificação da reação positiva e negativa ao corante em microscópio óptico em campo claro. O pélete restante foi fixado em 1 mL de solução Farmer (etanol: ácido acético glacial, 3:1) por 12 a 24 h a temperatura ambiente e foi congelado. Para a quantificação das categorias em cultivo, acrescentou-se 120  $\mu\text{L}$  de carmim acético 0,5% a cada alíquota congelada, 24 h antes da análise ao microscópio. Os constituintes das suspensões foram classificados de acordo com a morfologia nas categorias: tétrades, micrósporos íntegros, pólen imaturo íntegro, pólen maduro íntegro, micrósporos e pólen plasmolizados, micrósporos e pólen enucleados; micrósporos e pólen rompidos; células estaminais rompidas (denominadas de debris). Aproximadamente 150 observações foram feitas por lâmina, totalizando 3754 observações.

#### Cultivo *in vitro*:

Uma vez definida uma técnica de isolamento, o efeito de concentração de sacarose e sais foi testado em meio PTA-15 (Skinner e Liang, 1996) mas não ocorreram divisões celulares associáveis ao desvio da rota gametofítica. Por isso, a partir de 108 botões de 2 a 2,5 mm da mesma cultivar, foram isolados micrósporos em meio líquido Nitsch & Nitsch (1970) com 90 g sacarose  $\text{L}^{-1}$ , pH 6. Após a tripla lavagem, o pélete foi ressuspenso no mesmo meio, acrescido de diferentes tipos e concentrações de fitoreguladores: 1<sup>o</sup>, sem reguladores; 2<sup>o</sup>, 1 mg ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)  $\text{L}^{-1}$ ; 3<sup>o</sup>, 1 mg 2,4-D + 1 mg cinetina (KIN)  $\text{L}^{-1}$ ; 4<sup>o</sup>, 1 mg ácido triclorofenoxiacético (2,4,5-T)  $\text{L}^{-1}$ ; and 5<sup>o</sup>, 1 mg 2,4,5-T + 1 mg KIN  $\text{L}^{-1}$ . A densidade de cultivo foi ajustada para 50000 células  $\text{mL}^{-1}$  e alíquotas de 600  $\mu\text{L}$  foram estabelecidas em placas Corning<sup>®</sup> de 24 poços com 4 repetições por tratamento, totalizando 20 alíquotas. Foram estabelecidas, aproximadamente, 600000 células.

Os cultivos foram mantidos no escuro a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Amostras de 100  $\mu\text{L}$  foram tomadas de cada alíquota nos dias 0, 3, 6 e 9 *in vitro*, fixadas em solução de Farmer e analisadas em carmim acético ao microscópio de modo similar ao teste de isolamento.

Respostas ao cultivo foram quantificadas em análise serial ao microscópio. Aproximadamente 200 observações foram tomadas por lâmina, totalizando 13229 registros.

#### Procedimentos estatísticos:

Os dados foram submetidos em números absolutos aos testes de normalidade, igualdade das variâncias e análise da variância paramétrica. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Teste de isolamento:

A densidade das suspensões de todos os tratamentos variou de 17500 a 40000 células, sem diferença significativa entre tratamentos (Tabela 1). A densidade média da solução foi de 30000 células, indicando ser necessário o processamento de maior número de botões para atingir uma densidade próxima das recomendadas, entre 10000 ( $10^4$ ) e 100000 ( $10^5$ ).

A reação de micrósporos e pólen frescos de feijão ao AA é uma técnica acessível para determinação de viabilidade, apesar do risco de superestimativa registrado em observações prévias. Em ensaio preliminar com pólen da mesma cultivar *in vivo*, houve 87% de reação positiva ao AA. Nesse trabalho, a coloração do material isolado ao AA variou em torno de 71 a 94%, indicando que o procedimento de isolamento não alterou a capacidade de reação das células ao corante.

Todas as suspensões apresentaram 70 a 90% de micrósporos e pólen íntegros, mas os melhores resultados foram obtidos com dupla filtração, exceto no que se referiu ao número de micrósporos e pólen morfológicamente íntegros. Ainda que essa categoria tenha sido significativamente menor mediante dupla filtração, a viabilidade foi significativamente superior em suspensões assim obtidas.

Foi observada grande quantidade de conteúdo citoplasmático de células estaminais extravasado nas suspensões obtidas de botões seccionados. Contudo, não foram encontradas células estaminais inteiras e os debris corresponderam apenas a células

rompidas. A combinação de tratamentos mais vantajosa para isolamento foi a dupla filtração de androceus individualizados, a qual corresponde à tarefa mais laboriosa e demorada.

Tabela 1. Análise de variância paramétrica de três fatores avaliados no teste de isolamento.

Fatores		Densidade (células mL <sup>-1</sup> )		Viabilidade (%)		Íntegros (%)			
		Média	Pr>F	Média	Pr>F	Média	Pr>F		
Filtração	Simples	27500	0,5733	79	b	<b>0,0054</b>	83	a	<b>0,0224</b>
	Dupla	32500		90	a		77	b	
Tecido	Androceus	37500	0,3913	79		0,1289	90	a	<b>&lt;0,001</b>
	Botão dividido	22500		88			79	b	
	Botão seccionado	30000		87			71	c	
CV%		23,76		10,28		7,02			

#### Cultivo *in vitro*:

Ao longo do cultivo, foi observado, sem quantificação, o aumento de tamanho de parte dos micrósporos e do pólen imaturo. Nas condições testadas, uma fase multinucleada não esteve associada à embriogênese, uma vez que núcleos extras ocorreram também no dia 0. Também foram observados protoplastos espontâneos que podem ser resultantes da quebra da parede dos micrósporos durante o procedimento de isolamento.

Ao longo de 9 dias *in vitro*, a degradação das células em cultivo aumentou significativamente, incluindo a presença de enucleados e plasmolizados. O tempo *in vitro* e as combinações de fitorreguladores não afetaram a proporção de rompidos. A categoria atípicos (incluindo pólen com núcleos simétricos, multinucleados e células com nucléolos extranumerários) foi significativamente menos numerosa nos meios contendo 2,4-D, independente da presença de KIN, correspondendo a 0,8%. Nos meios contendo 2,4,5-T, 2,6% das observações corresponderam a essa categoria.

Em todos os meios testados, exceto naquele contendo 1 mg 2,4-D L<sup>-1</sup>, foram observadas no mínimo uma estrutura multicelular resultante de divisões de micrósporos ou de pólen imaturo. Aos 6 dias *in vitro*, uma estrutura de 4 células foi registrada em 1 mg 2,4,5-T L<sup>-1</sup>. Aos 9 dias, quatro estruturas foram registradas. A ausência de resquílios da parede do pólen nessas estruturas sugere que elas se originam de protoplastos ou que a parede rompe-se ainda na primeira divisão atípica. Tais estruturas não podem ser confundidas com tétrades que tenham ocasionalmente ingressado *in vitro*, porque não são oferecidas condições para dissociação da calose e porque há adesão entre as células, indicando que elas originaram-se da mesma divisão.

Os trabalhos em que a indução à embriogênese do micrósporo de feijão foi testada por meio de cultivo de anteras apresentaram várias limitações (Peters *et al.*, 1977; Bajaj & Singh, 1980). Por isso, os eventos registrados nesse trabalho são inéditos e indicam que micrósporos de feijão podem dividir-se *in vitro*, desde que oferecidas condições de cultivo adequadas. Os procedimentos desenvolvidos nessa laboriosa seqüência de ensaios permitiram, de forma inédita, o cultivo de micrósporos e pólen imaturo de feijão na ausência de tecidos estaminais, abrindo novas perspectivas para a obtenção de haplóides e duplo-haplóides e para a manipulação genética *in vitro* dessa espécie.

#### CONCLUSÃO

A dupla filtração de androceus individualizados gerou suspensões de micrósporos de feijão com características satisfatórias quanto à viabilidade, densidade e pureza. Divisões celulares ocorreram em pequena proporção dos micrósporos na maioria das combinações de fitorreguladores testadas em meio líquido. Todos os registros são inéditos para a espécie e abrem perspectivas para uma nova abordagem à embriogênese do micrósporo de feijão.



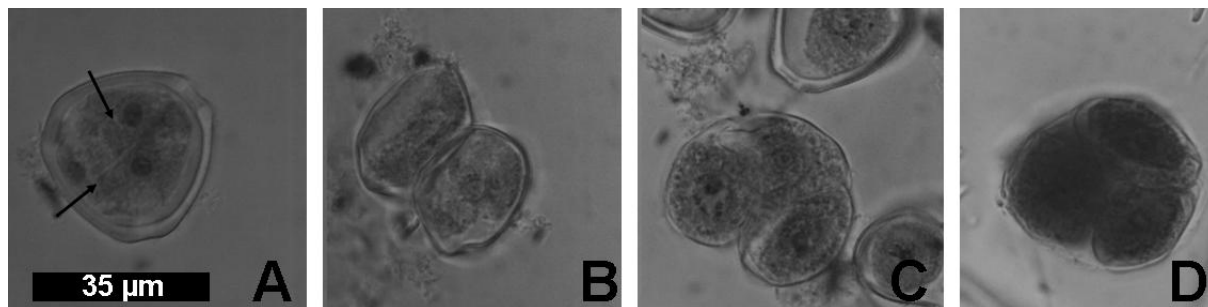


Figura 1. Divisões celulares registradas no cultivo *in vitro*. A) Pólen com 3 células. As setas apontam espaços intercelulares. B) Duas células resultantes de uma mesma divisão celular, possivelmente a partir de protoplasto de micrósporo. C) Estrutura com 3 células aos 9 dias de cultivo. D) Estrutura com 4 células aos 6 dias de cultivo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y.P.S.; SINGH, H. *In vitro* induction of androgenesis in mung bean *Phaseolus aureous* L. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 18, p. 1316-1318, 1980.

CROSER, J.S.; LÜNSDOLF, M.M.; DAVIES, P.A.; CLARKE, H.J.; BAYLISS, K.L.; MALLIKARJUNA, N.; SIDDIQUE, K.H.M. Toward doubled haploid production in the Fabaceae: progress, constraints, and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, p. 139-157, 2006.

NITSCH, J.P.; NITSCH, C. Obtention de plantes haploids à partir de pollen. **Bulletin de la Societe Botanique de France**, v. 117, p. 339-360, 1970.

PETERS, J.E.; CROCOMO, O.J.; SHARP, W.R.; PADDOCK, E.F.; TEGENKAMP, I.; TEGENKAMP, T. Haploid callus cells from anthers of *Phaseolus vulgaris*. **Phytomorphology**, v. 27, p. 89-75, 1977.

RODRIGUES, L.R.; BEAUVALET, C.S.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A. Etapas da androsporogênese e da androgametogênese de *Phaseolus vulgaris* L. de acordo com o tamanho do botão floral. In: 57<sup>o</sup> CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 2006, Gramado. **CD Resumos**. Gramado: Sociedade Brasileira de Botânica, 2006a, resumo 2530.

RODRIGUES, L.R.; FORTE, B.C.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Isolation and culture of soybean microspores and pollen grains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p. 537-545, 2006b.

RODRIGUES, L.R.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Cultivo de anteras x cultivo de micrósporos isolados: dez razões para uma nova abordagem da embriogênese do micrósporo. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, p. 50-53, 2004.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Histology of embryogenic responses in soybean anther culture. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.80, p. 129-137, 2005.

SAUNDERS, J.W.; BINGHAM, E.T. Production of alfalfa plants from callus tissue. **Crop Science**, v. 12, p. 804-808, 1972.

SKINNER, D.Z.; LIANG, G.H. Haploidy in alfalfa. In: MOHAN, S.J.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (eds) **In vitro Haploid Production in Higher Plants 3: Important Selected Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. pp 365-375.

VASIL, I.K. Physiology and cytology of anther development. **Biological Review**, v.42, p.327-373, 1967.

PALAVRAS-CHAVES:

*Phaseolus vulgaris*; embriogênese; androgênese; haplodiploidização; duplo-haplóide.

## Pré-tratamento a 4°C no cultivo de micrósporos isolados de soja.

Rodrigues, Lia Rosane<sup>1</sup>; Mariath, Jorge Ernesto de Araujo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador IV da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Caixa Postal 44, Veranópolis, RS, Brasil, fone 54 3441 1374, e-mail: liarr@ufrgs.br. <sup>2</sup>Professor Titular do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

### INTRODUÇÃO

A haplodiploidização é uma ferramenta biotecnológica ainda indisponível para o melhoramento da soja (*Glycine max*) (Croser *et al.*, 2006). Recentemente, Rodrigues *et al.* (2006) desenvolveram um procedimento inédito para isolamento de micrósporos e pólen imaturo dessa espécie, gerando suspensões com densidade e pureza satisfatórias ao estabelecimento de cultivos para obtenção de plantas haplóides e duplo-haplóides. Porém, pequena proporção de estruturas multicelulares foi obtida em cultivos preliminares com a cultivar BRSMT Uirapuru nesse sistema.

O cultivo de micrósporos isolados permite o teste de condições de cultivo adequadas à embriogênese do micrósporo na ausência de tecidos estaminais, evitando a proliferação preferencial de células diplóides conforme registrado no cultivo de anteras de soja (Rodrigues *et al.*, 2005a).

No cultivo de anteras de soja, estruturas embriogênicas de origem haplóide foram obtidas apenas a partir da geração segregante F<sub>2</sub> do cruzamento entre BRQ96-3065 e BRSMG-Liderança (Rodrigues *et al.*, 2004). As anteras de todas as demais cultivares brasileiras e americanas testadas apenas originaram estruturas embriogênicas de origem estaminal, ou seja, diplóide (Rodrigues *et al.*, 2005a).

Em algumas espécies, uma das respostas embriogênicas dos micrósporos é a formação de núcleos adicionais, em torno dos quais se organizariam novas células separadas por membranas, formando estruturas multicelulares as quais podem originar embriões e plantas em adequadas condições de cultivo (Reynolds, 1997). Em soja, o armazenamento de botões florais a 4°C no escuro aumentou significativamente a proporção de pólen com núcleos adicionais (Rodrigues *et al.*, 2005b). Por isso, foi executado um experimento com o objetivo de testar o efeito do pré-tratamento no cultivo de micrósporos isolados de duas cultivares consideradas responsivas, verificando a hipótese de que pólen multinucleado sofreria celularização para originar as estruturas multicelulares anteriormente registradas. Além disso, foi testado se o pré-tratamento também aumenta a proporção de micrósporos de soja responsivos, tal como registrado em cereais (Jähne & Lörz, 1995) e em canola (Gu *et al.*, 2004).

### MATERIAL E MÉTODOS

Plantas das cultivares BRSMT Uirapuru and BRSMG Liderança foram semeadas em vasos e mantidas sob cuidados fitotécnicos em casa de vegetação (latitude 30°03'S, longitude 51°10'W, variação térmica de 14 a 30°C). No florescimento, inflorescências imaturas foram coletadas. Em parte do material, micrósporos foram imediatamente isolados de botões florais de 3 mm e estabelecidos *in vitro*. Os micrósporos de outra parte do material vegetal foram estabelecidos *in vitro* após armazenamento das inflorescências por 14 dias a 4°C no escuro dentro de recipientes plásticos contendo papel filtro umedecido. Botões tratados e não tratados foram submetidos à desinfestação e ao procedimento de isolamento em fluxo estéril de acordo com Rodrigues *et al.* (2006). Foi empregado meio de cultivo líquido PTA-15 com 90 g sacarose L<sup>-1</sup> e pH 6 (Skinner & Liang 1996) sem reguladores de crescimento. A suspensão foi fracionada em alíquotas de 500 µL, cada uma contendo em torno de 25000 células, estabelecidas em placas Corning® de 24 poços com 5 repetições e incubadas no escuro a 26±1°C. Aproximadamente 5x10<sup>5</sup> células foram estabelecidas *in vitro*.



Amostras das suspensões iniciais (com e sem pré-tratamento) foram fixadas em solução de Farmer (etanol: ácido acético glacial, 3:1) por 12-24 h a temperatura ambiente; armazenadas em congelador; coradas em carmim acético 0,5%; gotejadas sobre lâminas de vidro; cobertas com lamínula; seladas com esmalte; e levadas ao microscópio para avaliação e quantificação dos constituintes em campo claro. Os constituintes das suspensões iniciais foram classificados de acordo com a morfologia nas categorias: tétrades, micrósporos íntegros, pólen imaturo (uninucleado) íntegro, pólen maduro (binucleado) íntegro, micrósporos e pólen plasmolizados, micrósporos e pólen enucleados; micrósporos e pólen rompidos.

As respostas ao cultivo foram analisadas ao microscópio a partir de amostras coletadas aos 14, 21 e 28 dias (exceto suspensões pré-tratadas, que foram descartadas antes dos 28 dias devido ao aparecimento de contaminação fúngica). As amostras foram preparadas e analisadas do mesmo modo que as suspensões iniciais.

Aproximadamente 200 observações foram feitas por lâmina, totalizando 3577 observações.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes do cultivo, as suspensões de Uirapuru apresentaram 41% de micrósporos, 11% de pólen imaturo (sendo ambas as categorias consideradas responsivas), 26% de pólen maduro e 22% de degradados ou atípicos. Liderança apresentou 60% de micrósporos, 19% de pólen imaturo, 13% de pólen maduro e 8% de degradados ou atípicos.

Protoplastos de micrósporos e pólen ocorreram independentemente do tratamento e do tempo *in vitro*. Em outras espécies, protoplastos de micrósporos e pólen são obtidos com a exposição a agentes osmóticos ou enzimas, que podem agir tanto sobre a calose na fase de tétrade, quanto sobre a exina e a intina da parede, em estádios mais avançados. Tais células podem responder ao cultivo, pois protoplastos de micrósporos de canola apresentaram divisões celulares *in vitro* (Sun *et al.*, 1999).

Após 28 dias *in vitro*, a proporção de micrósporos e de pólen íntegros em Uirapuru e Liderança decresceu de 78 e 92% para 50 e 42%, respectivamente. A maioria dessas células tomou uma rota degradativa e plasmolizou. Outra pequena proporção apresentou um destino divergente da rota gametofítica.

O pólen com núcleos simétricos é incapacitado ao processo de fecundação devido à ausência das células vegetativa e generativa, pois é resultante de divisão atípica do micrósporo, atribuída a inúmeros fatores, principalmente à expressão de alelos defectivos na geração gametofítica (Wilson & Yang, 2004). Foi registrado 1,7 e 0,5% de pólen simétrico nas suspensões de Uirapuru e Liderança, respectivamente, antes do cultivo. Diferentemente do que foi registrado nas cultivares IAS-5 e MG/BR 46 Conquista (Rodrigues *et al.*, 2005b), a proporção de pólen de Liderança com núcleos simétricos foi similar nos dois tratamentos. Nos cultivos de Uirapuru, material pré-tratado apresentou proporção superior de pólen simétrico (2,4% contra 0,9% em material não tratado).

Em ambos os tratamentos, alguns micrósporos apresentaram aumento no tamanho, coloração citoplasmática mais intensa e parede fina, provavelmente distendida. O aumento do volume celular dos micrósporos já foi registrado em várias espécies, sendo associado ao início da resposta embriogênica desde as observações de Sangwan & Norrel (1975).

Diferentemente do que foi registrado nas cultivares IAS-5 and MG/BR 46 Conquista (Rodrigues *et al.*, 2005b), não foram observados grãos de pólen multinucleados em botões pré-tratados antes do cultivo. Essa categoria correspondeu a 0,5% das observações *in vitro* apresentando características similares as registradas anteriormente.

Uma pequena proporção das células dividiu-se em resposta ao cultivo, correspondendo a 0,1% do total de observações. Em ambas as cultivares, foram registrados grãos de pólen com até quatro células envolvidas pela parede de exina, ainda que bastante distendida. Na cultivar Liderança, também foram registradas estruturas multicelulares com até cinco células, assim denominadas pela ausência da parede.

Tais grãos de pólen e estruturas multicelulares apresentaram núcleos diferentes dos núcleos das células generativa e vegetativa. As estruturas multicelulares podem ter derivado tanto de divisões celulares de protoplastos de micrósporos quanto da ruptura da parede de exina mediante o aumento do número de células, do mesmo modo como foi registrado em canola por Ilic-Grubor *et al.* (1998).

As cultivares apresentaram respostas contrastantes em relação à formação de estruturas multicelulares. Em Uirapuru, somente micrósporos sem pré-tratamento originaram pólen multicelular somando 0,3% do total de observações dessa cultivar. Em Liderança, micrósporos de ambos os tratamentos formaram 0,1% e 0,3% do total de observações na cultivar.

A ocorrência de pólen e estruturas multicelulares não foi associada ao pré-tratamento. A proporção com que eles ocorreram também não pode ser associada à de pólen multinucleado. Assim, não é possível afirmar que a condição de pólen multinucleado precede a de multicelular.

A ocorrência de divisões celulares *in vitro* abre perspectivas para potencialização desse sistema, que requererá a continuidade dos trabalhos para otimização das condições de cultivo, até que seja possível maior proporção de células responsivas e a obtenção inédita de estádios mais avançados do desenvolvimento embriogênico *in vitro*.

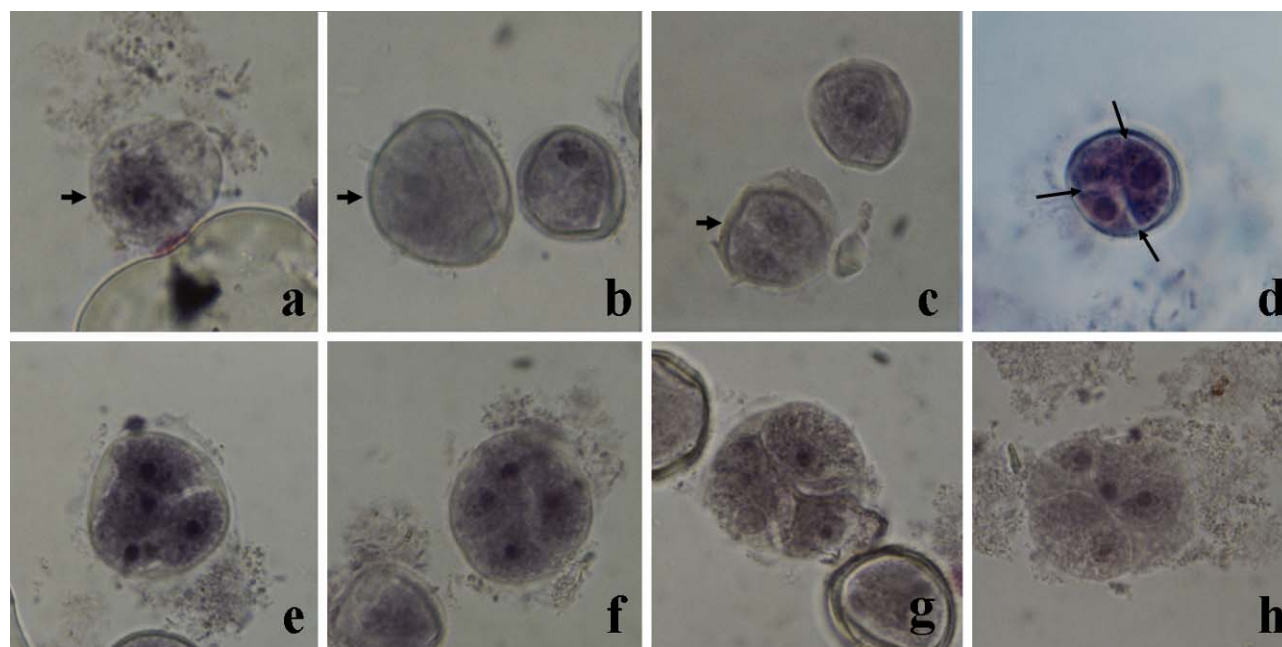


Figura 1. Observações de micrósporos e pólen isolados das cultivares de soja BRSMG-Liderança (a, b, d, f, g, h) e BRSMT Uirapuru (c, e) aos sete dias de cultivo. a) Protoplasto de pólen imaturo oriundo de botão sem pré-tratamento. b) Aumento do volume celular em micrósporo (seta) de material sem pré-tratamento. c) Núcleos simétricos em pólen sem pré-tratamento. d) Pólen com três células a partir de material não pré-tratado. As setas destacam a separação entre citoplasmas. e) Pólen com quatro células a partir de material não pré-tratado. Destaca-se a distensão da parede devido ao aumento do volume e número de células. f) Estrutura de quatro células a partir de material sem pré-tratamento. g) Estrutura de quatro células a partir de material pré-tratado. h) Estrutura de cinco células a partir de material pré-tratado. Em a, e, f e h observam-se conteúdos citoplasmáticos extravasados oriundos do processo de isolamento e de ruptura durante o cultivo.

## CONCLUSÃO

A maioria dos micrósporos e do pólen imaturo tomou uma rota degradativa por plasmólise. Pequena proporção apresentou aumento de tamanho e divisões celulares *in vitro*, formando pólen multicelular (até 4 células dentro da parede) e estruturas multicelulares

(até 5 células sem parede). Não houve indícios de que o pólen multinucleado originou pólen e estruturas multicelulares por meio de celularização após pré-tratamento.

## REFERÊNCIAS

CROSER, J.S.; LÜNSDOLF, M.M.; DAVIES, P.A.; CLARKE, H.J.; BAYLISS, K.L.; MALLIKARJUNA, N.; SIDDIQUE, K.H.M. Toward doubled haploid production in the Fabaceae: progress, constraints, and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, p. 139-157, 2006.

GU, H.H.; HAGBERG, P.; ZHOU, W.J. Cold pretreatment enhances microspore embryogenesis in oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 137-143, 2004.

ILIC-GRUBOR, K.; ATTREE, S.W.; FOWKE, L.C. Induction of microspore-derived embryos of *Brassica napus* L. with polyethylene glycol (PEG) as osmoticum in a low sucrose medium. **Plant Cell Reports**, v. 17, p. 329-333, 1998.

JÄHNE, A.; LÖRZ, H. Cereal microspore culture. **Plant Science**, v.109, p. 1-12, 1995.

REYNOLDS, T.L. Pollen embryogenesis. **Plant Molecular Biology**, v. 33, p. 1-10, 1997.

RODRIGUES, L.R.; FORTE, B.C.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Isolation and culture of soybean microspores and pollen grains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 537-545, 2006.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Histology of embryogenic responses in soybean anther culture. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 80, p. 129-137, 2005a.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; IRANÇO, L.B.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Anther culture and cold treatment of floral buds increased symmetrical and extra nuclei frequencies in soybean pollen grains. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 81, p. 101-104, 2005b.

RODRIGUES, L.R.; TERRA, T.F.; BERED, F.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Origin of embryo-like structures in soybean anther culture investigated using SSR marker. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 77, p. 287-289, 2004.

SANGWAN, R.S.; NOREEL, B. Induction of plants from pollen grains of *Petunia* cultured *in vitro*. **Nature**, v. 257, p. 222-224, 1975.

SKINNER, D.Z.; LIANG, G.H. Haploidy in alfalfa. In: MOHAN, S.J.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (eds) **In vitro Haploid Production in Higher Plants 3: Important Selected Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. pp 365-375.

SUN, M.; KIEFT, H.; ZHOU, C.; VAN LAMMEREN, A. A co-culture system leads to the formation of microcalli derived from microspore protoplasts of *Brassica napus* L. cv. Topas. **Protoplasma**, v. 208, p. 265-274, 1999.

WILSON, Z.A.; YANG, C.Y. Plant gametogenesis: conservation and contrasts in development. **Reproduction**, v. 128, p. 483-492, 2004.

PALAVRAS-CHAVES:

*Glycine max*, androgênese, embriogênese, pré-tratamento, haplodiploidização

## Caracterização molecular e morfológica de espécies de Helicônias.

Beck, Ana Paula Araujo<sup>1</sup>; Vivian Loges<sup>2</sup>; Guimarães, Walma Nogueira Ramos<sup>3</sup>; Luciane Vilela Resende<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Aluna de graduação em Agronomia, estagiária do Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Agronomia (DEPA) UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6247, e-mail: titabeck@bol.com.br; <sup>2</sup> Professora Adjunta DEPA/UFRPE, Laboratório de Floricultura, e-mail: vloges@yahoo.com; <sup>3</sup> Bolsista de Pré-Doutorado/FACEPE do Laboratório de Floricultura, e-mail: walmalano@gmail.com; <sup>4</sup> Professora Adjunta DEPA/UFRPE, Laboratório de Biotecnologia, e-mail: luciane@ufrpe.br

### INTRODUÇÃO

Entre as estratégias utilizadas para caracterização de materiais vegetais está a utilização de marcadores moleculares. De acordo com Milach (2004), as informações disponibilizadas a partir de marcadores moleculares em um programa de melhoramento possibilitam dentre outras aplicações, a identificação e discriminação de genótipos superiores para uma determinada característica e a quantificação da variabilidade genética existente ao nível de DNA.

Muitas espécies de helicônias são identificadas a partir de diferenças morfológicas, como porte, e coloração de suas flores e brácteas. Essas características podem ser influenciadas por isolamento geográfico e características ambientais, como luz e nutrientes (Kumar et al., 1998). Por exemplo, clones de *H. psittacorum* cultivados próximos podem variar quanto ao florescimento, tamanho e cor das brácteas, e durabilidade pós-colheita (Donselman & Broschat, 1986). Nesse sentido, a utilização de marcadores moleculares, os quais permitem acessar a variabilidade ao nível do DNA, juntamente com avaliações de caracteres morfológicos de interesse agrônomo, surgem como uma alternativa eficiente para caracterização das espécies.

Este trabalho teve por objetivo caracterizar 22 espécies presentes na Coleção Germoplasma de Helicônias da Universidade Federal Rural de Pernambuco, utilizando marcadores moleculares e morfológicos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo foram utilizados 22 genótipos (Tabela 1), provenientes da Coleção de Germoplasma de Helicônias da UFRPE.

Tabela 1. Relação dos genótipos da Coleção Germoplasma de Helicônias da UFRPE. Recife - PE, 2007.

Denominação	Genótipos*
1	<i>H. psittacorum</i> L.f x <i>H. spathorcircinata</i> Aristeguieta 'Golden Torch Adrian'
2	<i>H. psittacorum</i> L.f x <i>H. spathorcircinata</i> Aristeguieta 'Alan Carle'
3	<i>H. psittacorum</i> L.f. 'Strawberries & Cream'
4	<i>H. psittacorum</i> L.f. 'Suriname Sassy'
5	<i>H. psittacorum</i> L.f. 'Red Opal'
6	<i>H. pseudoaemygdiana</i> L. Emygdio & E. Santos
7	<i>H. psittacorum</i> L.f. 'Red Gold'
8	<i>Heliconia x nickeriensis</i> Maas & de Rooij
9	<i>H. latispatha</i> Bentham 'Red-Yellow Gyro'
10	<i>H. orthotricha</i> 'She'
13	<i>H. rostrata</i> Ruiz & Pávon (10 dias de durabilidade pós-colheita)
14	<i>H. rostrata</i> Ruiz & Pávon (3 dias de durabilidade pós-colheita)
15	<i>H. wagneriana</i> Peters
16	<i>H. bihai</i> (L.) L. 'Kamehameha'
18	<i>H. stricta</i> Huber 'Fire Bird'
20	<i>H. episcopalis</i> Vellozo

21	<i>H. collinsiana</i> Griggs
22	<i>H. rostrata</i> Ruiz & Pávon
23	<i>H. caribaea</i> Lamark x <i>H. bihai</i> (L.) L. 'Carib Flame'
24	<i>H. stricta</i> 'Huber'
25	<i>H. psittacorum</i> L.f x <i>H. spathorcircinata</i> 'Golden Torch'
26	<i>H. bihai</i>

\*Identificação dos genótipos baseada em Berry & Kress (1991).

O DNA genômico foi extraído de folhas, utilizando o protocolo de Glazebrook (1998) com algumas modificações. Um conjunto de 37 primers foi testado, e 10 selecionados para as análises (Tabela 2). As reações de ISSR foram preparadas para um volume final de 25 µL, contendo a solução-tampão da enzima Taq DNA polimerase (20 mM Tris-HCl e 50 mM KCl), 0,2 mM de cada dNTP, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 25 µM de primer; 20 ng de DNA e 1,5 unidade da enzima Taq DNA polimerase.

As amplificações foram feitas em um termociclador PTC100 MJ Research, seguindo uma etapa de desnaturação de 95 °C por 15 minutos, 30 segundos a 94 °C, 45 segundos, onde a temperatura de anelamento variou para cada primer (Tabela 2), 2 minutos a 72 °C, por 30 ou 35 ciclos seguido de uma extensão final a 72 °C por 7 minutos. Os produtos da amplificação foram separados em gel de agarose a 1,5%, corados em Syber Gold (Invitrogen) e visualizados em transluminador UV. Os tamanhos dos fragmentos foram determinados utilizando-se o sistema de Fotodocumentação Vilber Lourmart, comparando-se com o padrão de peso molecular de 100 pares de base (DNA Ladder, Invitrogen™).

Tabela 2. Seqüência dos 10 primers selecionados, temperatura de anelamento e número de ciclos utilizados nas reações de amplificação dos genótipos da Coleção de Germoplasma de Helicônias da UFRPE. Recife - PE, 2007.

Primer	Seqüência*	Temperatura de Anelamento	Número de Ciclos
003	CTC TCT CTC TCT CTC TG	50°C	35
813	CTC TCT CTC TCT CTC TT	55°C	30
817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	55°C	35
820	GTG TGT GTG TGT GTG TC	50°C	35
834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	50°C	35
845	CTC TCT CTC TCT CTC TRG	50°C	35
862	AGC AGC AGC AGC AGC AGC	50°C	30
881	GGG TGG GGT GGG GTG	50°C	35
888	BDB CAC ACA CAC ACA CA	50°C	30
890	VHV GTG TGT GTG TGT GT	50°C	35

\*Degeneração de acordo com a IUPAC (Macvetor, 2007).

A análise dos dados foi feita de acordo com o sistema binário, usando (1) para a presença e (0) para a ausência de bandas, sendo que bandas muito fracas e de difícil resolução não foram incluídas. Nas análises, a similaridade genética entre os genótipos foi estimada pelo coeficiente de Jaccard. Para agrupamento dos dados e construção do dendrograma foi utilizado o método da média das distâncias genéticas (UPGMA – Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Means), com o auxílio do programa NTSYSp versão 2.1 (Rohlf, 2000).

Foram estudados os seguintes caracteres morfológicos: Hábito de crescimento agrupado, com touceiras menores que 2.25 m<sup>2</sup>; Pêlos na folhas; Pêlos nas inflorescências; Cerosidade nas folhas; Cerosidade nas inflorescências; Folha verde escura; Perfilhamento interno; Inflorescência ereta; Inflorescência pendente. Tais caracteres foram obtidos aos 520 dias após o plantio. Para análise dos dados morfológicos foi gerada uma matriz binária (1) para presença e (0) para ausência.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos trinta e sete primers testados, foram selecionados 10 (Tabela 2), os quais geraram produtos de amplificação consistentes. Foram obtidos um total de 67 bandas, com

tamanhos que variaram de 410 a 2070 pares de base. O número de fragmentos polimórficos consistentes por primer variou de 3 (primer 862) a 10 (primer 834).

Por meio do dendrograma construído a partir da análise dos dados moleculares verificou-se a formação de cinco grupos, e similaridade média de 21% (Figura 1). Os agrupamentos são justificados pelo material biológico utilizado, o qual envolveu espécies distintas, híbridos interespecíficos e cultivares da mesma espécie. O fato deste material não ser ainda totalmente domesticado, ou seja, não participar de programas de melhoramento, que envolvam cruzamentos, justifica a baixa similaridade.

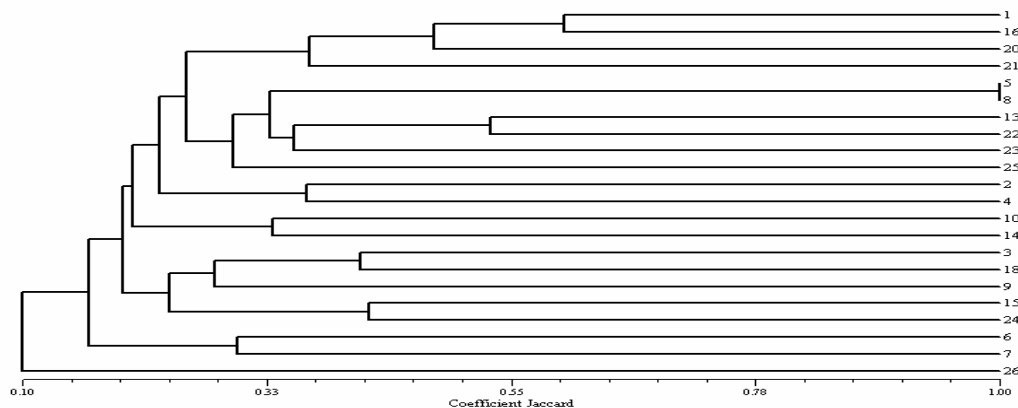


Figura 1. Similaridade entre 22 genótipos de Helicônias da Coleção de Germoplasma da UFRPE, utilizando marcadores de ISSR.

Na Figura 2, encontra-se o agrupamento das espécies estudadas, referente aos caracteres morfológicos. Considerando a similaridade média de 44%, houve a formação de dois grandes grupos. O grupo um está dividido em quatro subgrupos. O primeiro subgrupo formado pelos acessos 1, 2, 7, 26, 16, 10, 15, 23, os quais apresentam semelhantes o hábito de crescimento agrupado. No segundo subgrupo os acessos 3, 5 e 25, são cultivares e híbridos de *H. psittacorum*, os quais, apresentam como principal semelhança o perfilhamento interno e inflorescência ereta. O terceiro subgrupo onde estão presentes os acessos 9, 24, 20 e 18 são semelhantes quanto ao hábito de crescimento agrupado e inflorescência ereta. O acesso 6 presente no quarto subgrupo, apresenta o mesmo hábito de crescimento, diferindo por não apresentar folhas verde escura.

O segundo grupo apresentou dois subgrupos, o primeiro formado pelos acessos 13, 14, 22 que são semelhantes por apresentarem inflorescências pendentes e pêlos nas inflorescências, sendo estes, indivíduos de *H. rostrata*. O segundo subgrupo (acesso 21), constando apenas de um genótipo de *H. collinsiana*, apesar de apresentar o mesmo tipo de inflorescência, diferiu por apresentar cerosidade nas folhas.

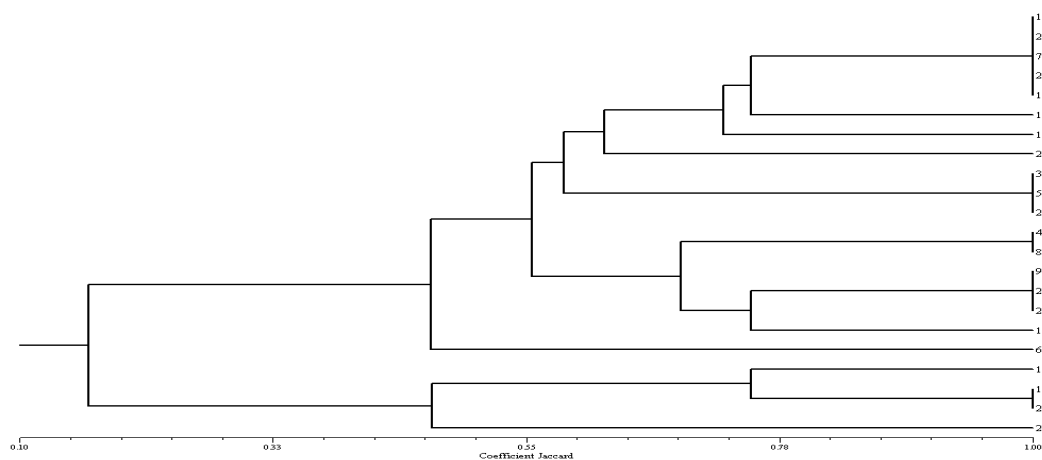


Figura 2. Similaridade entre 22 genótipos de Helicônias da Coleção de Germoplasma da UFRPE, utilizando marcadores morfológicos.

Portanto, pode-se dizer que não houve correlação entre os dados moleculares e morfológicos, a não ser por um acesso, que se repetiu em ambos os dendrogramas, sendo uma cultivar de *H. psittacorum* com *H. x nickeriensis*, segundo Berry & Kress (1991), justificando-se por se tratar de um cruzamento entre *H. psittacorum* x *H. marginata*.

## CONCLUSÕES

A partir dos dados moleculares observou-se uma alta variabilidade genética, e a formação de muitos ramos no dendrograma, esses nem sempre constando de espécies afins. Porém, quando se trata dos dados morfológicos, o não agrupamento de híbridos e cultivares da mesma espécie, justificando-se pela natureza dos dados, os quais levam em consideração caracteres de importância agrônômica, gerando agrupamentos independentemente da espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERRY, F.; KRESS, W. J. 1991. **Heliconia An Identification Guide**. 334p.

DONSELMAN, H.; BROCHAT, T. K. 1986. Production of *Heliconia psittacorum* for cut flowers in South Florida. **Bulletin Heliconia Society International**, 1(4): 4-6.

GLAZEBROOK, J.; DRENKARD, E.; PREUSS, D.; AUSUBEL, F. M. 1998. Use of cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) as genetic markers in *Arabidopsis thaliana*. In: MARTINEZ-ZAPATER, J.; SALINAS, J. (Eds.). **Methods in Molecular Biology: Arabidopsis Protocols**, v. 82. Humana Press, Totowa, NJ, pp 173–182.

KUMAR, P. P.; YAU, J. C. K.; GOH, C. J. 1998. Genetic analyses of *Heliconia* species and cultivars with randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. **Journal of America Society of Horticultural Science**, n. 123, v. 1, p. 91-97.

**MACVECTOR**, Inc. 2007 [Online]. Testing Ambiguous Primers With Degenerate Target Sequences: <http://www.macvector.com/KnowledgeBase/testingambiguousprimers.html>.

MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre, 141 p. 2004.

ROHLF, F. J. 2000. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Port Jefferson Applied Biostatistics, 38p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Heliconia*, caracterização, ISSR, marcadores morfológicos.

## <sup>1</sup> AGRADECIMENTOS

---

<sup>1</sup> Os autores agradecem aos produtores da RECIFLORA, FACEPE/PROMATA e ao BANCO DO NORDESTE, pela doação do material vegetal e recursos financeiros para execução do trabalho.

## Peso e viabilidade de rizomas de *Heliconia* spp.

Leite, Kessyana Pereira<sup>1</sup>; Guimarães, Walma Nogueira Ramos<sup>2</sup>; Verona, André Luiz<sup>3</sup>; Costa, Andreza Santos da<sup>4</sup>; Loges, Vivian<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Agronomia, DEPA, PIC-UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife – PE, (81) 3320-6250, e-mail: kessyanapereira@hotmail.com; <sup>2</sup>Bolsista de Pré-Doutorado/FACEPE, walmalamo@gmail.com; <sup>3</sup>Aluno de graduação em Agronomia, bolsista do Programa de Bolsas de Apoio Técnico a Projetos de Pesquisa Científica e Tecnológica - CNPq, DEPA-UFRPE, e-mail: gauchoufrpe@gmail.com; <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE-PE), e-mail: andreza.costa@gmail.com; <sup>5</sup>Professora Adjunta, coordenadora do Laboratório de Floricultura - DEPA/UFRPE, e-mail: vloges@yahoo.com.

### INTRODUÇÃO

As helicônias são plantas herbáceas, rizomatosas, perenes, com caule ereto, aéreo, formado por bainhas de folhas sobrepostas, denominadas pseudocaulé (Criley & Broschat, 1992). Podem ser propagadas de forma assexuada (vegetativamente) ou sexuada (sementes). A propagação por sementes não é adotada quando se deseja produzir flores de corte, devido à lenta ou reduzida germinação das sementes e ao longo período necessário para o desenvolvimento da touceira. Este tipo de propagação também torna-se inadequado quando se deseja manter as características fenotípicas da planta.

A propagação vegetativa, através de rizomas, é o método mais freqüentemente adotado, por manter as características da planta original e pelo rápido desenvolvimento das plantas. Rizomas são caules subterrâneos modificados que crescem horizontalmente e que servem como fonte de reserva, nutrientes e água para a planta (Hartmann et al., 1990). Apesar da propagação de helicônia por rizoma ser a forma mais utilizada, percebe-se a morte de rizomas quando plantados diretamente no campo (Costa et al., 2004). Rizomas maiores ou com muitas gemas nem sempre são os melhores para plantio. Isso porque rizomas grandes já podem ter perfilhado e então não terão tantas gemas, porém pequenos não tem reservas suficientes para perfilharem. A variação do perfilhamento em helicônia está associada às características genéticas, mas também pode ser influenciada por outros fatores como condições climáticas (Geertsen, 1989; Fernandes, 2000). Devido ao crescimento das áreas de cultivo de helicônias em resposta ao incremento do agronegócio de flores tropicais, esse trabalho teve como objetivo avaliar o peso e viabilidade de rizomas plantados diretamente no campo de espécies de helicônia da Coleção de Germoplasma de Helicônias de UFRPE.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado em janeiro de 2007 na Coleção de Germoplasma de Helicônias da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no município de Camaragibe-PE, Aldeia Km 13, latitude sul 7°56'33", longitude oeste 35°01'50" e 100 m de altitude. Os seguintes genótipos foram plantados: *H. bihai* I; *H. bihai* II, *H. bihai* (L.) L. cv. Nappy Yellow, *H. caribaea brazilian* bomber, *H. caribaea* Lamark x *H. bihai* (L.) L. cv. Carib Flame, *H. collinsiana* Griggs, *H. episcopalis* Vellozo, *H. latispatha* (amarela), *H. latispatha* Benth. cv. Red-Yellow Gyro, *H. pendula*, *H. rauliniana* Barreiros, *H. rostrata*, *H. rostrata* Ruiz & Pavón (10 dias de durabilidade), *H. stricta* I, *H. stricta* II, *H. stricta* III, *H. tagami*, *H. wagneriana*, *H. x sarapiquensis*, *Heliconia* I, *Heliconia* III, *Heliconia* VIII.

Os rizomas dos genótipos foram doados por produtores, lavados e as raízes cortadas. Em seguida, foram imersos em solução de Pikzion 400 PM e Derosal 500 SE, nas proporções de 1 g/L e 0,6 mL/L, respectivamente, por 30 minutos e deixados ao ar para secar (Figura 1a). Os pseudocaulés dos rizomas foram padronizados entre 20 e 40 cm, dependendo do genótipo, e em seguida pesados em balança digital. Após 24 a 48 horas do preparo dos rizomas, foram plantados em média três rizomas de cada genótipo por parcela adotando o espaçamento de 4,0 x 3,0 m.



Os rizomas foram plantados em cova, tomando-se o cuidado de enterrar entre 5 e 20 cm, de acordo com o tamanho do rizoma. Após o plantio a cova foi coberta com palha de capim para evitar perda de umidade. O sistema de irrigação utilizado foi aspersão alta. Aos 46 e 67 dias após o plantio (DAP) foram avaliadas a viabilidade através da porcentagem de rizomas que emitiram perfilhos (Figura 1b). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 22 tratamentos (genótipos) e 4 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ). Adicionalmente foi realizada a análise de coeficiente de correlação simples dos pesos com a viabilidade de rizomas de todos os genótipos, segundo o modelo matemático de Person, utilizando o programa SAEG (1983).



Figura 1. Rizomas de helicônia após limpeza e tratamento fitossanitário (a); aspecto das plantas de helicônia 67 dias após o plantio (b).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre as médias dos genótipos ao nível de 5% de probabilidade para os caracteres avaliados (Tabela 1).

Tabela 1. Peso e viabilidade de rizomas de helicônias plantados diretamente em campo. Coleção de Germoplasma de Helicônias da UFRPE, Camaragibe-PE, 2007

Genótipo	Peso do rizoma	Viabilidade 46 DAP (%)	Viabilidade 67 DAP (%)
<i>H. bihai</i> I	303,96 C	75,00 A	91,67 A
<i>H. bihai</i> II	163,96 D	62,50 A	75,00 A
<i>H. bihai</i> cv. Nappy Yellow*	270,63 C	50,00 B	75,00 A
<i>H. caribaea brazilian</i> bomber	649,38 A	75,00 A	75,00 A
<i>H. caribaea</i> x <i>bihai</i> cv. Carib Flame*	416,25 B	0,00 B	0,00 B
<i>H. collinsiana</i> *	480,00 B	91,67 A	100,00 A
<i>H. episcopalis</i> *	465,63 B	25,00 B	37,50 B
<i>H. latispatha</i> (amarela)	136,88 D	70,83 A	75,00 A
<i>H. latispatha</i> cv. Red-Yellow Gyro*	269,17 C	58,33 B	75,00 A
<i>H. pendula</i> *	241,15 C	39,58 B	54,17 B
<i>H. rauliniana</i> *	342,50 C	50,00 B	50,00 B
<i>H. rostrata</i>	97,08 D	54,17 B	62,50 B
<i>H. rostrata</i> (10 dias de durabilidade)	178,75 D	25,00 B	41,66 B
<i>H. stricta</i> I	206,67 D	83,33 A	83,33 A
<i>H. stricta</i> II	77,50 D	87,50 A	87,50 A
<i>H. stricta</i> III	245,63 C	62,50 A	62,50 B
<i>H. tagami</i>	777,50 A	100,00 A	100,00 A
<i>H. wagneriana</i>	139,38 D	100,00 A	100,00 A
<i>H. x sarapiquensis</i>	103,75 D	100,00 A	100,00 A
<i>Heliconia</i> I	351,88 C	50,00 B	75,00 A
<i>Heliconia</i> III	779,89 A	37,50 B	75,00 A
<i>Heliconia</i> VIII	296,88 C	25,00 B	50,00 B
CV%	41,31	59,01	47,50

\*Identificação baseada em Berry e Kress (1991); Classificação quanto ao porte: médio (1,51 m a 2,50 m) e grande (> 2,51 m). DAP – dias após o plantio. \*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott- Knott,  $P < 0,05$ .

Foram formadas classes distintas considerando o peso e a porcentagem de viabilidade dos rizomas aos 46 e 67 dias após o plantio (DAP) dos genótipos avaliados. Para peso de rizoma, os valores foram agrupados em 4 classes. Na classe A, composta pelos genótipos *Heliconia* III, *H. tagami* e *H. caribaea brazilian bomber*, foram observados os rizomas com maiores pesos, variando de 649,38 a 779,89 g. Os genótipos das classes B e C apresentaram rizomas com peso variando de 416,25 a 480,00g e de 241,15 a 351,88 g, respectivamente. Os genótipos *H. stricta* I, *H. rostrata* (10 dias de durabilidade), *H. bihai* II, *H. wagneriana*, *H. latispatha* (amarela), *H. x sarapiquensis*, *H. rostrata* e *H. stricta* II, foram classificados como D, apresentando os menores pesos, situados entre 77,50 e 206,67g.

Foi observado que aos 46 DAP, os genótipos apresentaram valores distintos quanto a viabilidade dos rizomas, analisados através da emissão de perfilhos, sendo agrupados em duas classes. O grupo A que variou de 62,5 a 100%. Os genótipos *H. x sarapiquensis*, *H. wagneriana* e *H. tagami*, apresentaram 100% de viabilidade dos rizomas plantados aos 46 DAP. Para os genótipos *H. collinsiana*, *H. stricta* II, *H. stricta* I, *H. brazilian bomber*, *H. bihai* I, *H. latispatha* (amarela), *H. stricta* III e *H. bihai* II, classe A, os valores variaram entre 62,50 e 91,67%.

Na classe B, com valores de viabilidade dos rizomas inferiores a 58,33%, encontram-se os genótipos *H. latispatha* cv. Red-Yellow Gyro, *H. rostrata*, *Heliconia* I, *H. rauliniana*, *H. bihai* cv. Nappy Yellow, *H. pendula*, *Heliconia* III, *H. episcopalis*, *Heliconia* VIII e *H. rostrata* (10 dias de durabilidade). A *H. caribaea x H. bihai* cv. Carib Flame não apresentou perfilhamento, sendo a viabilidade de 0%.

A maioria dos genótipos apresentou aumento na porcentagem de viabilidade dos rizomas aos 67 DAP, em relação à avaliação anterior. Os genótipos que obtiveram melhores índices aos 46 DAP permaneceram na classe A, com valores entre 75,00 e 100,00%. Os genótipos *H. latispatha* cv. Red-Yellow Gyro, *Heliconia* I, *H. bihai* cv. Nappy Yellow e *Heliconia* III passaram a fazer parte dessa classe aos 67 DAP. Os outros genótipos, apesar do incremento na porcentagem de viabilidade dos rizomas, permaneceram na classe B, que variou de 0 a 62,50%. Apenas *H. stricta* III não apresentou alteração na porcentagem de viabilidade dos rizomas entre as duas épocas de avaliação e *H. caribaea x H. bihai* Carib Flame mantiveram 0% de viabilidade até os 67 DAP.

Resultados semelhantes foram observados em experimento conduzido em casa de vegetação por Oliveira Junior et al. (2003), em que *H. episcopalis* e *H. rauliniana* apresentaram porcentagem de viabilidade dos rizomas de apenas 37,5% e *H. pendula*, *H. stricta*, *H. wagneriana* e *H. bihai* apresentaram 100% de viabilidade. Costa et al. (2004) observaram que os genótipos *H. bihai*, *H. wagneriana*, *H. rostrata*, *H. pseudoaemygdiana*, *H. latispatha* cv. Bentham Distans, *H. latispatha* Bentham (Laranja) apresentaram 100% de sobrevivência, porém não diferiram estatisticamente dos genótipos que obtiveram 87% (*H. rauliniana*), 75% (*H. latispatha* Bentham (Amarela)), *H. psittacorum* cv. Red Opal e *H. psittacorum* cv. Golden Torch) e 62% (*H. bihai* cv. Kamehameha) de sobrevivência.

Não houve correlação significativa entre peso de rizoma e perfilhamento quando foram avaliados dados de todos os genótipos. Esse resultado demonstra que o peso do rizoma não teve influência sobre a porcentagem de viabilidade destes, avaliada através da emissão dos perfilhos. No entanto, a análise da correlação para cada genótipo poderá apresentar resultados significativos.

O resultado de 100% de viabilidade dos rizomas de alguns genótipos aos 46 DAP indica que esse é o tempo mínimo necessário para replantio de mudas. No entanto, para os genótipos que até 67 DAP não atingiram 100% de viabilidade, seria recomendado o acompanhamento por um período maior, visto que a viabilidade em helicônia está associada às características genéticas, bem como, às condições climáticas (Geertsen, 1989; Fernandes, 2000) também está relacionada com a espécie. Em *H. velloziana*, propagadas por rizoma. Simão & Scatena (2003) observaram após 30 dias a formação de raízes e entre 30 e 45 dias a formação de novos perfilhos.

As avaliações devem ser conduzidas até se obter a porcentagem máxima de emissão de perfilhos para cada genótipo, e assim obter o número de dias necessários para

a confirmar a viabilidade. O plantio de mais de um rizoma por parcela visou diminuir a possibilidade de ocorrer falhas no plantio, de uma área experimental que continuará sendo acompanhada para avaliação e caracterização qualitativa e quantitativa de caracteres agrônômicos dos genótipos de helicônias.

## CONCLUSÕES

O peso dos rizomas e a viabilidade variaram entre os genótipos de helicônias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERRY, F.; KRESS W. J. *Heliconia: an identification guide*. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1991. 334p.

COSTA, A.S. et al. Avaliação da sobrevivência de rizomas de helicônias em Pernambuco. In: IV JORNADA DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFRPE, 2004, Recife. Anais da IV Jornada de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFRPE. Recife: Imprensa Universitária da UFRPE, 2004.

CRILEY, R.A.; BROCHAT, T.K. Heliconia: botany and horticulture of new floral crop. *Horticulture Review*, v.14, p.1-55, 1992.

FERNANDES E.P. *Crescimento e produção de Heliconia pssitacorum L. em função de adubação mineral e densidade de plantio*. (Dissertação de mestrado) – UFG. Goiânia: 2000.

GEERTSEN, V. Influence of photoperiod and temperature on the growth and flower production of *Heliconia pssitacorum* 'Tay'. *Acta Horticulturae* (ISHS). v.252, p.177-122, 1989.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E. DAVIES, F.T. *Plant propagation: principles and practices*. 5 ed. New Jersey: Printice Hall International, 1990.647p.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. J. de; MELO, M.G. de; SOUZA, J.W.O.; PINHEIRO, P.G.L.; LOGES, V.; CASTRO, A.C.R. de. Perfilamento de helicônias mantidas em casa de vegetação. In: 43º CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 2003, Recife. Horticultura Brasileira, 2003.

SAEG - Sistema para análises estatísticas e genéticas. Versão 5.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1983.

SIMÃO, D.G.; SCATENA, V.L. Morphology and anatomy in *Heliconia angusta* Vell. and *H. velloziana* L. Emygd. (Zingiberales: Heliconiaceae) from the Atlantic forest of southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, vol.24, no.4, p.415-424. 2001.

PALAVRAS-CHAVE: Floricultura, perfilamento, flores tropicais.

## Novos híbridos de bananeira ornamental.

Everton Hilo de Souza<sup>1</sup>, Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>, Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>2</sup>, Sebastião de Oliveira e Silva<sup>2</sup>.

1. Graduando em Engenharia Agrônômica, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bolsista IC/ Fapesb, Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: hilosouza@gmail.com; 2. Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

A floricultura brasileira representa um setor altamente competitivo e exigente na utilização de tecnologia, principalmente quando se trata de exportação. Abrange desde o cultivo de plantas ornamentais, flores de corte, plantas envasadas, floríferas ou não. As fruteiras ornamentais surgem como mais uma alternativa desse mercado promissor (Souza et al, 2005).

Embora o programa de melhoramento de bananeira da Embrapa tenha se iniciado há cerca de 25 anos, gerando cultivares produtivas e resistentes à doenças, apenas recentemente foi estabelecida uma linha de pesquisa voltada para a obtenção de variedades ornamentais, visando um melhor aproveitamento da variabilidade encontrada no banco ativo de germoplasma de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. A grande variabilidade genética existente no banco de germoplasma, com aproximadamente 400 acessos, permitiu a identificação e seleção de genótipos com valor ornamental. Alguns destes genótipos já são comercializados, como *Musa velutina*, *M. coccinea*, *M. ornata* e *M. acuminata* ssp. zebrina, contudo, podem ser melhor explorados visando a geração de novas variedades, por meio de cruzamentos controlados. Além de genótipos com características apropriadas para uso em arranjos florais, paisagismo e para cultivo em vasos, existem no BAG de banana diversos acessos diplóides que produzem frutos muito pequenos, os quais podem ser utilizados como ornamentais. Os mini-frutos de banana para arranjos florais constituem uma novidade que encanta os consumidores, mas ainda não são explorados comercialmente, representando uma inovação para o mercado de ornamentais (Souza, et al. 2006, Souza et al. 2007).

O objetivo desse trabalho é apresentar parte dos resultados referentes ao cruzamento entre *Musa acuminata* ssp. zebrina com o híbrido *M. ornata* x *M. velutina*, ressaltando a beleza e o grande potencial dos híbridos selecionados.

## METODOLOGIA

Foram realizados cruzamentos entre *Musa acuminata* ssp. zebrina (AA), designada 'Monyet', que apresenta porte alto, folhagem com manchas de coloração marrom-púrpura devido à presença de antocianina, pseudocaule, frutos e brácteas também de coloração marrom-púrpura e cacho na posição horizontal (Figuras 1a e 1b), como o híbrido *M. ornata* x *M. velutina* (AA), designado 'Royal', que apresenta porte baixo, folhas verdes, frutos de casca lisa e rosada, brácteas violáceas e cacho na posição vertical (Figuras 1c).

Os híbridos obtidos foram avaliados em condições de campo, utilizando-se 38 descritores morfológicos de banana (Silva et al.1999 e Daniells et al. 2001), incluindo às seguintes características: altura da planta no florescimento; posição do cacho; peso do cacho; número médio de pencas; número médio de frutos por penca; coloração, pilosidade, comprimento e diâmetro dos frutos; comprimento, diâmetro, forma e coloração do coração

(inflorescência masculina) e forma do ápice do coração. A coloração dos frutos e do coração foram definidas de acordo com Silva *et al.* (1999) e utilizando-se uma paleta de cores Maerz, & Paul (1950).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O cruzamento entre 'Monyet' e 'Royal' resultou em sementes que após germinadas produziram 68 plantas com alta variabilidade genética. Todas as plantas apresentaram folhas variegadas com manchas escuras pela presença de pigmentação com antocianina, semelhantes com às da 'Monyet', sendo uma característica de beleza, mesmo sem a presença da inflorescência (1b).

As variações mais significativas ocorreram em relação à coloração dos frutos e coração, pilosidade e posição das inflorescências. A maioria das plantas apresentou porte baixo, o que pode ser interessante para seu uso em vasos.

As características avaliadas no primeiro ciclo estão sendo confirmadas no segundo ciclo. Embora o primeiro ciclo não seja adequado para analisar o peso do cacho, comprimento e diâmetro dos frutos na maioria dos genótipos, uma vez que o caráter pode aumentar do primeiro para o terceiro ciclo da cultura (Silva *et al.* 2002, Alves *et al.* 1999), os genótipos avaliados estão apresentando estabilidade nos caracteres avaliados no primeiro e segundo ciclos.

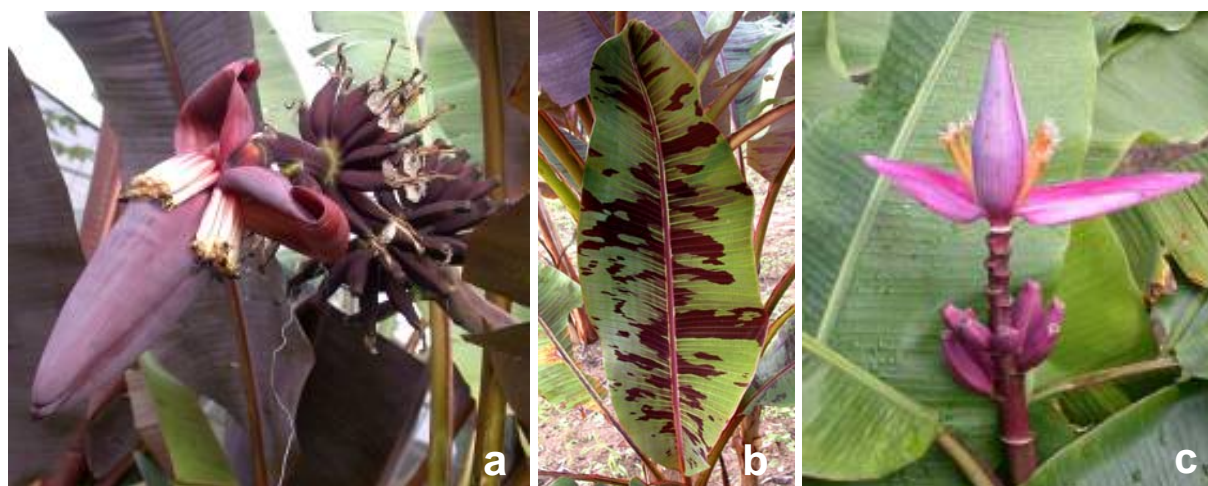
Alguns genótipos avaliados apresentaram pilosidade no engaço e nos frutos (Figura 1h). Esta característica está relacionada com a 'Royal' uma vez que este material já é um híbrido entre *M. velutina*, que apresenta grande quantidade de pêlos, e *M. ornata*.

Com relação à posição do cacho, em grande parte dos genótipos esta assumiu uma posição vertical, ereta (Figura 1f-g), esta característica é importante para utilização em arranjos florais e cultivo em vaso.

A coloração do coração apresentou uma alta variabilidade, com cores fortes e atrativas, predominando a cor rosa, sendo uma característica desejável, em floricultura (Figura 1e).

Todos os híbridos se mostraram resistentes a sigatoka amarela (*Mycosphaerella musicola*), e estão sendo avaliados quanto ao mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*), moko (*Ralstonia solanacearum*) e sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*).

Esses materiais estão sendo multiplicados *in vitro* para que possam ser feitas as avaliações clonais, visando confirmar a estabilidade das características observadas.







**Figura 1.** Bananeiras ornamentais. (a e b) Parental masculino *Musa acuminata* ssp. zebrina, designada 'Monyet' com folha variegada. (c) Parental feminino, híbrido *Musa ornata* x *M. velutina*, designado 'Royal'. (d, e) Variabilidade de frutos e coração. (f-i) híbridos resultantes do cruzamento entre 'Monyet' e 'Royal', apresentando variação na coloração dos frutos e do coração, bem como na posição do cacho.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALVES, E. J.; OLIVEIRA, M. de A. Práticas culturais. In: ALVES, E.J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2.Ed. Ver. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPMF, p.335-352. 1999.

DANIELLS, J.; JENNY, C.; KARAMURA, D.; TOMEKPE, K. **Musalogue: A catalogue of *Musa* germplasm**. Inibap. Montpellier. 2001. 213p.

MAERZ, A.; PAUL, R.M. **A dictionary of color**. McGraw-Hill, New York. 1950. 208p. (disponível em <http://tx4.us/mp/mp-45.htm>).

SILVA, S. O.; CARVALHO, PCL; SHEPHERD, K; ALVES, E.J.; OLIVEIRA, C.A.P.; CARVALHO, J.A.B.S. **Catálogo de germoplasma de bananeira (*Musa spp.*)**. Embrapa. Documentos CNPMF, n. 90, 152p. 1999.

SILVA, S. O; FLORES, J. C.O.; LIMA NETO, F. P. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira em quatro ciclos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1567-1574, 2002.

SOUZA, E. H.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D.; SILVA, S. O. Avaliação de híbridos de bananeiras ornamentais. In: **4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, 2007, São Lourenço. 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, v. 1. p. 106. 2007.

SOUZA, F.V.D.; SOARES, T.L.; CABRAL, J.R.S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; CASTELLAN, M. S; RITZINGER, R.; PASSOS, O.S. Pesquisas em andamento com fruteiras ornamentais IN: **12ª International Week of Fruit Crop, Floriculture and Agroindustry**. Frutal 2005. Anais... Fortaleza, 2005. CD room.

SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; SILVA, S. O.; PEREIRA, M. E. C. Identificação e seleção de genótipos silvestres de bananeira para produção de mini-frutos ornamentais. In: **XVII Reunião Internacional ACORBAT de Banana**, 2006, Joinville. XVII Reunião Internacional ACORBAT de Banana, v. 1. p. 329-329. 2006.

## **PALAVRAS-CHAVE**

*Musa acuminata* ssp. zebrina, híbrido *M. ornata* x *M. velutina*, melhoramento genético, variabilidade

## **Silenciamento mediado por RNA interferente do gene *be1* que codifica para a Enzima de Ramificação do Amido I (SBE I) em Milho (*Zea mays* L.).**

Cipriano, Thaís de Moura<sup>1</sup>; Carvalho, Luiz Joaquim Castelo Branco<sup>2</sup>; Carneiro, Newton Portilho<sup>3</sup>; Carneiro, Andréa Almeida<sup>3</sup>; Aragão, Francisco José Lima<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade de Brasília (UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Caixa Postal 04457, CEP 70910-970, Brasília, Distrito Federal, fone (61) 307-2828, e-mail [thais@cenargen.embrapa.br](mailto:thais@cenargen.embrapa.br); <sup>2</sup> Pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa-Cenargen), Parque Estação Biológica (PqEB), Av. W5 Norte, Caixa Postal 02372, CEP 70770-900, Brasília, Distrito Federal, fone: (61) 3448-4700, e-mail: [aragao@cenargen.embrapa.br](mailto:aragao@cenargen.embrapa.br); <sup>3</sup> Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), Rod. MG 424 KM 45, Caixa Postal 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas, Minas Gerais, fone (31) 3779 1000, e-mail : [newtonc@cnpmc.embrapa.br](mailto:newtonc@cnpmc.embrapa.br).

O milho é uma cultura de grande importância econômica e o amido contido em seus grãos é altamente utilizado na nutrição humana, animal e também na indústria. O amido é composto de dois tipos de polímeros da glicose estruturalmente diferentes, a amilose constituída por cadeia linear, e a amilopectina com cadeia ramificada. A enzima de ramificação do amido (*Starch-Branching Enzyme* - SBE) catalisa a formação de ligações glicosílicas  $\alpha$ -1,6, que podem afetar diretamente a estrutura da amilopectina. Esta diferenciação está associada à especificidade de substrato, que por sua vez é dependente das isoformas desta enzima. Em milho foram identificadas três isoformas da enzima de ramificação, a SBE I, SBE IIa e SBE IIb. As isoformas da enzima possuem propriedades diferentes entre si. O presente trabalho visa estudar o efeito do silenciamento do gene *be1* que codifica para a enzima de ramificação do amido I (SBE I) em milho e monitorar as alterações na estrutura da amilopectina do grão de amido. Para o silenciamento do gene *be1* foi construído um vetor de RNA interferente (pPKZmBE), que contém o gene *bar* como marcador de seleção. O plasmídeo foi utilizado na transformação genética de calos embriogênicos de milho via biobalística. Foram obtidas 6 plantas de milho transgênico com o silenciamento do gene *be1*. As plantas transgênicas estão em fase de desenvolvimento em casa de vegetação. Após a fecundação, a progênie será avaliada por meio da análise molecular, morfológica e anatômica das sementes geneticamente modificadas.

### **PALAVRAS-CHAVE**

Enzima de ramificação do amido I (SBE I) ; RNA interferente (RNAi); *Zea mays*;



## Otimização da regeneração do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) *in vitro*.

Castro, Juliana Pereira<sup>1</sup>; Rêgo, Maílson Monteiro<sup>2</sup>; Carvalho, Julita Maria frota Chagas<sup>3</sup>; Suassuna, Taís de Moraes Falleiro<sup>4</sup>, Silva, Pollyana Karla<sup>5</sup>, Rêgo, Elizanilda Ramalho<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UEPB-CCA), email: [julipcastro@hotmail.com](mailto:julipcastro@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor do DF/DCFS/CCA/UEPB, 58.370-000, Areia (PB); <sup>3</sup>Orientadora, Eng. Agr. Dr. em Biotecnologia, Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, CEP 58107-720 Campina Grande, PB. e-mail: [julita@cnpa.embrapa.br](mailto:julita@cnpa.embrapa.br); <sup>3</sup>Eng. Agr. Dr. em Genética e Melhoramento de plantas, E-mail: [tais@cnpa.embrapa.br](mailto:tais@cnpa.embrapa.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas UEPB,

### INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma espécie cultivada nos cinco continentes, sendo mundialmente reconhecido como rica fonte de proteína e óleo de origem vegetal (GODOY, 2001; MACEDO, 2004). No Brasil, é cultivado principalmente nas regiões Sudeste, Nordeste e em expansão no Centro-Oeste. Na região Nordeste, o seu cultivo é basicamente uma atividade de pequenos e médios produtores, os quais utilizam baixo nível tecnológico (Barros *et al*, 1994; Santos, 1995; Santos *et al.*, 2005).

A técnica de cultivo *in vitro* de embriões zigóticos vem sendo praticada pelos melhoristas de plantas há quase um século (CARTAXO, 2003), usada para regenerar embriões de sementes sem capacidade de germinação, sendo utilizada como fonte de explantes com tecido de elevada totipotência (HU *et al.*, 1998).

De acordo com Ribas *et al*, (2002), o conteúdo de tiamina do meio MS pode não ser suficiente para obter ótimos resultados em algumas culturas. Gamborg *et al.* (1968) compararam o complexo vitamínico B5 e o uso de tiamina no cultivo de células de soja e verificaram que somente a tiamina era necessária para o crescimento das células. Morris *et al* (1995) regenerou sementes de amendoim com até 31 anos de armazenamento utilizando o complexo B5.

As giberelinas bioativas, como o GA<sub>3</sub>, promovem a germinação de sementes em várias espécies de plantas, estimulando o crescimento do embrião. Outro importante efeito das giberelinas é que estas agem sobre o metabolismo dos glicídios envolvidos no fornecimento de energia às células e que podem contribuir para tornar o potencial osmótico celular mais negativo, aumentando o fluxo de água para o interior da célula favorecendo assim sua expansão (DAYKIN *et al.*1997).

Trabalhos realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Algodão vêm demonstrando o grande potencial organogênico do amendoim, especialmente a partir de eixos embrionários e segmentos nodais de plântulas obtidas *in vitro* (Furtado *et al.*, 2003). No entanto, são necessários ajustes para melhorar problemas relativos a germinação.

Este trabalho teve por objetivo testar os complexos vitamínicos do meio MS, B5 e tiamina, combinado ou não com o ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) na otimização da regeneração do amendoim *in vitro*.

### MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Algodão. Sementes do cultivar BR-1 armazenadas a cinco anos em câmara fria (10-15°C e 60% de umidade relativa) e apresentando 50% de germinação, foram desinfestadas em solução de NaOCl a 1,8% e uma gota de Tween 20 permanecendo sob agitação durante vinte minutos; em seguida, o material vegetal foi lavado 4 vezes em água bidestilada estéril, na qual permaneceu imerso durante 24 horas na última água. Posteriormente, foi excisado das sementes, em câmara de fluxo laminar, os eixos embrionários e inoculados em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), MS + B5 (Gamborg *et al.*, 1968), MS acrescido de 0,3 mg.L<sup>-1</sup> de tiamina, suplementados ou não com 0,5 mg.L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>. Os meios de cultivo foram suplementados com 20 g.L<sup>-1</sup> de açúcar comercial (União) e 0,65% de ágar, e o pH ajustado

para 5,7 utilizando NaOH ou HCL antes da autoclavagem a 120°C por 20 minutos. Em seguida os tubos de ensaio foram fechados com tampa de polietileno e vedados com filme plástico. As culturas permaneceram no escuro por 72 horas, e posteriormente foram mantidas durante 25 dias a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , com um fotoperíodo de 16h:8h (claro:escuro) e intensidade luminosa de  $30\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 15 repetições, cada repetição consistiu em um eixo embrionário por tubo. As avaliações foram realizadas após 10 dias de cultivo onde se avaliou o número de eixos embrionários germinados, tamanho da planta e número de raízes, e aos 28 dias de cultivo onde se avaliou o peso fresco e seco da parte aérea e radicular. Foi realizada análise de variância dos dados e as médias foram comparadas usando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, todas as operações estatísticas foram realizadas usando o software genes (Cruz, 2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da germinação, comprimento de plântula e números de raízes foram avaliadas aos 10 dias após a inoculação nos diferentes meios de cultivo e os resultados são mostrados na tabela 1. Os resultados indicaram que entre essas três variáveis não há diferenças de resposta em relação a variável germinação de eixo embrionário, entretanto, em relação ao comprimento médio da plântula (cm) e o número de raízes, o meio MS é tão eficiente quanto os demais, sugerindo que as sementes de amendoim devam ser postas para germinar *in vitro* sem adição de GA<sub>3</sub>, Tiamina ou complexo vitamínico B5 (tabela 2), isolados ou em conjunto. Com relação as demais variáveis, avaliadas aos 28 dias, não houve diferenças significativas (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Análise de variância entre os seis tratamentos em relação as oito variáveis avaliadas aos 10 e 28 dias, respectivamente.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio das Variáveis							
		Germinação	Comprimento médio da plântula (cm)	Número de folhas	Número de raízes	Peso Fresco da raiz (g)	Peso Seco da raiz (g)	Peso Fresco parte aérea (g)	Peso seco parte aérea (g)
Tratamentos	5	0,28 <sup>ns</sup>	1,68*	3,64 <sup>ns</sup>	6,01*	0,003 <sup>ns</sup>	0,00005 <sup>ns</sup>	0,0005 <sup>ns</sup>	0,0004 <sup>ns</sup>
Resíduo	84	0,212	0,38	2,58	0,86	0,01	0,0001	0,02	0,001
Total	89								
CV%	-	0,68	0,51	0,77	1,07	0,10	1,13	0,22	4,89
Média	-	66,94	119,73	206	86,13	100,2	100,2	75,94	81,03

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Comparação entre médias dos seis tratamentos em relação as variáveis germinação, comprimento de plântulas (cm), número de folhas, número de raízes, peso fresco de raiz, peso seco de raiz, peso fresco de parte aérea e peso seco de parte aérea, as quatro primeiras variáveis foram avaliadas aos 10 dias e as demais aos 28 dias após a inoculação.

Tratamentos	Germinação	Comprimento da plântula (cm)	Número de folhas	Número de raízes	Peso Fresco da raiz (g)	Peso Seco da raiz (g)	Peso Fresco parte aérea (g)	Peso seco parte aérea (g)
MS	0,533 <sup>a</sup>	0,906 <sup>a</sup>	0,800 <sup>a</sup>	1,666 <sup>a</sup>	0,079 <sup>a</sup>	0,008 <sup>a</sup>	0,234 <sup>a</sup>	0,042 <sup>a</sup>
MS + GA <sub>3</sub>	0,933 <sup>a</sup>	0,533 <sup>ab</sup>	1,333 <sup>a</sup>	1,200 <sup>ab</sup>	0,125 <sup>a</sup>	0,013 <sup>a</sup>	0,254 <sup>a</sup>	0,058 <sup>a</sup>
MS + Tiamina	0,600 <sup>a</sup>	0,780 <sup>a</sup>	0,733 <sup>a</sup>	1,400 <sup>ab</sup>	0,109 <sup>a</sup>	0,012 <sup>a</sup>	0,224 <sup>a</sup>	0,048 <sup>a</sup>
MS+Tiam.+GA <sub>3</sub>	0,666 <sup>a</sup>	0,266 <sup>ab</sup>	0,533 <sup>a</sup>	0,666 <sup>bc</sup>	0,112 <sup>a</sup>	0,012 <sup>a</sup>	0,202 <sup>a</sup>	0,047 <sup>a</sup>
MS + B5	0,666 <sup>a</sup>	0,620 <sup>ab</sup>	1,266 <sup>a</sup>	1,533 <sup>ab</sup>	0,108 <sup>a</sup>	0,010 <sup>a</sup>	0,204 <sup>a</sup>	0,044 <sup>a</sup>
MS + B5 + GA <sub>3</sub>	0,733 <sup>a</sup>	0,000 <sup>b</sup>	0,000 <sup>a</sup>	0,000 <sup>c</sup>	0,102 <sup>a</sup>	0,010 <sup>a</sup>	0,222 <sup>a</sup>	0,052 <sup>a</sup>

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Plântulas de amendoim com maior comprimento médio foram obtidas quando as sementes, armazenadas por cinco anos em câmara fria, foram inoculadas em meio MS sem aditivos (Figura 1). Na figura 1C, é possível perceber que as plântulas do meio MS desenvolveu-se mais que dos outros tratamentos.

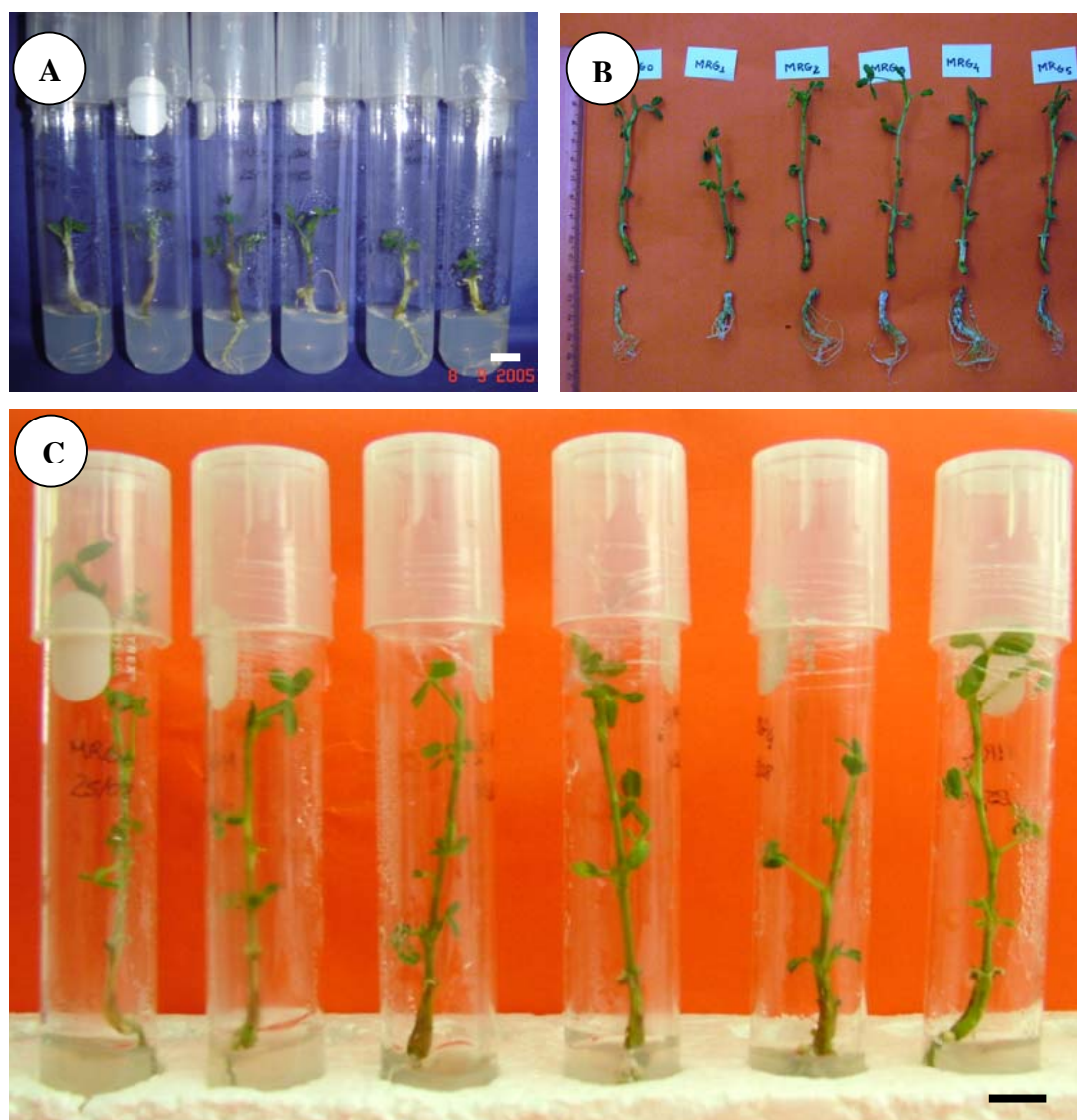


Figura 1. Plântulas de amendoim germinadas *in vitro*. A. Plântulas germinadas aos 10 dias após a inoculação. B e C. Plântulas germinadas aos 28 dias de cultivo. Disposição da esquerda para a direita: MS; MS + GA<sub>3</sub>, MS + Tiamina, MS + Tiamina + GA<sub>3</sub>, MS + B5 e MS + B5 + GA<sub>3</sub>. Barra = 1,0 cm.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas condições em que se desenvolveu o trabalho recomendam-se que sementes de amendoim armazenadas em câmara fria devem ser postas para germinar em meio MS sem adição de GA<sub>3</sub>, Tiamina ou complexo vitamínico B5, pois estes não influenciam na resposta quando comparado ao meio MS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, M.A.L.; SANTOS, R.C. dos; ARAÚJO, J.M. de; SANTOS, J.W. dos; OLIVEIRA, S.R. de M. **Diagnóstico preliminar da cultura do amendoim no Estado da Bahia.** In

Embrapa. CNPA (Campina Grande, PB) Relatório técnico anual 1992-1993. Campina Grande, 1994b p.381-383.

CARTAXO, G.M.C. **Cultivo *in vitro* de embrião zigótico e crioconservação de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.)** 2003, 60f. Monografia (para obtenção do grau de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas)- Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2003.

DAYKIN, A.; SCOTT, I. M.; FRANCIS, D.; CAUSTON, D. R. Effects of gibberellin on the cellular dynamics of dwarf pea internode development. **Planta**, Berlin, v. 203, n. 4, p. 526-535, 1997.

FURTADO, C. M.; CARVALHO, J.M.F.C.; SILVA, H.; CASTRO, J. P.; SANTOS, J.W.; SANTOS, T. S. Indução do Superbrotamento de Amendoim Cultivar BR-1 Através do Cultivo *In Vitro*. **Revista Brasileira de Oleaginosas e fibrosas**: Embrapa CNPA. v.7, nº213. 2003. p. 685-691.

GAMBORG, O.L., MILLER, R., OJIMA, K. Nutrient requirement of suspension cultures os soybean root cells. **Experimental Cell Research**, New York, v.50, p.151-158, 1968.

GODOY, I.J Problemas e perspectivas do melhoramento genético do amendoim no Brasil. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3, 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2001.

HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de Embriões. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de Tecido e Transformação Genética**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, v.1. p. 371-393, 1998.

MACEDO, M. H. G. Amendoim. Disponível em: Conjunturas Agropecuárias <http://www.conab.gov.br/>. Acesso em 10/11/2004.

SANTOS, R.C. Peanut crop: A viable alternative to Brazilian Northeast growers. **Ciência e cultura**, v.47, p.9-10, 1995.

SANTOS, R.C.; GODOY, I.J.; FÁVERO, A.P. Melhoramento do Amendoim. IN: SANTOS, R.C. **O Agronegócio do Amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.123-192, 2005.

RIBAS, A. F.; DENIS, F. ; QUOIRIN, M; AYUB, R. A. MISTURAS VITAMÍNICAS NA REGENERAÇÃO DO MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.2, p.237-241, 2002

PALAVRAS-CHAVE:

*Arachis*, cultivo *in vitro*, germinação

## BRS ESTRELA DO CERRADO: HÍBRIDO DE PASSIFLORA PARA USO COMO PLANTA ORNAMENTAL

Faleiro, Fábio Gelape<sup>1</sup>; Junqueira, Nilton Tadeu Vilela<sup>1</sup>; Junqueira, Keize Pereira<sup>1</sup>, Braga, Marcelo Fideles<sup>1</sup>; Borges, Rogério de Sá<sup>2</sup>, Peixoto, José Ricardo<sup>3</sup>; Andrade, Geovane Alves<sup>1</sup>; Santos, Erivanda Carvalho<sup>1</sup>; Silva, Dalvilmar Gomes Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. ffaleiro@cpac.embrapa.br. <sup>2</sup> Embrapa Transferência de Tecnologia; <sup>3</sup>Universidade de Brasília. Apoio financeiro: CNPq.

### INTRODUÇÃO

As flores de *Passiflora* são conhecidas pela sua exuberância há algumas décadas. Além da beleza, combinações de cores exóticas e marcante perfume, as flores de maracujá também representam símbolo religioso. Esta última atribuição refere-se ao termo “flor-da-paixão”, nome popular pouco usual no Brasil, que tem origem na correlação da morfologia da flor com os símbolos da Paixão de Cristo (Souza & Meletti, 1997). Tal correlação foi explicada por Frei Vicente (Hoehne, 1937), referindo-se, inicialmente, aos três estiletos/estigmas, que representariam a Santíssima Trindade ou os três cravos utilizados na crucificação de Jesus Cristo. Frei Vicente também fez referência aos cinco filetes/estames, representando as cinco chagas e à corona/verticilos, representando a coroa de espinhos de Jesus Cristo. A folha trilobada de algumas espécies do gênero *Passiflora* também é referenciada como as lanças dos soldados que conduziram Jesus ao calvário.

Vanderplank (2000), Peixoto (2005), Junqueira & Junqueira (2006) e Roza et al. (2006) fazem referências ao potencial ornamental das Passifloráceas, ainda pouco explorado no Brasil. Devido ao clima extremamente favorável no país, grande parte das espécies de *Passiflora* se presta ao cultivo ornamental, seja como soluções paisagísticas para áreas grandes e médias em cercas e pérgulas, seja como plantas para vaso, que podem ser usadas em varandas ou dentro de casa (Peixoto, 2005). A propagação e cultivo dessas espécies já vêm sendo estudados há alguns anos e obtenção de híbridos ornamentais entre Passifloráceas visando exaltar qualidades paisagísticas das espécies tornou-se uma demanda para os trabalhos de melhoramento em maracujazeiro (Faleiro et al., 2006).

Neste trabalho, objetivou-se apresentar o híbrido BRS Estrela do Cerrado obtido no programa de melhoramento genético de maracujazeiro ornamental conduzido na Embrapa Cerrados.

### METODOLOGIA

O híbrido BRS Estrela do Cerrado foi obtido a partir do cruzamento entre as espécies silvestres *Passiflora coccinea* Aubl., de flores vermelhas (acesso CPAC MJ-08-01), e *Passiflora setacea* DC., de flores brancas (acesso CPAC MJ-12-03). Após a obtenção das progênies, selecionaram-se as plantas produtoras de flores maiores, com cores mais atrativas e mais tolerantes às doenças nas condições do Planalto Central.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

BRS Estrela do Cerrado apresenta produção de grande quantidade de flores com diâmetro de aproximadamente 12 cm, brácteas esverdeadas, pétalas e sépalas vermelhas com a base branca, com larguras de 1,4 cm, corona com 6 cm de diâmetro com anel da câmara nectífera branco e fímbrias brancas e alongadas (2,5 cm de comprimento) (Figura 1). As flores apresentam estigmas e estiletos rosados, ovários, filetes e anteras verdes.

Com base nos locais de origem das espécies genitoras, há indicadores da adaptação do híbrido ornamental em altitudes de 250 a 1100m, latitude de 9° a 14° e plantio em qualquer época do ano (quando irrigado) em diferentes tipos de solo.



O híbrido apresenta florações contínuas com picos de junho a novembro nas condições do Distrito Federal e tem mostrado resistência às principais doenças do maracujazeiro, especialmente aquelas causadas por patógenos de raízes (Junqueira et al., 2005; Faleiro et al., 2005).

As plantas de BRS Estrela do Cerrado produzem poucos frutos em condições naturais por possuírem androginóforos longos, não permitindo a polinização por insetos, mas se as flores forem polinizadas manualmente podem se obter maiores quantidades de frutos, os quais são pequenos e muito ácidos, podendo ser utilizados para sucos.



**Figura 1.** Floração de BRS Estrela do Cerrado [*Passiflora coccinea* (CPAC MJ-08-01) X *Passiflora setacea* (CPAC MJ-12-03)].

## CONCLUSÕES

Considerando a exuberância e beleza das flores do maracujá, sua associação religiosa à Paixão e Morte de Cristo e a potencialidade econômica, o híbrido BRS Estrela do Cerrado é uma alternativa interessante para o mercado das plantas ornamentais, seja para o cultivo em vasos, seja para a composição de jardins, sobre muros e pérgulas, bem como para a ornamentação de parques e construção de borboletários.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. 2005. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados. p. 187-210.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: demandas para a pesquisa. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2006. 54p. il.

HOEHNE, F. C. Botânica e agricultura no Brasil (Século XVI). São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1937. 410 p. (Brasiliiana v. 71, 5ª Série)

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V. Espécies nativas do Cerrado com potencial ornamental. In: Simpósio Internacional de Paisagismo, 3, Lavras, MG. Palestras. Lavras: UFLA. 2006 .p.49-54.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados. 2005. p. 81-108.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados. 2005. p.457-463.

ROZA, F.A.; FONSECA, J.W.S.; BELO, G.O.; VIANA, A.J.C.; SOUZA, M.M. Estudos reprodutivos e testes de hibridação interespecífica em passifloras silvestres para obtenção de F1. In: Seminário de Iniciação Científica da UESC, 7. Anais... Ilhéus: UESC. 2006. CD ROM.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p. (Souza & Meletti, 1997).

VANDERPLANK, J. Passion flowers. 3ª ed. Cambridge: The MIT Press, 2000. 224p.

PALAVRAS-CHAVE: maracujazeiro, *Passiflora coccinea*, *Passiflora setacea*, floricultura.

## BRS RUBIFLORA: HÍBRIDO DE PASSIFLORA PARA USO COMO PLANTA ORNAMENTAL

Faleiro, Fábio Gelape<sup>1</sup>; Junqueira, Nilton Tadeu Vilela<sup>1</sup>; Junqueira, Keize Pereira<sup>1</sup>; Braga, Marcelo Fideles<sup>1</sup>; Soares-Scott, Marta Dias<sup>2</sup>; Souza, Luciana Sobral<sup>1</sup>; Castiglioni, Graziela Luiza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadores da Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. Endereço eletrônico: ffaleiro@cpac.embrapa.br, junqueir@cpac.embrapa.br, fideles@cpac.embrapa.br. <sup>2</sup> Embrapa Transferência de Tecnologia; <sup>3</sup> Instituto Agrônômico-IAC. Apoio financeiro: CNPq.

### INTRODUÇÃO

O maracujazeiro possui um grande potencial ornamental e, segundo Peixoto (2005), é comum a sua utilização em países do hemisfério norte há mais de um século como elemento de decoração e também de renda para os produtores. Existem relatos do cultivo do maracujá, como planta ornamental, desde o século XVII, quando a planta foi enviada para o velho mundo envolvida na aura mística criada pelos jesuítas que a usavam para auxiliar na catequização dos índios como símbolo da Paixão de Cristo (Peixoto, 2005). Além da mística envolvendo a Paixão de Cristo, a exuberância e beleza das flores e as diferentes características ecofisiológicas, Vasconcelos et al. (2005) e Vanderplank (2000) também ressaltam a potencialidade do maracujazeiro como planta ornamental.

Apesar de todo o potencial e uso econômico do maracujazeiro como planta ornamental no hemisfério norte, no Brasil, tal utilização é praticamente inexistente. Segundo Peixoto (2005), o que se vê no Brasil é a utilização de maracujá doce e, mais raramente, o maracujá-azedo em pérgulas ou cercas para aproveitamento de frutos e ter como bônus belas e perfumadas flores. Considerando a grande variabilidade genética das espécies, principalmente as da biodiversidade brasileira, existe um potencial muito grande para o cultivo ornamental, seja como soluções paisagísticas para áreas grandes e médias, seja como plantas de vaso que são usadas em varandas ou dentro de casa (Peixoto, 2005; Junqueira & Junqueira, 2006). O estudo deste potencial do maracujazeiro como planta ornamental é uma demanda para os trabalhos de pesquisa (Faleiro et al., 2006).

Neste trabalho, objetivou-se apresentar o híbrido BRS Rubiflora obtido no programa de melhoramento genético de maracujazeiro ornamental conduzido na Embrapa Cerrados.

### METODOLOGIA

O híbrido BRS Rubiflora foi obtido a partir do cruzamento entre as espécies silvestres *Passiflora coccinea* Aubl., de flores vermelhas (acesso CPAC MJ-08-01), e *Passiflora setacea* DC., de flores brancas (acesso CPAC MJ-12-03). A partir do F1, foi realizado o retrocruzamento com *P. coccinea* (CPAC MJ-08-02). Após a obtenção das progênes, selecionaram-se as plantas produtoras de flores maiores, com cores mais atrativas e mais tolerantes às doenças nas condições do Planalto Central.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

BRS Rubiflora apresenta produção de grande quantidade de flores, com diâmetro de aproximadamente 11 cm, brácteas roxo-avermelhadas, hipanto verde-avermelhado, sépalas e pétalas vermelho-escuras com a base vermelha, com larguras de 1,6 cm e 1,8 cm, respectivamente (Figura 1).

A corona possui cerca de 3 cm de diâmetro, com anel da câmara nectífera branco e fímbrias brancas e curtas (~1,5 cm de comprimento). As flores apresentam estiletos avermelhados e estigmas com a parte dorsal vermelha e ventral verde. Os ovários, filetes e anteras possuem coloração verde.



O híbrido foi desenvolvido, avaliado e selecionado no Distrito Federal, mas com base nos locais de origem das espécies genitoras, há indicadores da adaptação da cultivar em altitudes de 250 a 1100m, latitude de 9° a 14°. Quando irrigado, o plantio pode ser feito em qualquer época do ano, em diferentes tipos de solo.

BRS Rubiflora apresenta florações contínuas com picos de junho a novembro nas condições do Distrito Federal. Nestas condições, o híbrido tem sido resistente à pragas e doenças. Em função da resistência à doenças, especialmente aquelas causadas por patógenos de solo, BRS Rubiflora possui potencial também como porta-enxerto para o maracujazeiro amarelo (Junqueira et al., 2005; Faleiro et al., 2005).

As plantas podem ser propagadas facilmente por estaquia, conforme preconizado por Junqueira et al. (2005).



**Figura 1.** Floração de BRS Rubiflora {F1 [*P. coccinea* (CPAC MJ-08-01) X *P. setacea* (CPAC MJ-12-03)] X *P. coccinea* (CPAC MJ-08-02)}.

## CONCLUSÕES

O híbrido BRS Rubiflora possui grande potencial para o paisagismo em função da beleza de suas flores aliada à rusticidade observada em condições de cultivo. Pode ser cultivado em vasos ou jardins e também para a ornamentação de cercas, pérgulas ou muros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: demandas para a pesquisa. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2006. 54p. il.

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V. Espécies nativas do Cerrado com potencial ornamental. In: Simpósio Internacional de Paisagismo, 3, Lavras, MG. Palestras. Lavras: UFLA. 2006. p.49-54.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados. 2005. p. 81-108.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados. 2005. p.457-463.

VANDERPLANK, J. Passion flowers. 3ª ed. Cambridge: The MIT Press. 224p. 2000.

VASCONCELOS, M.A.S.; SILVA, A.C.; SILVA, A.C.; REIS, F.O. Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados. 2005. p.295-313.

PALAVRAS-CHAVE: *Passiflora coccinea*, *Passiflora setacea*, maracujazeiro, floricultura.

## BRS ROSEFLORA: HÍBRIDO DE PASSIFLORA PARA USO EM PAISAGISMO

Junqueira, Keize Pereira<sub>1</sub>; Junqueira, Nilton Tadeu Vilela<sub>1</sub>; Faleiro, Fábio Gelape<sub>1</sub>; Braga, Marcelo Fideles<sub>1</sub>; Lima, Cristiane Andréa<sub>1</sub>; Vaz, Carolina de Faria<sub>1</sub>; Villanova, Ana Carolina Coutinho<sub>1</sub>

<sub>1</sub> Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. Endereço eletrônico: junqueir@cpac.embrapa.br. Apoio financeiro: CNPq.

### INTRODUÇÃO

As Passifloráceas são trepadeiras amplamente distribuídas no Cerrado brasileiro, que é considerado seu maior centro de diversidade. Há diversas espécies com potencial ornamental, especialmente no gênero *Passiflora*. Destacam-se *Passiflora nitida*, *P. gardnerii*, *P. coccinea*, *P. cincinnata*, *P. monsoi*, *P. glandulosa*, *P. setacea*, *P. amethystina* e híbridos naturais. Estas espécies apresentam flores com coloração variando de branca, rósea, lilás, azulada a vermelha. Há também espécies com a folhagem exótica, como é o caso de *P. tricuspis*, *P. cf. elegans* e *P. pohlii*. A propagação e cultivo destas espécies já vêm sendo estudados há alguns anos e há grande ênfase no potencial ornamental das passifloráceas (Junqueira et al., 2005, 2006; Junqueira & Junqueira, 2006).

Referências ao potencial ornamental destas espécies já foram feitas por diversos autores, incluindo Sousa & Meletti (1997), Vanderplank (2003), Vasconcellos et al. (2005) Peixoto (2005) e Junqueira & Junqueira (2006). Segundo Peixoto (2005), existem relatos do cultivo do maracujá como planta ornamental desde o século XVII, quando a planta foi enviada para o velho mundo envolvida na aura mística criada pelos jesuítas que usavam para auxiliar na catequização dos índios como símbolo da Paixão de Cristo.

Considerando a grande variabilidade genética das espécies, principalmente as da biodiversidade brasileira, existe um potencial muito grande para o cultivo ornamental, seja como soluções paisagísticas para áreas grandes e médias, seja como plantas de vaso que são usadas em varandas ou dentro de casa (Peixoto, 2005; Junqueira & Junqueira, 2006).

Neste trabalho, objetivou-se apresentar o híbrido BRS Roseflora obtido no programa de melhoramento genético de maracujazeiro ornamental conduzido na Embrapa Cerrados.

### METODOLOGIA

O híbrido BRS Roseflora foi obtido a partir do cruzamento entre as espécies silvestres *Passiflora coccinea* Aubl., de flores vermelhas (acesso CPAC MJ-08-01), e *Passiflora setacea* DC., de flores brancas (acesso CPAC MJ-12-03). Em seguida, foi realizado o retrocruzamento com *P. setacea* (CPAC MJ-12-03). Após a obtenção das progênies, selecionaram-se as plantas produtoras de flores maiores, com cores mais atrativas e mais tolerantes às doenças nas condições do Planalto Central.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas das progênies oriundas deste cruzamento, denominadas BRS Roseflora, produzem grande quantidade de flores com diâmetro de aproximadamente 14 cm, brácteas esverdeadas, hipanto verde avermelhado, pétalas e sépalas com coloração variando de rosa escuro a vermelho claro com a base branca, com larguras de 1,2 a 1,4 cm, respectivamente (Figura 1). A corona possui cerca de 3 cm de largura, o anel da câmara nectífera é branco e as fímbrias são brancas e curtas (1,5 cm de comprimento). As flores de BRS Roseflora apresentam estigmas e estiletos rosados, ovários, filetes e anteras verdes.

O híbrido BRS Roseflora foi desenvolvido, avaliado e selecionado no Distrito Federal, mas com base nos locais de origem das espécies genitoras, há indicadores da adaptação da cultivar em altitudes de 250 a 1100m, latitude de 9° a 14°. O plantio pode ser realizado em qualquer época do ano, quando irrigado, em diferentes tipos de solo.

Quando irrigadas, as plantas podem florescer o ano todo e picos de florescimento podem ser observados de junho a novembro. BRS Roseflora pode ser facilmente propagado por estaquia, conforme preconizado por Junqueira et al. (2005). Além de ornamental, este híbrido, por ser muito vigoroso e tolerante às doenças de raízes, tem grande potencial para ser utilizado como porta-enxerto para o maracujazeiro comercial (Junqueira et al., 2005; Faleiro et al., 2005).

As plantas de BRS Roseflora produzem poucos frutos em condições naturais por possuírem androginóforos longos, não permitindo a polinização natural por insetos.



**Figura 1.** Aspecto da floração de BRS Roseflora {F1 [*P. coccinea* (CPAC MJ-08-01) X *P. setacea* (CPAC MJ-12-03)] X *P. setacea* (CPAC MJ-12-03)}.

## CONCLUSÕES

Em função da exuberância e beleza das flores, BRS Roseflora é uma promissora alternativa para o mercado de plantas ornamentais. Pode ser utilizado para cultivo em vasos, jardins e para ornamentação de cercas, pérgulas e muros. Por ser altamente vigoroso, resistente a doenças e pragas e facilmente propagado vegetativamente, também apresenta grande potencial para uso como porta-enxerto para o maracujazeiro comercial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados. 2005. p.187-210.



JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V. Espécies nativas do Cerrado com potencial ornamental. In: Simpósio Internacional de Paisagismo, 3, Lavras, MG. Palestras. Lavras: UFLA. 2006. p.49-54.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados. 2005. p. 81-108.

JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Uso de espécies silvestres de *Passiflora* no pré-melhoramento do maracujá. In: Curso Internacional de Pré-Melhoramento de Plantas: Anais/Org. LOPES, M.A.; FÁVERO, A.P.; FERREIRA, M.A.J.F.; FALEIRO, F.G. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. p.133-137. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia / Documentos n 185)

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados. 2005. p.457-463.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p. (Souza & Meletti, 1997).

VANDERPLANK, J. Passion flowers. 3<sup>a</sup> ed. Cambridge: The MIT Press. 224p. 2000.

VASCONCELOS, M.A.S.; SILVA, A.C.; SILVA, A.C.; REIS, F.O. 2005. Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados. p.295-313.

PALAVRAS-CHAVE: *Passiflora coccinea*, *Passiflora setacea*, maracujazeiro, floricultura, melhoramento.

## Diversidade genética com base em características morfológicas e de marcadores moleculares (RAPD) em passifloras silvestres ornamentais.

Viana, Américo José Carvalho<sup>1</sup>; Araújo, Ioná Santos<sup>2</sup>; Ahnert, Dário<sup>2</sup>; Corrêa, Ronan Xavier<sup>2</sup>; Roza, Francisvaldo Amaral<sup>3</sup>; Freitas, Jôsie Cloviane de Oliveira<sup>4</sup>; Souza, Margarete Magalhães<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (UESC); <sup>2</sup>Professores da Universidade Estadual de Santa Cruz - Dept° de Ciências Biológicas, Pavilhão Jorge Amado, Rod. Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, BA, fone: (73) 3680-5055, email: [souzamagg@yahoo.com.br](mailto:souzamagg@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Bolsista de IC PIBIC, UESC-DCAA; <sup>4</sup>Apoio Técnico AT2 FAPESB, UESC - DCB.

### INTRODUÇÃO

As espécies de *Passiflora* silvestres, conhecidas como maracujazeiros, apresentam uma significativa variabilidade morfológica e grande potencial para ornamentação. Variabilidade genética tem sido relatada entre várias espécies por Crochemore et al. (2003), Sánchez et al. (1999), dentre outros. Devido à grande diversidade de formas e cores, essas espécies são de interesse ornamental em todo o mundo. São plantas trepadeiras que se sustentam por meio de gavinhas, com flores exóticas que, tanto na conformação dos componentes florais como na variedade de cores apresentadas, despertam curiosidade e atenção (Souza et al., 2005). O banco de germoplasma de *Passiflora* da Universidade Estadual de Santa Cruz mantém uma coleção de mais de 30 espécies, com ampla variabilidade genética, e que vêm sendo utilizadas em programa de melhoramento para produção de híbridos interespecíficos ornamentais destas instituições. Os acessos de origem silvestre apresentam características de importância para programas de melhoramento. Objetivando conhecer a diversidade genética para auxiliar na seleção de genitores para obtenção de híbridos ornamentais interespecíficos, procedeu-se à caracterização morfológica e ao uso de marcadores moleculares para o estudo de diversidade genética em *Passiflora* spp., por permitir um rápido estudo da variabilidade presente.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas seis espécies de *Passiflora* (*P. coriacea*, *P. palmeri*, *P. suberosa*, *P. foetida*, *P. micropetala* e *P. morifolia*), sendo quatro diferentes acessos por espécie, mantidos em cultivo protegido no campus da UESC. Para obtenção de dados morfológicos, foram analisadas as seguintes características (10 repetições em cada acesso): n° de flores/dia (NFL); n° de frutos/dia (NF); peso do fruto (PF) em gramas; diâmetro do fruto (DF) em milímetros; comprimento do fruto (CF) em milímetros; número de sementes/fruto (NS); peso da semente (PS) em miligramas; comprimento de semente (CS) em milímetros; largura foliar (LFo) em centímetros; comprimento foliar (CFo) em centímetros; área foliar (AFo) em cm<sup>2</sup> respectivamente. Os dados foram submetidos à análise multivariada (Cruz, 2006).

Foram utilizados 15 primers decâmeros RAPD visando avaliar a variabilidade genética entre 24 acessos pertencentes às seis espécies estudadas. Os 15 primers RAPD utilizados nas amplificações são apresentados na Tabela 1. Os dados binários obtidos foram usados para o cálculo do índice de similaridade de Jaccard, que gerou o dendrograma feito a partir do agrupamento pelo critério UPGMA.

### RESULTADOS

Os dados médios para as características morfológicas analisadas são apresentados na Tabela 2. As características mais importantes para caracterizar a diversidade entre as espécies foram CF e NFL. Segundo dendrograma (Figura1) gerado com dados de características morfológicas, *P. coriacea* foi a mais distante geneticamente das demais, enquanto *P. palmeri* e *P. foetida* foram consideradas próximas, o mesmo ocorrendo entre *P. suberosa* e *P. morifolia*. Os 15 primers RAPD utilizados nas amplificações (Tabela 1)

geraram um total de 134 bandas de DNA, todas polimórficas (Figura 2). Por meio do dendrograma (Figura 3), verificou-se a formação de seis grupos distintos para cada espécie. As distâncias genéticas entre os 24 acessos variaram entre 0,05 e 0,95. A menor distância foi de 0,05 entre os acessos P1 e P3, ambos pertencentes à espécie *P. morifolia*. Por outro lado, a maior distância genética (0,95) foi observada entre os acessos *P. coriacea* 31 e *P. palmeri* 49. Os dados obtidos no presente estudo permitiram concluir que há variabilidade genética dentro e entre os acessos das espécies avaliadas e que os marcadores RAPD foram satisfatórios em permitir a identificação de acessos divergentes.

Tabela 1. Relação das seqüências dos primers utilizados.

PRIMERS	Seqüência 5' → 3'	PRIMERS	Seqüência 5' → 3'
Primer 2	5'- CCTGGGTTCC -3'	Primer 13	5'- CCGGGGTTTT -3'
Primer 3	5'- CCTGGGTCCA -3'	Primer 15	5'- TTAACCGGGG -3'
Primer 4	5'- CCTGGGTGGA -3'	Primer 16	5'- TTCCCCGCGC -3'
Primer 5	5'- CCTGGGCCTC -3'	Primer 17	5'- CTACCCGTGC -3'
Primer 6	5'- GCCCGGTTTA -3'	Primer 24	5'- CCACAGCAGT -3'
Primer 7	5'- TCCGGGTTTG -3'	Primer 25	5'- ACCCCCCCGC -3'
Primer 11	5'- CCGGCCTTAC -3'	Primer 26	5'- GGACCCTTAC -3'
Primer 12	5'- CCGGCCTTAG -3'		

Tabela 2. Dados médios para as características morfológicas analisadas em quatro acessos de cada espécie.

Espécies	Características analisadas										
	NFL	NF	PF	DF	CF	NS	PS	CS	LFo	CFo	AFo
<i>P. coriacea</i>	9.6	7.7	0.4	8.8	8.4	8.2	4.7	3.7	8.6	7.0	19.3
<i>P. palmeri</i>	2.0	2.1	5.1	20.8	31.3	31.7	14.0	5.5	5.4	8.2	30.0
<i>P. suberosa</i>	1.6	1.9	6.0	24.1	29.2	24.5	18.9	5.1	7.9	6.6	31.1
<i>P. foetida</i>	5.1	14.1	1.5	16.4	17.5	18.3	9.8	5.1	7.3	8.0	39.9
<i>P. micropetala</i>	1.9	1.4	2.4	17.8	19.2	37.8	9.7	5.1	15.8	4.6	50.4
<i>P. morifolia</i>	2,9	2,4	5,9	25,7	23,8	107,4	5,66	4,3	9,7	5,1	37,2

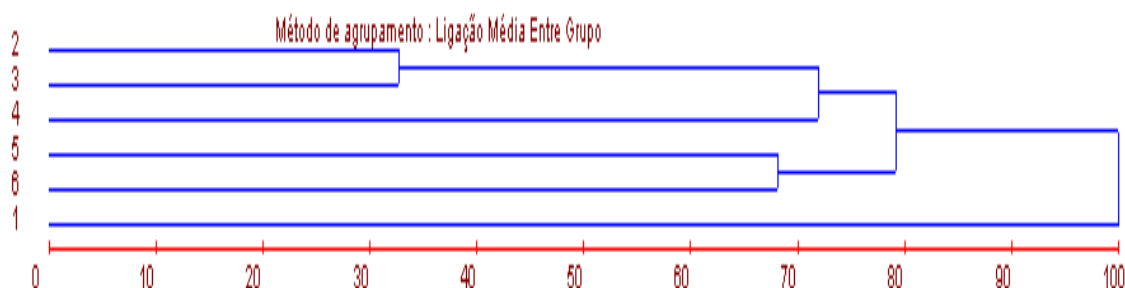


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 24 acessos representando seis espécies de *Passiflora*, com base em características morfológicas.

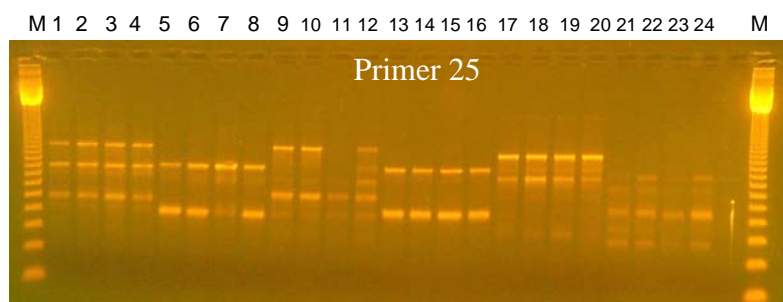


Figura 2. DNA polimórfico amplificado ao acaso de seis espécies de 24 acessos de *Passiflora* spp. Usando o primer 25. Linha M: marcador de peso molecular de 123 pb. Linhas 1-4, *P. coriacea*; 5-8, *P. palmeri*; 9-12, *P. suberosa*; 13-16, *P. foetida*; 17-20, *P. micropetala*; 21-24, *P. morifolia*.

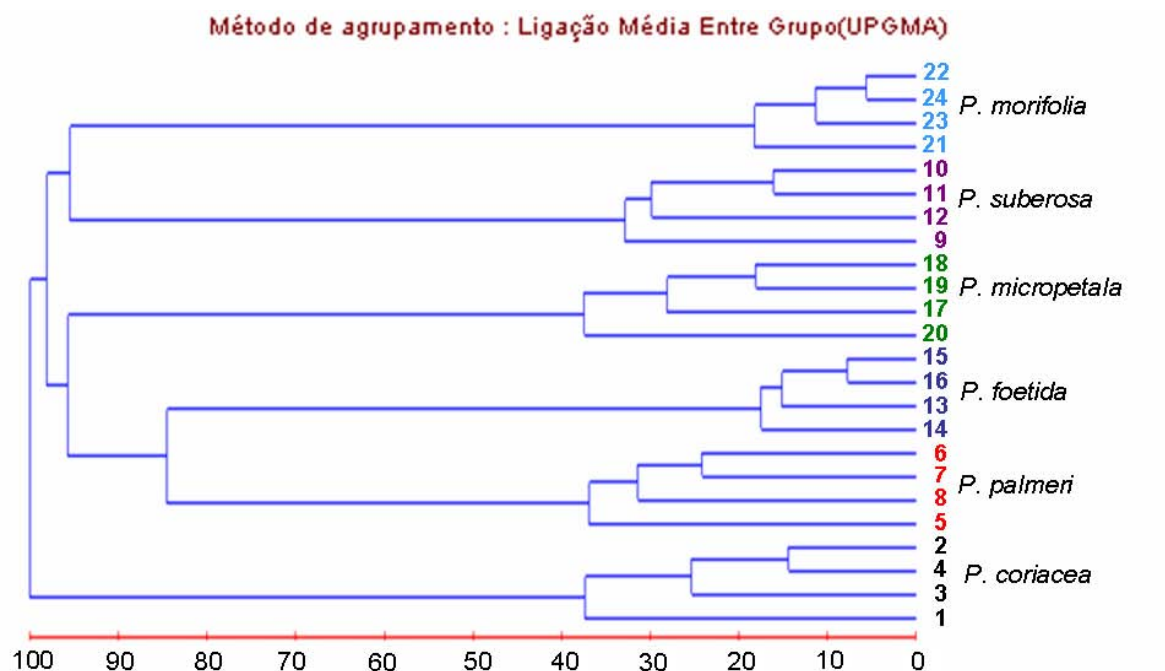


Figura 3. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 24 acessos representando seis espécies de *Passiflora*, agrupados pelo método UPGMA, com base na matriz de marcadores de DNA com bandas geradas utilizando 15 primers.

### CONCLUSÃO

Há variabilidade genética intra e interespecífica. A identificação dos acessos mais divergentes representa grande importância para o programa de melhoramento do gênero *Passiflora*, uma vez que tais informações serão utilizadas na identificação de genitores com boa capacidade de combinação visando cruzamentos interespecíficos para a produção de híbridos ornamentais.



AGRADECIMENTOS  
À UESC, FAPESB e CNPq.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H.B.C.; VIEIRA, L.G.E. Genetic diversity in passion fruit (*Passiflora* spp.) evaluated by RAPD markers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 46: 521-527, 2003.

CRUZ, C.D. **Programa GENES** (versão Windows), Aplicativo computacional em genética e estatística, Editora UFV, Universidade Federal de Viçosa, CD Rom, 2006.

SÁNCHEZ, I.; ANGEL, F.; GRUM, M.; DUQUE, M.C.; LOBO, M.; TOHME, J.; ROCA, W. Variability of chloroplast DNA in the genus *Passiflora* L. **Euphytica**, 106: 15-26, 1999.

SOUZA, M.M.; VIANA, A.J.C.; CRUZ, T.V.; BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; ROZA, F.A.; SOPRANI JR, G.G. Caracterização morfológica em espécies silvêstres de *Passiflora* para utilização como genitor as em produção de híbridos ornamentais. In: **15° CBFPO**, 2005.

#### PALAVRAS-CHAVES

Passifloraceae; maracujazeiros ornamentais, variabilidade genética.

## Híbridos de passifloras UESC-HD13 confirmados pela análise de RAPD, morfologia e citogenética.

Souza, Margarete Magalhães<sup>1</sup>; Araújo, Ioná Santos<sup>1</sup>; Viana, Alexandre Pio<sup>2</sup>; Almeida, Alex-Alan Furtado<sup>1</sup>; Silva, Delmira Costa<sup>1</sup>, Pereira, Norma Eliane<sup>1</sup>; Corrêa, Ronan Xavier<sup>1</sup>; Santos, Eileen Azevedo<sup>3</sup>; Abreu, Priscilla Patrocínio<sup>3</sup>; Conceição, Léo Duc Haa Carson Schwartzhaupt<sup>1</sup>; Roza, Francisvaldo Amaral<sup>4</sup>; Freitas, Jôsie Cloviane de Oliveira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Professores da Universidade Estadual de Santa Cruz - Dept° de Ciências Biológicas, Pavilhão Jorge Amado, Rod. Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, BA, fone: (73) 3680-5055, email: [souzamagg@yahoo.com.br](mailto:souzamagg@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) - DCAA, Campos dos Goytacazes, RJ; <sup>3</sup>Mestrandas do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (UESC), Ilhéus, BA; <sup>4</sup>Bolsista de IC PIBIC, UESC - DCAA; <sup>5</sup>Apoio Técnico AT2 FAPESB, UESC - DCB.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* L. é o mais expressivo da família Passifloraceae, constituído por mais de 400 espécies (Nunes, 2002), das quais cerca de 200 são nativas do Brasil (Oliveira, 1987). As passifloras, conhecidas como maracujazeiros, apresentam imenso potencial ornamental, ainda pouco explorado no Brasil, que apresenta um clima propício e uma ampla diversidade genética do gênero, sendo considerado seu centro de dispersão.

Embora muitas espécies sejam nativas do Brasil, não se tem explorado seu potencial para planta ornamental. Algumas características inserem as passifloras na lista de plantas potencialmente ornamentais: flores vistosas, coloridas e exóticas, embora abram apenas uma vez e em um período do dia; número abundante de flores; florescimento mais de uma vez ao ano; folhagem exuberante (Souza e Pereira, 2003). Estudos citogenéticos em espécies do gênero *Passiflora* ainda são escassos (Melo et al., 2001; Soares-Scott et al., 2005).

A produção de híbridos interespecíficos têm sido utilizada como estratégia para obtenção de plantas com flores de beleza única, como *P.* 'Sunburst' (Vanderplank, 2000). Para ratificar a natureza híbrida é de extrema importância no programa de melhoramento a confirmação da fecundação cruzada, para isso, diversas técnicas podem ser utilizadas para identificação de híbridos, desde aquelas baseadas em caracteres morfológicos, que são mais simples e requerem um menor custo, até as que utilizam marcadores moleculares (Oliveira et al., 2000). Em casos como os de genótipos híbridos, a confirmação da fecundação cruzada pode ser feita por meio de características de natureza dominante e de fácil visualização que sejam contrastantes entre as espécies envolvidas (genes marcadores). Porém, na ausência de tais características ou na impossibilidade de avaliação das mesmas rapidamente, ou em determinada fase da planta, marcadores moleculares de DNA têm sido utilizados com relevante sucesso (Alzate-Marín, 1996).

Esse trabalho teve como objetivos descrever híbridos UESC-HD13 e confirmar sua natureza híbrida utilizando marcador molecular RAPD, análise da segregação de características morfológicas e da variação cariotípica.

### MATERIAL E MÉTODOS

Quatro plantas de cada genitor e vinte plantas híbridas de *P. foetida* x *P. palmeri* foram analisadas, tendo sido obtidos dados preliminares. As características morfológicas observadas foram: área foliar (AF) em cm<sup>2</sup>; Largura da folha (LF), comprimento de folha (CF), diâmetro da flor (DF), comprimento da flor (CFL), diâmetro da corona (DC), comprimento do fio da corona (CFC) e comprimento do pedúnculo (CP) em mm; cor da folha (CFO), cor da corona (CCO) e cor das pétalas (CPE) pela Carta de Cores de Munsell para Tecidos Vegetais. As aferições foram realizadas nos genitores e em dois híbridos F<sub>1</sub>: UESC-HD13-101, flores brancas, e UESC-HD13-103, flores com detalhes em rosa.

O DNA genômico foi extraído, a partir de tecido foliar, utilizando-se o método CTAB (Doyle e Doyle, 1990) com algumas modificações (Viana et al., 2006). As reações de amplificação para RAPD foram realizadas utilizando-se 7 primers (Tabela 1). Os marcadores moleculares gerados pelos diferentes primers foram analisados quanto à presença ou não de bandas informativas para a confirmação da fecundação cruzada. As bandas informativas são alelos presentes no genitor masculino e ausentes no feminino, cuja presença nas plantas supostamente híbridas confirmam a fecundação cruzada. Foram consideradas bandas informativas somente aquelas com reprodutibilidade.

As amostras para as análises citogenéticas foram obtidas pelo método do esmagamento em pontas de raízes pré-tratadas com 8-Hidroxiquinolina por 22h e fixadas em Carnoy, sendo coradas pelo método de Feulgen e contra-coradas com carmim acético 2%. As lâminas foram transformadas em permanente imergindo-as em ácido acético glacial 20% até a liberação da lamínula, em seguida transferidas para etanol 80 e 100% por 12 segundos cada. As metáfases mitóticas foram fotografadas no Laboratório de Citogenética da UESC no microscópio *Leica DM RA2* em objetivas de 60 e 100x, ambas com zoom de 1,0x; 1,25x; 1,6x.

Tabela 1. Seqüência dos sete primers decâmeros RAPD utilizados para a confirmação da fecundação cruzada.

Primer	Seqüência 5'-3'
Primer 3	5'- CCTGGGTCCA -3'
Primer 4	5'- CCTGGGTGGA -3'
Primer 6	5'- GCCCGGTTTA -3'
Primer 11	5'- CCGGCCTTAC -3'
Primer 17	5'- CTACCCGTGC -3'
Primer 23	5'- GTCCACACGG -3'
Primer 25	5'- ACCCCGCGC -3'

## RESULTADOS

Os dados médios para as características morfológicas dos híbridos são apresentados na Tabela 2. Embora os dados referentes às características morfológicas ainda não sejam conclusivos, algumas características nos híbridos, como AF, LF, CF e CP, apresentaram valores médios próximos aos encontrados para um dos genitores, indicando interação alélica aditiva, enquanto as outras características apresentaram valores intermediários ou superiores aos dos genitores, indicando assim algum grau de dominância.

Tabela 2. Dados médios para as características morfológicas analisadas nos genitores e nos híbridos.

Híbridos	Características analisadas										
	AF	LF	CF	DF	CFL	DC	CF C	CP	CFO	CCO	CPE
<i>P. foetida</i>	33,8	63,9	77,1	37,3	11,1	27,1	9,5	26,0	5GY 5/10	Branca + 5RP 8/2	A carta de Munsell não se aplicou
<i>P. palmeri</i>	33,4	56,8	90,6	97,7	40,6	26,1	8,2	81,7	7.5GY 4/4	Branca	
UESC-HD13-101	32,3	61,2	95,0	70,6	23,0	33,6	13,9	72,4	5GY 4/8	Branca + 5RP 3/8	
UESC-HD13-103	32,4	60,5	97,7	69,1	25,4	33,6	13,9	94,8	5GY 4/8	Branca + 5RP 3/8	

Os marcadores RAPD mostraram-se excelentes ferramentas para verificar a ocorrência ou não da fecundação cruzada entre *Passiflora palmeri* e *Passiflora foetida*. Dos sete primers RAPD utilizados, o primer 11 gerou uma banda informativa para a confirmação da fecundação cruzada (Figura 1).

A ausência de bandas informativas em produtos de amplificação gerados pelos demais primers ocorreu por causa da ausência de polimorfismo de bandas de *Passiflora palmeri* e *Passiflora foetida*, da ausência de amplificação ou da ocorrência de produtos

fracos e com baixa reprodutibilidade. O uso de um ou dois primers com pelo menos uma banda informativa é suficiente para confirmar ou não a ocorrência da fecundação cruzada (Faleiro et al., 2003). Alzate-Marín (1996) propôs uma metodologia para confirmar a fecundação cruzada entre cultivares de feijão e soja com base na amplificação de uma banda RAPD informativa para cada cruzamento. A Figura 1 mostra a análise de banda informativa na confirmação da fecundação cruzada. Nota-se que, na análise, foram incluídas as amostras dos possíveis pais. Tal procedimento é importante por causa da possibilidade de haver polimorfismo intra-específico. De acordo com os resultados, das 20 plantas oriundas do cruzamento interespecífico, cinco tiveram sua fecundação cruzada confirmada até o momento.

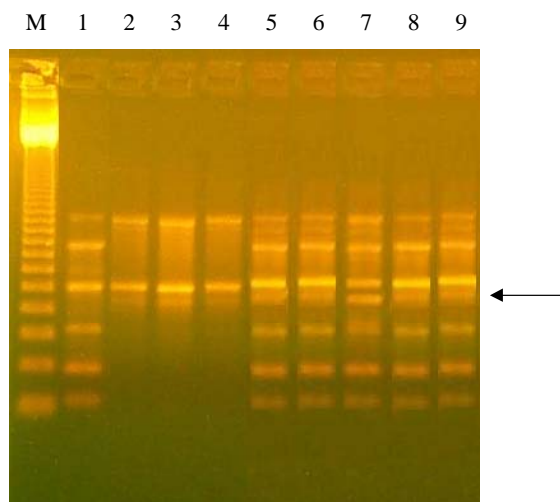


Figura 1. Produtos de amplificação de amostras de DNA gerados pelo primer decâmero RAPD (5'-CCGGCCTTAC-3'). As amostras foram extraídas de *Passiflora palmeri* como genitor feminino (1) e *Passiflora foetida* como genitor masculino (2, 3 e 4) e supostos híbridos F<sub>1</sub> (3 a 9). A primeira linha (M) equívale ao marcador de peso molecular DNA Ladder (123 pb). A seta indica a banda informativa para a confirmação dos híbridos interespecíficos

As análises citogenéticas demonstraram morfologia cromossômica diferenciada entre os genitores, *P. foetida* ( $2n = 22$ ) e *P. palmeri* ( $2n = 22$ ), e os híbridos ( $2n = 20$  ou  $2n = 22$ ). As fórmulas cariotípicas encontradas foram: *P. foetida* e *P. palmeri*, 20M + 2SM; UESC-HD13, 16M + 6SM ( $2n = 22$ ) ou 18M + 2SM ( $2n = 20$ ). O comprimento haplóide (CH) em *P. foetida*, *P. palmeri* e nos híbridos  $2n = 22$  e  $2n = 20$  foi de 12,48  $\mu\text{m}$ ; 15,58  $\mu\text{m}$ ; 13,58  $\mu\text{m}$  e 12,43  $\mu\text{m}$ , respectivamente. A variação cariotípica encontrada nos híbridos indica perda de um par de cromossomos em alguns genótipos, e tamanho menor do CH mais aproximado aos valores encontrados no genitor masculino.

## CONCLUSÃO

A hibridação interespecífica utilizando *P. foetida* e *P. palmeri* como genitores foi bem sucedida, podendo ser comprovada devido a: segregação das características analisadas nos híbridos, obtenção de banda informativa (primer 11) e variação cariotípica dos híbridos em relação aos pais.

## AGRADECIMENTOS

À UESC, FAPESB e CNPq.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZATE-MARÍN, A.L. Use of RAPD-PCR to identify true hybrid plant from crosses between closely related progenitors. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, p. 624-623, 1996.

DOYLE, J.J., DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12: 13-15, 1990.

FALEIRO, F.G.; PIRES, J.L.; LOPES, U.V. Uso de marcadores moleculares RAPD e microssatélites visando a confirmação da fecundação cruzada entre *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. **Agrotrópica**, v.15, n. 1, p. 41-46, 2003.

MELO, N.F.; CERVI, A.C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, p. 69-84, 2001.

NUNES, T.S. **A família Passifloraceae no estado da Bahia, Brasil**. 2002. 159f. Dissertação (mestrado em Botânica). Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2002.

OLIVEIRA, J.C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.), **Maracujá**. Ribeirão Preto; Legis Summa, p. 218-246, 1987.

OLIVEIRA. R. P.; NOVELLI. V. M.; MACHADO. M. A. Frequência de híbridos em cruzamento entre tangerina 'Cravo' e laranja 'Pêra'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.9, p.1895-1903, 2000.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.M.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I.R.S. Citogenética clássica e molecular em passifloras. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.), **Maracujá, germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: EMBRAPA, p. 213-239, 2005.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S. Passifloras como plantas ornamentais. In: Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 14, 2003, Universidade Federal de Lavras. **Anais...** Lavras: SBFPO, p. 24, 2003.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 3ª ed. Cambridge: The MIT Press, 224p. 2000.

VIANA, A. J. C. ; ARAÚJO, I. S. ; SOUZA, M. M. ; AHNERT, D. ; CORRÊA, R. X. Otimização da extração de DNA de espécies de *Passiflora* L. visando obtenção de marcadores RAPD. In: 2º Workshop de Recursos Genéticos Vegetais no Estado da Bahia, Ilhéus/BA. Magistra. Cruz das Almas/BA : **Magistra**, v. 18. p. 88-88, 2006.

## PALAVRAS-CHAVES

*Passiflora* spp.; maracujazeiro, híbrido interespecífico; RAPD; cariótipo.

## Efeito de carvão ativado e do grafite no crescimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae).

<sup>1</sup>Gonçalves, Letícia de Menezes<sup>1</sup>; <sup>1</sup>Prizão-Resende, Eliane Cristina; <sup>2</sup>Bassi, Alyadni Janayna Trento; <sup>2</sup>Milaneze-Gutierrez, Maria Auxiliadora; <sup>3</sup>Machado, Maria de Fátima Pires da Silva.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá, Pós-Graduação em Agronomia, Avenida Colombo 5970, CEP 8702900, Maringá-PR, fone (44) 3261 4961; e-mail: let\_over@hotmail.com, elianeprizao@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Cultivo de Orquídeas, Avenida Colombo 5970, CEP 8702900, Maringá-PR, fone (44) 32614961, e-mail: alyadni@hotmail.com; milaneze@uem.br. <sup>3</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, Laboratório de Genética e Cultura de Tecidos Vegetais, Avenida Colombo 5790, CEP 87020900; Maringá-PR, fone (44) 32614681, e-mail: mfpsmachado@uem.br.

### INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é uma das maiores entre as fanerógamas, sendo altamente especializada, e a mais evoluída dentre as monocotiledôneas (DRESSLER, 1993).

As orquídeas do gênero *Cattleya* são nativas do Brasil (BICALHO, 1980), e apresentam ocorrência natural no México, América Central e do Sul. São as orquídeas mais comercializadas na atualidade, agrupam inúmeras espécies e milhares de híbridos que possuem flores grandes e vivamente coloridas. São, em geral, epífitas, com pseudobulbo ereto e relativamente grande encimado por uma folha (unifoliada) ou duas folhas (bifoliadas) (PAULA e SILVA, 2004). Este gênero abrange mais de 50 espécies, sendo a *Cattleya bicolor* incluída na lista das mais conhecidas no Brasil (ENGLERT, 2000).

Em orquídeas, os métodos de germinação simbiótica foram substituídos pelo procedimento de germinação não-simbiótica, após Lewis Knudson, em 1922, relatar que o fungo não era necessário para a germinação das sementes de orquídeas, caso fossem semeadas em meio de cultura que contém ágar, sais apropriados e açúcar. Das várias fórmulas nutritivas propostas por Knudson, a mais conhecida é a fórmula "C" (KC) de 1946, sendo um meio apropriado para a maioria das espécies de orquídeas (GRIESBACH, 2002).

O carvão ativado é um aditivo bastante utilizado na propagação *in vitro* das mais diversas espécies vegetais, inclusive no cultivo de orquídeas. Diversas funções são atribuídas ao uso de carvão na cultura assimbiótica, e uma das principais utilizações é para o escurecimento do meio de cultura (Pasqual, 2001). Durante as suas revisões, Arditti *et al.* (1982) sugerem a adição de 2 g/L de grafite, quando se deseja apenas o escurecimento do meio em substituição ao carvão ativado, pois este último possui a capacidade de adsorção irreversível de certos compostos como certas vitaminas, hormônios, que podem ser limitantes para o desenvolvimento da cultura.

Neste sentido, a proposta do presente estudo foi verificar os efeitos da concentração de carvão ativado e de grafite, adicionados ao meio de cultura nos processos de desenvolvimento *in vitro* da espécie *Cattleya bicolor*. É possível que a concentração destes compostos possa ser indicada como eficientes para os processos de desenvolvimento das plantas, e que o grafite possa ser usado em substituição ao carvão ativado.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultivo de Orquídeas da Universidade Estadual de Maringá.

Após 8 meses de cultivo, 15 plantas em média de *Cattleya bicolor*, medindo aproximadamente 1,00 cm, foram transferidas para os meios de cultura (KC) adicionados das seguintes concentrações de carvão ativado e grafite: 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 7,5 g L<sup>-1</sup>, sob influência de luz contínua ou fotoperíodo de 14 horas.

O período de cultivo foi de 6 meses, e para cada tratamento com *Cattleya bicolor*, foram utilizadas quatro repetições e 35 ml de meio de cultura por frasco.

A fim de mensurar o desenvolvimento alcançado pelas plantas, foi calculado o Índice de Crescimento (IC) como proposto por Spoerl (1948) e modificado por Milaneze (1997), que considera o número de raízes e folhas formadas. Além do IC, foram observadas as seguintes variáveis: número de brotos, número de folhas, comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento da raiz. Foram consideradas as medidas da parte aérea e da raiz até 2 cm de comprimento, porque somente cerca de 11% e 20% de plantas apresentaram parte aérea e raiz respectivamente acima de 2cm.

Nos ensaios propostos, o pH de todos os meios de cultura foram ajustados com KOH (1N) e HCl (50%) para 5,30 antes da adição de 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e 2,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. Todos os frascos que continham os meios de cultura, juntamente com quatro amostras de pH de cada meio nutritivo para verificação do pH inicial, foram autoclavados por 20 minutos sob pressão de 1 atm. Ao término do período do experimento, foram verificados os valores de pH final alcançados pelos meios nutritivos onde foram cultivados os explantes.

As réplicas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de 25±2°C, sob influência de luz contínua ou fotoperíodo 14 horas, proporcionados por lâmpadas fluorescentes de 40 Watts, com intensidade luminosa de 14,9 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados e os dados foram analisados estatisticamente, utilizando o programa SAS (System for Windows V8) ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F e o Teste de Tukey com 5% da probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição de diferentes concentrações de carvão ativado ou de grafite, no meio de cultura KC, interferiu com a formação de brotos nas plantas de *C. bicolor*, mas não foram dependentes das condições de manutenção da cultura sob luz contínua ou fotoperíodo de 14 horas de luz; não foi verificado também, interação significativa entre a adição do carvão ativado, ou de grafite, e as condições de manutenção das plantas. Embora as comparações entre as médias dos números de brotos nas plantas mantidas nos meios com grafite ou carvão ativado não tenham mostrado diferenças significativas em relação ao meio controle, o maior número de brotos (2,81) em plantas de *C. bicolor* foi observado naquelas mantidas no meio KC que continham 7,5 g L<sup>-1</sup> de grafite, e os menores índices de brotações ocorreram nas plantas mantidas nos meios que continham 3,0 e 4,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado, e 1,5 g L<sup>-1</sup> de grafite (Tabela 1). A interferência negativa do carvão ativado na indução de brotos em plantas cultivadas em meio KC tem sido descrita para orquídeas (Araújo, 2004), e também para outras espécies de plantas (Fráguas, 2003).

O número de folhas formadas em *C. bicolor* não foi diferente nas plantas mantidas em meio de cultura KC que continham as diferentes concentrações de carvão ativado ou de grafite (Tabela 1). Para outras espécies de orquídeas, como para o híbrido *Brassocattleya* 'Pastoral x *Laeliocattleya*' Amber Glow', tem sido indicado que a adição de carvão ativado ao meio de cultura inibe a formação de folhas (Silva *et al.*, 2003). O número de folhas das plantas de *C. bicolor* também não foi dependente das condições de manutenção da cultura sob luz contínua ou fotoperíodo de 14 horas de luz.

Maior número de plantas de *C. bicolor* que apresentaram comprimento da parte aérea em torno de 2 cm ocorreu meio KC adicionado de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite, quando comparado ao tratamento controle.

A adição de 4,5 ou 6,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado ao meio de cultura KC promoveu o desenvolvimento de maior número de raízes nas plantas (Tabela 1). Por outro lado, a adição de diferentes concentrações de grafite não estimulou a formação de raízes em *C. bicolor*, indicando que o escurecimento do meio de cultivo por ambos compostos, carvão ativado ou

grafite, não deve ser o único fator determinante do aumento no número de raízes em plantas cultivadas em meio contendo o carvão ativado.

O número de raízes formadas nas plantas de *C. bicolor* não foi influenciado pelas condições de manutenção da cultura sob luz contínua ou com fotoperíodo de 14 horas, mas o desenvolvimento das raízes, comprimento das mesmas, foi dependente da adição de concentrações específicas de grafite ou carvão ativado, bem como da interação entre as diferentes concentrações destes compostos e as condições de manutenção com luz contínua ou com fotoperíodo de 14 horas; a interação foi significativa. Um maior número de plantas apresentando raízes que atingiram um comprimento de até 2 cm foi observado nos meio KC contendo 3,0 e 7,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado (Tabela 1).

A análise do índice de crescimento que considera o número de raízes e folhas formadas em cada planta, não apresentou diferença estatisticamente significante.

Tabela 1. Teste de média para as variáveis NB (número de brotos), NF (número de folhas), CPA (comprimento da parte aérea), NR (número de raízes), (CR) comprimento da raiz e (IC) Índice de Crescimento em *Cattleya bicolor*.

Tratamentos g L <sup>-1</sup>	Médias dos tratamentos					
	NB	NF	CPA	NR	CR	IC
KC (controle)	1,96 abc	5,56 ab	44,965 b	5,15 c	23,779 c	2514,4 a
KC + Grafite 1,5 g L <sup>-1</sup>	1,49 c	6,49 a	64,964 ab	5,11 c	30,648 abc	2515,0 a
KC + Grafite 3,0 g L <sup>-1</sup>	2,21 abc	5,44 b	65,650 ab	5,26 c	36,041 abc	2505,8 a
KC + Grafite 4,5 g L <sup>-1</sup>	1,82 abc	5,65 ab	69,389 ab	5,20 c	39,284 ab	2599,9 a
KC + Grafite 6,0 g L <sup>-1</sup>	2,59 ab	5,94 ab	81,558 a	5,52 bc	37,153 abc	2638,1 a
KC + Grafite 7,5 g L <sup>-1</sup>	2,81 a	5,71 ab	72,076 ab	6,53 abc	26,405 bc	2696,9 a
KC + Carvão 1,5 g L <sup>-1</sup>	2,28 abc	5,84 ab	64,211 ab	6,47 abc	28,025 abc	2643,0 a
KC + Carvão 3,0 g L <sup>-1</sup>	1,49 c	5,57 ab	66,345 ab	6,46 abc	42,693 a	2741,1 a
KC + Carvão 4,5 g L <sup>-1</sup>	1,51 c	5,97 ab	66,896 ab	7,07 ab	37,920 abc	2754,0 a
KC + Carvão 6,0 g L <sup>-1</sup>	1,92 abc	5,80 ab	65,991 ab	7,70 a	40,740 ab	2858,8 a
KC + Carvão 7,5 g L <sup>-1</sup>	1,67 bc	5,53 ab	65,733 ab	6,18 abc	41,814 a	2635,1 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Os valores de pH dos meios de cultura onde se desenvolveram as plantas de *C. bicolor*, previamente aferidos para 5,30 antes do processo de autoclavagem, foram alterados significativamente quando da adição de grafite ou de carvão ativado. Maiores variações no valor do pH inicial do meio de cultura foram verificadas com a adição de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite e com 4,5 g L<sup>-1</sup> do carvão ativado. O carvão ativado usado na concentração de 3,0 g L<sup>-1</sup> e o controle (KC) não determinaram alterações significativas no pH inicial do meio, enquanto as cinco concentrações de grafite promoveram aumento significativo na variação do pH inicial do meio de cultura KC.

Quanto aos valores do pH final, as diversas concentrações do carvão ativado provocaram a alcalinização dos meios de cultura; uma alteração pronunciada (valor do pH final = 7.12) pode ser verificada com a adição de 3,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado no meio de cultura das plantas de *C. bicolor*. Contrastando com as variações de pH detectadas nos meios de cultura contendo carvão ativado, no experimento-controle na ausência de ambos compostos, bem como nos meios contendo as diferentes concentrações de grafite, ocorreu uma acidificação do meio de cultura em relação ao pH inicial da cultura de *C. bicolor* (pH = 5,34).

As alterações nos valores do pH inicial e pH final dos meios de cultura são evidências que merecem destaque porque, o efeito positivo, ou negativo, nas variáveis sob influência das diferentes concentrações de carvão ativado ou grafite pode ser decorrente de alterações do pH dos meios e/ou da interação entre os diferentes fatores com as alterações de pH.



## CONCLUSÕES

O grafite não pode ser utilizado em substituição ao carvão ativado, pois a adição de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite ao meio KC estimulou o comprimento da parte aérea das plantas de *C. bicolor*, mas não promoveu nenhum efeito no desenvolvimento das raízes.

Houve efeito positivo da adição de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite para promover o desenvolvimento da parte aérea de plantas de *C. bicolor*.

A adição de carvão ativado e grafite promoveram variações pronunciadas no pH inicial e final do meio de cultura KC, principalmente nas diversas concentrações de carvão ativado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, A.G de. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídeas**. 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

ARDITTI, J. et al. Orchid seed germination and seedling culture – a manual. In: \_\_\_\_\_ (Ed.). **Orchid biology: reviews and perspectives II**. New York: Cornell University, 1982. p.244-370.

BICALHO, H.D. Aspectos ornamentais e taxionômicos das orquídeas gênero *Cattleya* no continente sul-americano. In: CONGRESSO DA ESCOLA SUPERIOR AGRONÔMICA LUIZ DE QUEIROZ, 37.; 1980, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1980. p.157-168.

DRESSLER, R.L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Portland: Dioscorides, 1993. 314p.

ENGLERT, S.L. **Orquídeas & bromélias: manual prático de cultivo**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 96 p.

FRAGUAS, C.B. **Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira ‘Roxo de Valinhos’ em diferentes ambientes**. 2003. 109f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

GRIESBACH, R.J. **Development of *Phalaenopsis* orchids for the mass-market: trends in new crops and new uses**. West Lafayette, 2002. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/pdf/griesbach.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2004.

MILANEZE, M.A. **Estudos em orquídeas nativas do Brasil: morfologia de sementes e cultivo assimiótico**. 1997. 233 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1997.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74p.

PAULA, C.C. de.; SILVA, H.M.P. **Cultivo prático de orquídeas**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2004. 106 p.

SILVA, E.F. da. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya* ‘Pastoral’ X *Laeliocattleya* ‘Amber Glow’**. 2003. 62f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003

SPOERL, E. Amino acids as sources of nitrogen for orchid embryos. **American Journal of Botany**, v.35, p.88-95, 1948.

PALAVRAS-CHAVE: *Cattleya bicolor* LINDL., propagação *in vitro*, aditivos.

## **Multiplicação de sequóia (*Sequoia sempervirens* L.) em meio de cultura esterilizado com hipoclorito de sódio.**

Ribeiro, Juliana Martins<sup>1</sup> e Teixeira, Silvio Lopes<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadora da área de Biotecnologia Vegetal da EMBRAPA – Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido-Laboratório de Biotecnologia Vegetal-Rodovia BR 428 Km 152, caixa postal 23, CEP: 56.300-970, fone (87) 3862-1711, ramal 167, Petrolina, Pernambuco, e-mail:

[juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br](mailto:juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br); <sup>2</sup> Professor Adjunto da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais-, Avenida Alberto Lamego, 2000, CEP: 28013-602, fone (22) 2726- 1664, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, e-mail: [teixeira70@yahoo.com.br](mailto:teixeira70@yahoo.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

Dentre as alternativas existentes para tornar as instalações das biofábricas mais econômicas, as mais importantes seriam a substituição da de autoclavagem por alguma outra técnica mais econômica, bem como o uso da luz solar na iluminação da sala de crescimento de plantas (Ponce et al., 2000).

A autoclavagem, técnica mais comumente utilizada para a esterilização de vidrarias, meios de cultura e materiais cirúrgicos em laboratório (Burger, 1988), é uma operação dispendiosa, devido ao elevado custo do equipamento e do igualmente elevado consumo de energia, podendo levar à decomposição de componentes do meio de cultura, como a sacarose (Street e Lowe, 1950; Ball, 1953). Por estes motivos, a substituição desta técnica de esterilização por alguma outra menos dispendiosa e que não comprometa a integridade do meio nutritivo seria altamente desejável.

O desenvolvimento de protocolos de esterilização de meios de cultura por meios químicos é de grande interesse nesse sentido, entretanto, pouca informação é encontrada na literatura científica. Snow (1985) relatou o emprego de peróxido de hidrogênio para reduzir a contaminação de meios de cultura para germinação de sementes de orquídea, enquanto Yanagawa et al. (1995) afirmam ter obtido sucesso na inoculação de sementes de orquídea em meio de cultura, em condições não assépticas, esterilizando-o com hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio.

Atualmente, Teixeira (2005), Teixeira et al. (2006) levantaram informações que lhes permitiram desenvolver um protocolo de preparo de meio de cultura utilizando o hipoclorito de sódio com eficiência total. O objetivo desta pesquisa foi comparar a eficiência deste protocolo com o protocolo convencional, que utiliza a autoclavagem como método de esterilização, bem como analisar o comportamento de plantas de sequóia em meio de cultura esterilizado com hipoclorito de sódio.

### **METODOLOGIA**

Culturas-estoque de *Sequoia sempervirens*, mantidas por passagens de 30 dias, sob fotoperíodo de 16 horas, iluminância de  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , temperatura de  $27 \pm 2$  °C, em meio nutritivo contendo sais de MS (Murashige e Skoog, 1962), vitaminas,  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de inositol e  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose, foram utilizadas como doadoras de explantes para esse experimento.

A vidraria utilizada no preparo e acondicionamento do meio de cultura foi proveniente do depósito, onde havia sido armazenada após o uso anterior, depois de lavada com detergente e enxaguada com água clorada com 0,001 % de hipoclorito de sódio (preparada a partir de solução de hipoclorito de sódio a 6,75 %). No momento de preparo do meio, a vidraria foi novamente enxaguada com água clorada adicionada de 0,003% de hipoclorito de sódio, excetuando-se os tratamentos controle A e B, cujos utensílios foram enxaguados apenas com água deionizada, e os tubos nos quais seriam adicionados os meio de cultura para inoculação das plantas, que foram enxaguados no momento da adição do meio de cultura aos tubos.

Após o enxague das vidrarias, procedeu-se o preparo da água utilizada para completar o volume final do meio de cultura, constituindo-se de água deionizada adicionada de 0,0005% de hipoclorito de sódio (p/v). O preparo da mesma foi feito em recipiente previamente enxaguado em água clorada com 0,003% de hipoclorito de sódio (p/v).

Em seis Erlenmeyers, cada um correspondente a um tratamento, foram adicionados todos os reagentes para o preparo dos meios de cultura, conforme Murashige e Skoog (1962). Os tratamentos consistiram das seguintes concentrações de hipoclorito de sódio (p/v): a) meio de cultura sem adição de NaClO e autoclavado (controle A); b) meio de cultura adicionado de 0,002 % de NaClO; c) meio de cultura adicionado de 0,003 % de NaClO; d) meio de cultura adicionado de 0,004 % de NaClO; e) meio de cultura adicionado de 0,005 % de NaClO; e f) meio sem adição de NaClO, mas sem autoclavar (controle B).

Após 15 minutos da adição do NaClO aos diferentes tratamentos, o pH foi ajustado para  $6,0 \pm 0,1$ , o volume final de cada tratamento foi completado com a água de preparo de meio (0,0005% de NaClO), e os Erlenmeyers com os meios de cultura foram introduzidos no forno de microondas para fusão do PHYTAGEL.

Após a fusão do PHYTAGEL, realizou-se a enxague em água clorada com 0,003% de hipoclorito de sódio (p/v) dos tubos de ensaio nos quais foram adicionados os meios de cultura de cada tratamento. Todas as operações iniciais de preparo do meio de cultura foram efetuadas em ambiente não estéril. O enchimento dos frascos foi efetuado na capela de fluxo laminar 15 minutos após o enxágüe destes em água clorada com 0,003 % de hipoclorito de sódio.

Um mês após a inoculação dos explantes nos meios com os tratamentos foram coletados dados referentes ao número e comprimento médio dos ramos por cultura, e ao número de culturas contaminadas para os meios autoclavados e esterilizados quimicamente.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 6 tratamentos, sendo a unidade experimental constituída de um explante por tubo e 20 repetições. Foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey com 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra uma cultura de cada um dos seis tratamentos, sendo cada tratamento constituído por 20 tubos de ensaio.



**Figura 1.** Plantas de *S. sempervirens* representativas de cada um dos seis tratamentos A, B, C, D, E e F.

Não foram observadas diferenças morfológicas significativas entre as plantas de todos os tratamentos com NaClO, havendo diferenças apenas quanto ao número e ao comprimento dos ramos.

A tabela 1 mostra dados referentes ao número e a porcentagem de culturas contaminadas e ao tamanho e número médio de ramos por cultura dos tratamentos autoclavados e aqueles contendo 0,002; 0,003; 0,004 e 0,005% de hipoclorito de sódio no meio nutritivo. Os dados referentes ao tamanho e número médio de ramos por cultura do tratamento no qual não foi feita esterilização por nenhum dos dois métodos (autoclavagem ou esterilização química), não foram adicionados a tabela, devido terem todas as culturas sido contaminadas.

**Tabela 1.** Número e porcentagem de culturas de sequóia contaminadas e número e tamanho médio de brotos em função da concentração de hipoclorito de sódio (p/v) adicionado ao meio de cultura. Os dados acompanhados de pelo menos uma mesma letra, são estatisticamente iguais segundo o Teste de Tukey a 5% de probabilidade

NaClO adicionado ao meio de cultura (p/v)	Tratamento	Culturas contaminadas		Número médio de ramos por cultura	Comprimento médio dos ramos por cultura (cm)
		Número	Porcentagem		
0 (autoclavado)	A	1 b	5	3,63 d	3,27 a
0,002	B	1 b	5	5,53 a	2,46 d
0,003	C	0 b	0	5,28 ab	2,56 cd
0,004	D	0 b	0	5,1 b	2,65 c
0,005	E	0 b	0	4,0 c	2,84 b
Sem esterilização	F	20 a	100	-	-

De acordo com os dados da tabela 1, o tratamento autoclavado A e os tratamentos esterilizados quimicamente B, C, D e E apresentaram número de culturas contaminadas estatisticamente iguais entre si e menores do que o valor apresentado pelo tratamento sem esterilização. A partir do tratamento C, que corresponde a da concentração de 0,003% de hipoclorito de sódio no meio de cultura, não ocorreu qualquer contaminação, indicando serem estas concentrações seguras neste sentido.

O valor médio de número de ramos por cultura foi mais elevado para as concentrações de 0,002 e 0,003% de hipoclorito de sódio no meio de cultura. Todos os tratamentos esterilizados quimicamente apresentaram valores superiores àquele observado no tratamento controle autoclavado. Também foi observado que os tratamentos contendo 0,002; 0,003; 0,004 e 0,005% de hipoclorito de sódio no meio nutritivo apresentaram comprimentos médios de ramos estatisticamente diferentes do valor observado no tratamento controle autoclavado, porém pouco abaixo dele. Contudo, os comprimentos totais dos ramos, resultantes da multiplicação do número médio de ramos com o comprimento médio dos mesmos por tratamento, nos tratamentos contendo 0,002; 0,003 e 0,004% de hipoclorito de sódio no meio de cultura ultrapassaram 13 cm, enquanto no tratamento autoclavado não chegaram a atingir 12 cm. Levando-se em consideração que, em geral, um maior número de ramos implica em um menor comprimento desses, esta correspondência pode ser vista na tabela 1, onde se observa que ao menor número médio de ramos para o tratamento esterilizado por autoclavagem, corresponde um maior comprimento médio de ramos para esse tratamento, e vice-versa.

Levando-se em conta estas considerações e também que a partir da concentração de 0,003% de hipoclorito de sódio no meio de cultura não ocorreu nenhuma cultura contaminada, as concentrações de 0,003 e 0,004% seriam as mais recomendadas para esterilização química de meio nutritivo para crescimento *in vitro* de *S. sempervirens*.

As concentrações ótimas de hipoclorito de sódio observadas neste trabalho diferem em muito daquelas relatadas por Yanagawa et al. (1995), as quais só foram bem sucedidas, quanto à obtenção de assepsia, quando esterilizaram o meio com 0,01 % de NaClO e o pulverizaram

com 0,5 % do mesmo esterilizante. Neste trabalho, ficou claro que as quantidades usadas pelos autores citados são altamente prejudiciais às culturas e que há possibilidade de se esterilizar meios de cultura com quantidades muito inferiores de cloro, desde que se aplique a metodologia utilizada nesta pesquisa. Antes de desenvolverem esta metodologia, Teixeira (2005) também só conseguiu esterilização completa do meio de cultura com concentrações muito elevadas de cloro.

## CONCLUSÕES

É possível obter assepsia de meios de cultura mediante o emprego de concentrações reduzidas de hipoclorito de sódio no meio nutritivo, quando combinadas a outras medidas de assepsia adotadas nesta pesquisa. A adoção do procedimento de esterilização química dispensa o uso de autoclave para esterilização de meios nutritivos e vidrarias. As concentrações entre 0,003 e 0,004% de hipoclorito de sódio no meio de cultura de *Sequoia sempervirens* induzem a formação de ramos em maior número, porém com menor comprimento do que em meio autoclavado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALL, E. Hydrolysis of sucrose by autoclaved media a neglected aspect in the technique of culture of plant tissues. **Bul. Torrey Bot. Club.** 80: 409-411, 1953.

BURGER, D. W. Guidelines for autoclaving liquid media used in plant tissue culture. **HortScience**, 23: 1066-1068, 1988.

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

PONCE, J. N. P., CASTELLÁ, M. S., PÉREZ, P. O. Possibilidades y potencial de la propagación masiva de plantas en Cuba. In: Instituto de Biotecnología de las Plantas (ed.) **Biotecnología Vegetal**. Villa Clara: Cuba, nº 1, p. 3-12, 2000.

SNOW, R. Improvements in methods for the germination of orchid seeds. **Amer. Orch. Society Bull**, 54: 178-181, 1985.

STREET, H. E., LOWE, J. S. The carbohydrate nutrition of tomato roots. II. The mechanism of sucrose absorption by excised roots. **Annals of Botany** 14: 307-329, 1950.

TEIXEIRA, S.L. Chemical sterilization of culture media. **Hort. Bras.** (Suppl.) 23(2): 668, 2005.

TEIXEIRA, S. L., RIBEIRO, J. M., TEIXEIRA, M. T. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 86(3): 375-378, 2006.

YANAGAWA, T., NAGAI, M., OGINO, T., MAEGUSHI, R. Application of disinfectants to orchid seeds, plantlets and media as a means to prevent *in vitro* contamination. **Lyndleyana**, 10(1): 33-36, 1995.

## PALAVRAS-CHAVE

*Sequoia sempervirens*, autoclave, micropropagação, esterilização química, hipoclorito de sódio.

## AGRADECIMENTOS

À FAPERJ, FENORTE/TECNORTE e à UENF por financiarem esse trabalho.

## Germinação *in vitro* de sementes e micropropagação de goiabeira, variedade Paluma.

Ribeiro, J. M.<sup>1</sup>; Melo, N. F.<sup>1</sup>; Ataíde, M. T. S.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Pesquisador (a) da área de Biotecnologia Vegetal da EMBRAPA Semi-Árido, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Rodovia BR 428 Km 152, caixa postal 23, CEP: 56.300-970, fone (87) 3862-1711, Petrolina, Pernambuco, e-mail: [juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br](mailto:juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br); [natoniel@cpatsa.embrapa.br](mailto:natoniel@cpatsa.embrapa.br); <sup>2</sup> Técnica do laboratório de Biotecnologia Vegetal da EMBRAPA Semi-Árido, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Rodovia BR 428 Km 152, caixa postal 23, CEP: 56.300-970, fone (87) 3862-1711, Pernambuco, e-mail: [terezaataide@yahoo.com.br](mailto:terezaataide@yahoo.com.br)

A cultura da goiabeira, especialmente da variedade Paluma, é de grande importância para a economia da região do Submédio do São Francisco. No entanto, perdas significativas estão ocorrendo nas plantações de goiaba em virtude da infecção pelo nematóide *Meloidogyne mayaguensis*. Sendo assim, a produção *in vitro* de goiabeira desta variedade é uma alternativa indicada para obtenção de mudas de alta qualidade sanitária. Entretanto, são encontrados na literatura diversos protocolos com muitas variações, tanto nas concentrações quanto nos tipos de reguladores de crescimento responsáveis por determinados padrões de desenvolvimento. Além disso, estudos realizados demonstraram a ocorrência da variação de protocolos de micropropagação da goiabeira entre as diferentes variedades. Tendo em vista estes fatos, a presente pesquisa teve como objetivo o estabelecimento de um protocolo responsável pela indução *in vitro* de brotos em plantas de goiabeira (variedade Paluma) germinadas de sementes. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 x 2, compreendendo seis concentrações de BAP (sem regulador de crescimento (controle); 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de meio nutritivo) e duas formulações de sais (MS e WPM). Um mês após a inoculação das plantas nos referidos tratamentos, foram coletados dados referentes ao número médio de brotos. Os resultados evidenciaram efeitos significativos independentes para os dois fatores estudados. Uma maior formação de brotos foi obtida com a formulação de sais WPM (2,06 brotos) comparativamente ao meio MS (1,86 brotos). Observou-se efeito quadrático ( $Y = 1,2109 + 0,2304X - 0,029628X^2$ ,  $R^2 = 0,82$ ), no qual estimou-se a dose de 3,89 mg L<sup>-1</sup> de BAP como a que proporcionou o maior número de brotos em plantas de goiabeira.

### PALAVRAS-CHAVE

*Psidium guajava*, indução de brotos, formulação de sais, fitorregulador.

## **Varição somaclonal em mudas micropropagadas de helicônia, *Heliconia bihai* cv. Lobster Claw I (HELICONIACEAE).**

Rodrigues, Paulo Hercílio Viegas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA) - Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais - Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – [phrviegas@hotmail.com](mailto:phrviegas@hotmail.com)

A ocorrência de variação somaclonal é descrita em diversas culturas de interesse agrônomo. A floricultura pode beneficiar-se dessa variabilidade, com o surgimento de novas variedades. Nesse trabalho estudou-se a ocorrência de variação somaclonal em mudas micropropagadas de *Heliconia bihai* cv. Lobster Claw I. Ápices caulinares foram introduzidos em meio de cultivo MS com adição de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 500 mg L<sup>-1</sup> de cefotaxima sódica. Após a seleção do ápice caulinar, o material foi submetido a dezoito subcultivos em meio de cultura MS, suplementado com 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, para indução de brotações. Foram selecionadas, ao acaso, 2.000 mudas e comparadas com mudas originadas de rizomas, para compor o ensaio no município de São Gonçalo do Amarante (RN). No cálculo da porcentagem dos variantes avaliaram-se as características: estatura da planta, a forma e coloração das folhas e pseudocaule. Consideraram-se como variantes as plantas cujos perfilhos também mostravam o mesmo tipo de variação. Constatou-se a ocorrência de três tipos de variantes somaclonais, VCF (Variação da Clorofila na Folha), VPB (Variante de Porte Baixo) e VCPP (Variante da Coloração do Pseudocaule e Pecíolo), este último com potencial ornamental. A taxa de variação somaclonal para *Heliconia bihai* cv Lobster Claw I, nas condições propostas, foi de 61,40 %.

Palavras-chave:

cultura de tecidos, floricultura, variabilidade.



## **Anatomia de *Dendranthema grandiflora* TZVELEV cv. Rage micropropagada sob diferentes condições de luz e sistemas de vedação.**

Braga, Franciane Tavares<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>3</sup>; Dignart, Samantha Lea<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Fitotecnia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323, e-mail: [ftbraga@yahoo.com.br](mailto:ftbraga@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Agricultura (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323; <sup>3</sup> Professor do Departamento de Biologia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1612; <sup>4</sup> Mestre em Agronomia Fisiologia Vegetal (UFLA-MG).

### **INTRODUÇÃO**

Planta cultivada pela beleza de suas inflorescências, o crisântemo tem grande valor comercial por ser uma das culturas ornamentais de maior aceitação no mercado. Hoje, no Brasil, é a segunda maior flor de corte, em volume de produção, sendo superada apenas pelo cultivo de rosas.

Devido a problemas com viroses, a cultura de tecidos tem sido utilizada na propagação do crisântemo, afim de obter propágulos sadias, vigorosas e homogêneas, qualidades cada vez mais exigidas pelo mercado, sendo que o melhor explante para micropropagação é o uso de segmentos nodais (Bhojwani 1990).

Diversas técnicas e metodologias têm sido aplicadas com o objetivo de fornecer condições ambientais que promovam o aumento na capacidade fotossintética do explante micropropagado. O uso de luz natural promovendo o aumento da irradiação sobre o propágulo e principalmente o uso de sistemas de vedação com filtros de membranas com microporos permeáveis a gases, os quais promovem o aumento na troca de gases entre o recipiente de cultivo e o ambiente externo, têm sido utilizados como ambientes alternativos de cultivo *in vitro*.

O desenvolvimento normal de uma planta pode ser afetado, principalmente quanto a aspectos anatômicos, quando estas são cultivadas fora do seu ambiente natural. A avaliação decorrente das condições de cultivo *in vitro* é uma base para a compreensão do processo de adaptação da espécie, assim como fator importante para o estabelecimento de um manejo eficiente para a condução de sistemas de produção comercialmente viáveis.

Fatores como alta umidade relativa no interior do recipiente e baixa irradiância podem provocar alterações significativas estruturais e funcionais nos tecidos, levando à incapacidade, principalmente no controle de perda de água, quando submetidas às condições adversas do ambiente natural.

A desordem estrutural nos propágulos *in vitro* é resultado de complexos e múltiplos fatores no meio de cultura. A consequência é baixa taxa de sobrevivência destes, quando transferidas para condições *ex vitro*.

Diante dessas considerações, o presente estudo teve como objetivo caracterizar anatomicamente folhas de crisântemo cv. Rage, cultivadas *in vitro*, comparando sistemas de vedação dos recipientes e ambiente de cultivo.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Segmentos nodais de crisântemo cv. Rage, contendo uma gema foram inoculados em frascos com meio MS acrescido de 15g L<sup>-1</sup> de sacarose e 5g L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos. Os frascos foram vedados com tampas convencionais de polipropileno e tampas com sistema de vedação com ventilação natural, e protegidos com filtro antifungo que permite trocas gasosas dentro dos recipientes, provenientes do fabricante Samavidros®. Posteriormente foram colocados diretamente sobre bancadas em casa de vegetação sob sombrite 50% e em frascos mantidos em sala de crescimento convencional, com fotoperíodo de 16 horas,

temperatura de 25<sup>±2</sup>°C, com irradiância de 52,5 W.m<sup>-2</sup> fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições, sendo que cada frasco continha cinco explantes. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

Após 60 dias, seguindo-se à coleta de dados fitotécnicos, os propágulos selecionados foram fixados em álcool etílico 70% até a realização das análises, para as quais foram coletadas folhas na posição dois, contando-se a partir do ápice.

As secções paradérmicas e a preparação das lâminas foram efetuadas seguindo a técnica descrita por Laboriau et al. (1961), analisando-se as variáveis: densidade estomática (nº de estômatos por mm<sup>-2</sup>) e diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos. As secções transversais e as lâminas foram preparadas seguindo a metodologia descrita por Kraus & Arduin (1997), as variáveis analisadas para as secções transversais foram: espessura das epidermes das faces superior e inferior, e espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso.

As fotomicrografias foram feitas utilizando-se máquina fotográfica acoplada a um microscópio Olympus modelo BX 60, em objetiva de 40x.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise da epiderme os estômatos são hipoestomáticos na fase abaxial da folha e do tipo anomocíticos e as células guardas de formato elíptico (Figura 1).

Ocorreu interação significativa entre os fatores luz e sistema de vedação para as variáveis densidade e diâmetro polar, porém, para diâmetro equatorial, não foi observada interação entre os fatores (Tabela 1).

Verificou-se maior densidade estomática na interação casa de vegetação com sistema de vedação ventilada. O aumento no número de estômatos sob maiores níveis de irradiância e ventilação natural demonstra que propágulos cultivados *in vitro* têm tendência semelhante às plantas cultivadas em outros ambientes, que é de aumentar a frequência de estômatos sob maior disponibilidade de luz e CO<sub>2</sub>.

Tabela 1. Dados anatômicos da epiderme de propágulos de crisântemo cultivados sob diferentes ambientes de cultivo: sala de crescimento (SC) e casa de vegetação (CV) e sistema de vedação com ventilação natural e convencional.

	Densidade (mm <sup>2</sup> )	
	Ventilação	Convencional
CV	163,54aA*	91,74bB
SC	150,96aA	141,34aA
	Diâmetro polar (µm)	
	Ventilação	Convencional
CV	49,45aA	56,81aB
SC	39,15bA	41,54bA
	Diâmetro equatorial (µm)	
	CV	SC
	39,09a**	29,13b
	Ventilação	Convencional
	34,08a	34,14a

\* Letras minúsculas correspondem às colunas e letras maiúsculas às linhas.

\*\*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Maior diâmetro polar foi obtido em propágulos cultivados em casa de vegetação com vedação convencional. Quanto ao diâmetro equatorial, os melhores resultados foram observados em casa de vegetação, não havendo diferença entre os sistemas de vedação

dos frascos. Maior diâmetro polar foi obtido em propágulos cultivados em casa de vegetação com vedação convencional.

De acordo com Khan et al. (2003), a forma elíptica é característica de estômatos funcionais, enquanto a forma arredondada está associada a estômatos que não apresentam um funcionamento normal. A funcionalidade dos estômatos sob diferentes condições de cultivo, condições estas que se aproximem ao ambiente natural podem impedir a excessiva dessecação desses propágulos micropropagados após o transplante, aumentando as taxas de sobrevivência durante o processo de aclimatização.

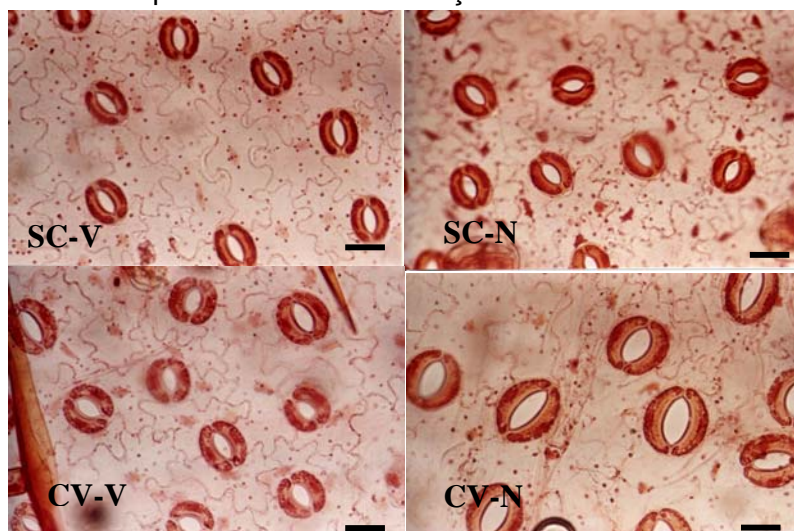


Figura 1. Secções paradérmicas na superfície abaxial de folhas de *D. grandiflora*. SC-V=sala de crescimento com sistema de vedação ventilado; SC-N=sala de crescimento com sistema de vedação convencional; CV-V casa de vegetação com sistema de vedação ventilado; CV-N=casa de vegetação com sistema de vedação convencional.

Analisando-se os ambientes de cultivo separadamente, observaram-se diferenças significativas entre estes. Para as epidermes abaxial e adaxial e para os parênquimas paliçádico e esponjoso, a maior espessura foi observada em casa de vegetação (Tabela 2). Para o sistema de vedação, foram observadas diferenças significativas apenas nas variáveis epiderme abaxial e parênquima esponjoso. Os demais não diferiram entre si, porém, os maiores valores, em todas as variáveis, foram obtidos em sistema de vedação convencional.

Em todas as condições de cultivo, as epidermes apresentaram apenas uma camada de células (epiderme uniestratificada), as células não apresentavam um formato definido, revestidas por uma fina camada de cutícula.

O mesofilo, nas duas condições de cultivo, mostrou-se dorsiventral, apresentando parênquima paliçádico na face superior da lâmina (adaxial) e parênquima esponjoso na face inferior (abaxial). O parênquima paliçádico apresentou apenas uma camada de células, com células de formato indefinido e arranjadas desorganizadamente (Figura 2).

Tabela 2. Espessura dos tecidos epidérmicos, parênquimas paliçádico e esponjoso de crisântemo desenvolvido durante o cultivo *in vitro* sob ambiente de casa de vegetação (CV) e sala de crescimento (SC) e sistemas de vedação.

	Epiderme abaxial (µm)	Epiderme adaxial (µm)	Esponjoso (µm)	Paliçádico (µm)
CV	24,00a	31,95a	110,70a	55,80a
SC	20,40b	27,50b	89,10b	33,50b
Ventilação	19,95b	29,10a	85,85b	44,45a
Convencional	24,45 <sup>a</sup>	30,45a	112,95a	44,85a

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Decetti (2004), trabalhando com *Annona glabra* L. sob sistema de vedação ventilada e convencional e vários níveis de irradiância, observou que o aumento da irradiância interfere significativamente no desenvolvimento do tecido foliar. Foi observado neste estudo que as epidermes adaxial e abaxial foram maiores em níveis maiores de irradiância, porém, o sistema de vedação não influenciou no desenvolvimento dessa epiderme. Já nos tecidos que compõem o mesofilo, a espessura dos dois tecidos aumenta à medida que se aumenta os níveis de radiação, independente do sistema de vedação do frasco.

O aumento na espessura da folha e células paliçádicas mais alongadas constituem um padrão clássico de resposta e de adaptação das plantas à alta intensidade de luz (Lee et al., 2000) e evidenciam a plasticidade adaptativa da planta.

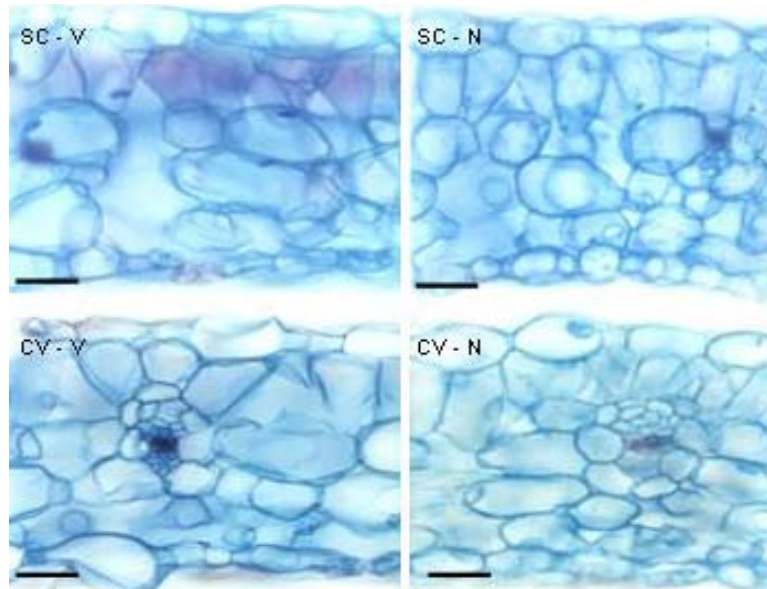


Figura 2. Secções transversais de folhas de *D. grandiflora* desenvolvidas durante o cultivo *in vitro*. Barra = 70 $\mu$ m. SC-V=sala de crescimento com sistema de vedação ventilado; SC-N=sala de crescimento com sistema de vedação convencional; CV-V casa de vegetação com sistema de vedação ventilado; CV-N=casa de vegetação com sistema de vedação convencional.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se com o presente trabalho que o ambiente casa de vegetação com luz natural e sistema de vedação com ventilação natural dos frascos aumentam o número de estômatos.

Os tecidos do mesofilo mostraram-se mais espessos nos ambientes casa de vegetação e sistema de vedação convencional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHOJWANI, S.S. **Plant tissue culture: applications and limitations**. Amsterdam: Elsevier, 1990. 461p.

DECETTI, S.F.C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93p.Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

KHAN, S.V. et al. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and conditions. **Biologia Plantarum**, Copenhagen, v.46, n.2, p.161-166, 2003.

KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Seropédica, 1997. 198p.

LABORIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO-LABORIAU, M.I. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.237-252, 1961.

LEE, D.W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipeterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, v.87, n.4, p.447-455, 2000.

#### PALAVRAS-CHAVE

Crisântemo; luz natural; sistema de vedação; micropropagação; anatomia vegetal.



## **Propagação *in vitro* de *Dendranthema grandiflora* cv. Rage submetida a alterações espectrais: características anatômicas e fisiológicas.**

Braga, Franczyane Tavares<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>3</sup>; Dignart, Samantha Lea<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Fitotecnia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323, e-mail: [ftbraga@yahoo.com.br](mailto:ftbraga@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Agricultura (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323; <sup>3</sup>Professor do Departamento de Biologia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1612; <sup>4</sup> Mestre em Agronomia Fisiologia Vegetal (UFLA-MG).

### **INTRODUÇÃO**

As plantas utilizam sinalizadores para promover determinados padrões de crescimento e esses sinalizadores respondem à qualidade de luz crescendo sob uma região limitada no espectro visível e exibindo morfologia e fisiologia determinadas pelas variações ocorridas neste espectro.

Estudos da qualidade de luz na micropropagação ainda são escassos e também não são claros os efeitos do espectro e de níveis de irradiância no crescimento de propágulos durante o cultivo *in vitro*. Alguns estudos revelam que, com a variação na qualidade de luz, pode-se manipular o crescimento *in vitro* de diversas espécies, de maneira alternativa à adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura.

Por outro lado, a complexidade e a variabilidade da radiação natural, e as reações de múltiplas respostas das plantas ao ambiente de cultivo, tornam difícil dizer como determinada manipulação na radiação natural afetará uma resposta da planta.

A manipulação espectral da radiação natural tem sido realizada em casas de vegetação por meio de filtros líquidos coloridos e de coberturas de náilon também coloridas, a fim de se obter respostas fotomorfogênicas das plantas.

Poucos são os estudos do uso de alteração na qualidade espectral na propagação *in vitro*, porém, existem inúmeros estudos com o uso de coberturas coloridas na propagação vegetativa convencional de ornamentais.

Diante do exposto, objetivou-se, com o presente trabalho, alterar a qualidade espectral em ambiente de luz natural na propagação *in vitro* de *Dendranthema grandiflora* cv. Rage, visando promover respostas morfofisiológicas de interesse para melhorar a qualidade desses propágulos, principalmente durante o processo de aclimatização.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O material vegetal constitui-se de segmentos nodais de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) da cultivar RAGE. Os segmentos foram cultivadas em meio MS acrescido de 6g.L<sup>-1</sup> de agar, o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C 1,2 atm, durante 20 minutos.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sendo os tubos fechados com tampas de polipropileno e vedados com plástico do tipo parafilme. O material foi colocado diretamente sobre as bancadas (casa de vegetação sem proteção de sombrite-CV) ou sob malhas especiais que, segundo o fabricante, alteram o espectro de luz solar ou, ainda, sob proteção adicional de sombrite (CVSP), com 50% de retenção da radiação solar. As malhas coloridas utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries®. Utilizou-se a malha ChromatiNet Vermelha 50% (CVSV), produzida com a finalidade de alterar espectro da luz, reduzindo as ondas azuis, verdes e amarelas e acrescentando as ondas na faixa espectral do vermelho e vermelho-distante. Outro tratamento foi feito com a malha ChromatiNet Azul 50% (CVSA) que, segundo o fabricante, muda o espectro da luz, reduzindo as ondas na faixa do vermelho e vermelho distante e acrescentando as ondas azuis (Figura 1).

Foram cultivadas também segmentos nodais em tubos mantidos em sala de crescimento (SC), com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , com radiação de  $5,52\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (LI-200SA; Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes, para servirem como tratamento controle.

A intensidade da radiação foi mensurada por meio de três sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb). As avaliações foram realizadas diariamente, durante um mês, sendo que, os sensores foram colocados nos três ambientes.

Após 60 dias de cultivo, o experimento foi avaliado através de:

Características Fitotécnicas: número de brotações (NB), número de folhas (NF) e de raízes por propágulo (NR), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento médio das raízes (CR).

Características Anatômicas: Os propágulos foram fixados em álcool etílico 70% GL. O número de estômatos foi determinado de acordo com a metodologia de Labreau et al., (1961). Foram utilizados quatro campos de cinco indivíduos por tratamento, para a determinação da densidade estomática. As determinações dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos foram realizadas utilizando-se uma ocular micrométrica acoplada em microscópio óptico, com objetiva com aumento de 40x.

Delineamento Experimental e Análise Estatística: O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com vinte repetições. Cada repetição foi composta por um tubo contendo um segmento nodal. As médias foram comparadas pelo Teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.



Figura 1. Ambiente de cultivo sob condições de luz natural.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Caracterização do ambiente: Os valores médios de radiação ( $\text{MJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) recebidos no ambiente de casa de vegetação foram: CVSS-2,56; CVSV-2,53; CVSA-2,45 e CVSP-1,98.

Características fitotécnicas: O ambiente de cultivo sala de crescimento foi eficaz para todas as variáveis observadas (Tabela 1), porém para as variáveis: comprimento de parte aérea e número de brotações, não houve diferença estatística entre os ambientes. Trabalhando com *Cattleya walkeriana*, cultivadas *in vitro* com manipulação da qualidade espectral tanto em luz natural quanto em condições de sala de crescimento, Dignart (2006) observou resultados semelhantes para as mesmas variáveis.

Radmann et al. (2001), ao cultivarem *Gypsophila paniculata*, sob diferentes intensidades luminosas, observaram que todos os propágulos mantidos em casa de vegetação desenvolveram menor comprimento de parte aérea, comparadas a propágulos mantidos em sala de crescimento. Esses resultados e os obtidos neste trabalho podem ser induzidos pela luminosidade deficiente da sala de crescimento, caracterizando um crescimento estiolado desses propágulos.

Tabela 1. Dados fitotécnicos para propágulos de crisântemo propagados *in vitro*. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott & Knott, a 5%.

LUZ	NF	CPA (cm)	NR	CR (cm)	NB
Casa de vegetação	22,8b	3,5b	4,4b	5,3b	1,2a
CV azul	24,5b	5,4a	4,5b	5,5b	1,4a
CV preto	25,4b	5,5a	4,9b	5,9b	1,5a
CV vermelho	25,9b	5,8a	4,9b	6,2b	1,5a
Sala de crescimento	36,6a	6,5a	10,7a	9,8 <sup>a</sup>	1,8a

Foi observado que sala de crescimento foi responsável por maior número de raízes e maior comprimento das mesmas. Segundo Tricoli et al. (1985), o estímulo dado ao enraizamento *in vitro* é resultado da soma do AIA endógeno dos brotos, com possíveis adições de auxinas ao meio. Sendo assim, pode-se supor que os resultados obtidos, por meio, de uma possível degradação das auxinas pelas altas intensidades luminosas, uma vez que esse fitohormônio ou regulador é fotooxidativo.

Características anatômicas: As folhas de *Dendranthema grandiflora* cv. Rage cultivadas sob diferentes espectros de luz, são hipoestomáticas apresentando estômatos apenas na fase abaxial da folha e seus estômatos são do tipo anomocíticos e as células guardas de formato elíptico (Figura 2).

Para densidade de estômatos, houve diferenças significativas entre os tratamentos aplicados, tendo as maiores densidades de estômatos sido observadas em casa de vegetação sem proteção de sombrite, seguido de casa de vegetação sombrite vermelho, que não diferiram entre si (Tabela 2). Já as menores densidades foram observadas em sala de crescimento, casa de vegetação sombrite azul e preto. Esses resultados corroboram os resultados obtidos por Dignart (2006) que, trabalhando com *Cattleya*, obteve maiores densidades em casa de vegetação sem sombrite, e podem, ainda, ser comparados aos observados por Rajapske & Kelly (1993), que obtiveram menor densidade estomática trabalhando também com crisântemo cultivados sob filtros de CuSO<sub>4</sub>, que produz os mesmos efeitos de filtros de luz azul.

Tabela 2. Dados anatômicos de folhas de crisântemo. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott, a 5%.

LUZ	Densidade (mm <sup>2</sup> )	DP (µm)	DE (µm)
Casa de vegetação	232,4a	58,6a	43a
CV azul	101,4b	52,9b	41,5b
CV preto	93,3b	53,6b	40,1b
CV Vermelho	165,1a	54,3b	40,5b
Sala de crescimento	87,2b	42,8c	28,7c

Quanto aos diâmetros polar e equatorial, foram observados maiores diâmetros no tratamento casa de vegetação sem proteção de sombrite, seguido dos tratamentos com proteção de telas coloridas, que não diferiram entre si estatisticamente. Dignart (2006) observou que o tratamento casa de vegetação com sombrite vermelho, mostrou os maiores diâmetros polar e equatorial, em estômatos de folhas de *Cattleya* cultivadas *in vitro*. O formato elíptico observado resulta em uma maior relação dos diâmetros polar e equatorial tal característica sugere uma maior funcionalidade desses estômatos, demonstrando assim que condições de cultivo sob luz natural em casa de vegetação, podem proporcionar uma maior funcionalidade desses estômatos.



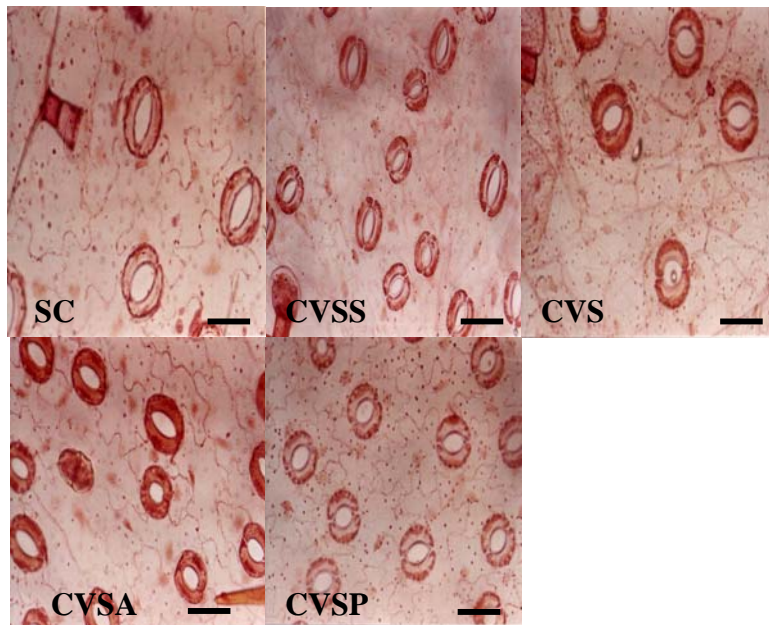


Figura 2. Secções paradérmicas na superfície abaxial de folhas de crisântemo. Barra = 30µm.

#### CONCLUSÕES

Alterações espectrais não promovem alterações fisiológicas e anatômicas significativas em propágulos de *Dendranthema grandiflora* cv. Rage cultivados *in vitro*.

Casa de vegetação sem a proteção de sombrite aumenta o número de estômatos e os diâmetros polar e equatorial dos mesmos, aumentando assim sua funcionalidade.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIGNART, S.L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas.** 2006. 132p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LABORIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO-LABORIAU, M.I. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.237-252, 1961.

RADMANN, E.B. et al. Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n.3, p.171-175, jul./set. 2001.

RAJAPSKE, N.C.; KELLY, J.W. Spectral filters influence transpirational water loss in *Chrysanthemum*. **HortScience**, Alexandria, v.28, n.10, p.999-1001, Oct. 1993.

TRICOLI, W.D.; MAYMARD, C.A.; DREW, A.P. Tissue culture of propagation of matures trees of *Prunus serotina* Enrh. I. establishment, multiplication, and rooting "in vitro". **ForestSic.**, v.31, n.1, p.201-208, 1985.

#### PALAVRAS-CHAVE:

Qualidade de luz; crisântemo; anatomia; luz natural; micropropagação.

## Luz natural e sistemas de vedação na propagação *in vitro* de *Dendranthema grandiflora* TZVELEV cv. Rage.

Braga, Francyane Tavares<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>3</sup>; Dignart, Samantha Lea<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Fitotecnia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323, e-mail: [ftbraga@yahoo.com.br](mailto:ftbraga@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Agricultura (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1323; <sup>3</sup> Professor do Departamento de Biologia (UFLA-MG), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, (35) 3829-1612; <sup>4</sup> Mestre em Agronomia Fisiologia Vegetal (UFLA-MG).

### INTRODUÇÃO

Planta cultivada pela beleza de suas inflorescências, o crisântemo tem grande valor comercial por ser uma das culturas ornamentais de maior aceitação no mercado. O uso das técnicas de cultivo *in vitro* tem sido aceito em numerosas áreas da agricultura comercial, especialmente com ornamentais, para a obtenção de plantas matrizes. A cultura de tecidos tem sido utilizada para a propagação comercial de crisântemo, buscando plantas livres de vírus e homogêneas. Devido aos altos custos de produção por meio da micropropagação convencional, relacionados à perda durante a aclimatização e ao alto consumo de energia elétrica em salas de crescimento tem-se buscado meios alternativos de propagação *in vitro* menos onerosas e mais próximas ao ambiente natural.

O sistema de propagação *in vitro* fotoautotrófica representa um tipo de cultivo caracterizado por fornecer condições ambientais, com aumento na disponibilidade de CO<sub>2</sub> e nos níveis de radiação, bem como redução na umidade relativa dentro dos frascos, induzindo a fotossíntese e conferindo capacidade de crescimento e multiplicação das plantas em meios sem ou com reduzida suplementação orgânica.

Algumas técnicas e metodologias têm sido desenvolvidas com o objetivo de fornecer condições ambientais que promovam a capacidade fotossintética do material micropropagado e favoreçam a aquisição de fotoautotrofia *in vitro*. As principais são: utilização de filtros de membranas com microporos permeáveis a gases, os quais promovem aumento na transferência de gases entre o recipiente de cultivo e o ambiente externo, sendo a atmosfera ao redor do recipiente mantida sob concentrações normais de CO<sub>2</sub> (sistema de ventilação natural) ou enriquecida com CO<sub>2</sub> (sistema de ventilação forçado) e a utilização de maior densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) por meio da iluminação natural.

Em diversas espécies tem sido demonstrado que a micropropagação fotoautotrófica, ou seja, na ausência de sacarose, tem apresentado algumas vantagens, quando comparada aos sistemas convencionais de micropropagação. Isso porque, promove maior crescimento e desenvolvimento *in vitro*, diminuindo o nível de contaminação; simplifica os meios de cultura, uma vez que permite a retirada de certos reguladores de crescimento e compostos orgânicos e promove rápido e vigoroso desenvolvimento das plantas durante a aclimatização.

Porém a eliminação total de uma fonte de carbono ao meio deve ser questionada em algumas situações, uma vez que o processo de hiper-hidricidade ou vitrificação pode ser provocado em função do baixo potencial hídrico do meio de cultura, disponibilizando mais facilmente água para os explantes.

Diante dessas considerações, o presente estudo teve como objetivo avaliar sistemas de vedação dos recipientes e ambiente de cultivo na propagação *in vitro* de crisântemo cv. Rage.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado constituiu-se de propágulos de crisântemo cv. Rage, já estabelecidas *in vitro*, dos quais foram retirados segmentos nodais contendo uma gema e inoculados em meio MS com adição de 15g L<sup>-1</sup> de sacarose e 5g L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C e 1,2 atm durante 20 minutos.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação sob sombrite 50%, sendo os frascos colocados diretamente sobre bancadas e em frascos mantidos em sala de crescimento convencional, com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25<sup>±20</sup>C, com intensidade de 52,5 W.m<sup>-2</sup> fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

Os frascos foram vedados com tampas convencionais de polipropileno e tampas com sistema de vedação com ventilação natural, e protegidos com filtro antifungo que permite trocas gasosas dentro dos recipientes, provenientes do fabricante Samavidros® (Figura 1).

A intensidade da radiação foi mensurada por meio de sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb), sendo as avaliações realizadas durante 30 dias.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x2 e delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições compostas por um frasco contendo cinco segmentos nodais cada frasco.

Após 60 dias de cultivo, foram avaliadas: número de folhas (NF), raízes (NR) e brotações (NB) por propágulo, comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento das raízes (CR).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5%.



Figura 1. Sistema de vedação: ventilado (A) e convencional (B).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O valor médio de radiação recebida no ambiente casa de vegetação durante os 30 dias avaliados foi de 1,15 MJ.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>.

Não houve interação entre os fatores ambiente de cultivo e o sistema de vedação para todas as variáveis fitotécnicas analisadas (Tabela 1).

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos do fator ambiente de cultivo, com exceção para o número de brotações, sendo o melhor resultado obtido em casa de vegetação.

Tabela 1. Dados fitotécnicos de plantas de crisântemo cv. Rage, cultivados *in vitro* em diferentes ambientes e diferentes sistemas de vedação. NF=número de folhas; CPA = comprimento de parte aérea; NR= número de raízes; CR = comprimento de raízes e NB= número de brotações.

Luz	NF	CPA (cm)	NR	CR (cm)	NB
CV	27,85a	7,36a	15,32a	13,57a	2,62a
SC	20,32b	6,21b	11,27b	10,11b	2,27a
Vedação	NF	CPA (cm)	NR	CR (cm)	NB
Ventilação natural	26,55a	6,92a	13,95a	10,99b	2,57a
Convencional	21,62b	6,61a	12,65a	12,68a	2,32a

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Quanto ao sistema de vedação, houve diferenças significativas apenas para as variáveis: número de folhas e comprimento de raízes, com os melhores resultados observados no sistema de ventilação natural e convencional, respectivamente. Para as demais variáveis, embora sem diferença significativa, o sistema de ventilação natural apresentou maiores médias.

Trabalhando com *Brassica oleracea*, Kanechi & Ochi (1998) avaliaram diferentes condições de cultivo *in vitro*, fotomixotrófica e fotoautotrófica. No primeiro caso, foram utilizados diferentes níveis de irradiação, sistema de vedação ventilado com filtro de membranas nas tampas e enriquecimento com CO<sub>2</sub> nos frascos, tendo o meio de cultura sido suplementado com 2% de sacarose. Já no segundo caso foram utilizadas as mesmas condições de cultivo, porém, sem suplementação de sacarose ao meio. Observou-se que baixas intensidades de irradiação e sistema de vedação ventilado, promoveram maior área foliar, bem como maiores massas de raízes e brotos nos propágulos em condições fotomixotróficas. Em condições fotoautotróficas, os melhores resultados também foram observados em condições de cultivo sob baixa irradiação e sistema de vedação ventilado, porém, quando comparados os resultados, verificou-se maior massa em brotos e raízes cultivadas em condições fotomixotróficas, mostrando a necessidade de uma fonte extra de carboidrato.

A ventilação natural é importante durante o processo de enraizamento *in vitro*, principalmente para subsequente adaptação das plantas durante o processo de aclimatização (Kubota & Kozai, 1992).

Para a realização da fotossíntese, é necessário obter energia por meio de uma fonte de carbono para que ocorra crescimento fotoautotrófico. O carbono fixado pelas folhas desenvolvidas *in vitro* em meios sem adição extra de sacarose é insuficiente para que ocorra um crescimento autotrófico, principalmente após transferência para aclimatização, sendo necessária uma adição desse carboidrato ao meio de cultura (Preece & Sutter, 1991).

Nguyen et al. (2001) avaliaram diferentes níveis de irradiação (baixo e alto) e condições de ventilação no frasco (baixo e alto) em cultivo *in vitro* de *Coffea arabusta* e verificaram que maior ventilação nos frascos, independente dos níveis de irradiação, promoveu maiores pesos de matéria seca, maior área foliar e comprimento de parte aérea.

O aumento dos níveis de irradiação durante o crescimento *in vitro* e a concentração de CO<sub>2</sub> no interior dos frascos, é um fator crítico para promover altas taxas fotossintéticas em plantas cultivadas em condições fotoautotróficas.

Da mesma forma que os demais trabalhos relatados e os resultados apresentados neste trabalho. Arigita et al. (2002), trabalhando com *Actinidia deliciosa*, obtiveram maior número de folhas e brotos e maior comprimento de parte aérea, em condições de incubação com maiores concentrações de CO<sub>2</sub> no interior do frasco e condições fotomixotróficas, ou seja, com adição de baixas concentrações de sacarose ao meio.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que o uso de luz natural foi eficiente na morfogênese *in vitro* de crisântemo e o uso de sistema de ventilação natural são eficazes na maioria das variáveis analisadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIGITA, L.; GONZALES, A.; TAMES, R.S. Influence of CO<sub>2</sub> and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured in vitro. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.115, p.166-173, 2002.

KANECHI, M.; OCHI, M. The effects of carbon dioxide enrichment, natural ventilation, and light intensity on growth, photosynthesis, and transpiration of cauliflower plantlets cultured in vitro photoautotrophically and photomixotrophically. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n.2, p.176-181, 1998.

KUBOTA, C.; KOZAI, T. Growth and net photosynthetic rate of *Solanum tuberosum* in vitro under forced and natural ventilation. **HortScience**, v.27, p.1312-1314, 1992.

NGUYEN, Q.T. et al. Photoautotrophic growth response of in vitro cultured coffee plantlets to ventilation methods and photosynthetic photon fluxes under carbon dioxide enriched condition. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.66, p.217-225, 2001.

PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In. DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p.71-93.

PALAVRAS-CHAVE

Crisântemo; ambiente de cultivo; fotoautotrófica; ventilação natural.

## Rizogênese *in vitro* de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith) sob influência dos fitorreguladores AIB e ANA.

Soriano, Leonardo<sup>1</sup>; Machado, Isaac Stringueta<sup>2</sup>; Bertozzo, Fernanda<sup>3</sup>; Ferreira, Cláudio Augusto Bonora Vidrih<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduando do Curso de Engenharia Florestal (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (19) 9141-8231, email: [isoriano@fca.unesp.br](mailto:isoriano@fca.unesp.br); <sup>2</sup>Professor da Faculdade de Ciências Agronômicas (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, email: [isaac@fca.unesp.br](mailto:isaac@fca.unesp.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agricultura (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 9712-4640, email: [bertozzo@fca.unesp.br](mailto:bertozzo@fca.unesp.br); <sup>4</sup>Graduando do Curso de Engenharia Florestal (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3815-8710, email: [cabvferreira@fca.unesp.br](mailto:cabvferreira@fca.unesp.br).

O curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith) é uma bromeliácea produtora de fibras com características físico-químicas ideais para o setor industrial automobilístico, têxtil, papel e mobiliário, razão principal do crescente interesse e expansão da cultura. A produção atual atende apenas 10% da demanda pelas indústrias e por isso, a necessidade do emprego de novas tecnologias de propagação, além das tradicionais. A rizogênese *in vitro* é a etapa final, e muitas vezes limitante, da micropropagação; técnica da cultura de tecidos que tem como principal vantagem a produção de mudas sadias, com fidelidade genética, em tempo e espaço reduzidos. Após a regeneração, multiplicação e alongamento das brotações, deve-se seguir a reversão da dominância apical e a indução da organogênese do sistema radicular que, em muitos casos, apresenta eficiência fisiológica reduzida, devido à menor quantidade de pêlos absorventes gerados *in vitro*. O objetivo principal do trabalho foi o estudo da influência dos reguladores vegetais ANA e AIB na indução da organogênese da raiz e o acompanhamento de seu desenvolvimento, até a fase de transferência para aclimação. Brotações multiplicadas e alongadas em meio MS, suplementado com 2mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1mg.L<sup>-1</sup> de ANA, com cerca de 5cm de altura, foram inoculadas em tubos de ensaio (Ø - 20mm e comprimento - 150mm) contendo 20ml do meio basal MS suplementado com os balanços de ANA / AIB (mg.L<sup>-1</sup>): T1 - ausência de fitorreguladores; T2 - 0,0/1,0; T3 - 1,0/1,0; T4 - 2,0/1,0; T5 - 1,0/0,0; T6 - 1,0/2,0; T7 - 2,0/2,0. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 8 repetições por tratamento e 1 brotação alongada por frasco. Após 45 dias de cultivo (intensidade luminosa de 1000 lux, fotoperíodo de 16 horas e temperatura média de 27± 3 °C), plantas enraizadas foram coletadas e separadas em parte aérea e raiz, para em seguida, serem avaliados os parâmetros: comprimento, número, massa fresca e seca das raízes. Em todas as repetições estabelecidas (100%) ocorreu a indução da rizogênese. Os resultados mostraram também superioridade em T3 e T5, 1 mg.L<sup>-1</sup> ANA / 1 mg.L<sup>-1</sup> AIB e 1mg.L<sup>-1</sup> ANA / 0 mg.L<sup>-1</sup> AIB respectivamente; apesar de neste nível de fornecimento exógeno de auxina ocorrer efeito sinérgico (T3) na indução e desenvolvimento de raiz, na ausência de AIB (T5) não houve diferença significativa entre os 2 tratamentos. No melhor resultado em número (10) e comprimento médio das raízes (4,61cm), a presença de AIB (T3) influenciou significativamente. Dentro das condições empregadas, pode ser concluído que a indução da diferenciação da rizogênese *in vitro* mostrou-se viável em todos os tratamentos (100% das brotações estabelecidas). O fornecimento exógeno dos reguladores vegetais ANA e AIB, nos balanços 1/1 e 1/0 (mg.L<sup>-1</sup>), promoveram maior produção de biomassa do sistema radicular; contudo, a primeira composição proporcionou melhor resposta em multiplicação do número e comprimento médio das raízes.

### PALAVRAS-CHAVES

*Ananas erectifolius*; Bromeliaceae; rizogênese *in vitro*; reguladores vegetais; ANA e AIB.



## **Aclimatização de plantas de porta-enxertos de macieira (*Malus domestica*), provenientes da micropropagação em substratos porosos.**

Vieira, Renato Luís<sup>1</sup>; [Andrade, Giuliano Dragone Sabbatino Calmont<sup>2</sup>](#)

<sup>1</sup> Pesquisador da Epagri - Estação Experimental de Caçador, Caixa Postal 591, CEP 89500-000, Caçador, SC, fone (49) 3561-2000, email: [revieira@epagri.rct-sc.br](mailto:revieira@epagri.rct-sc.br); <sup>2</sup> Acadêmico do curso de Engenharia da Horticultura da Fundação Universidade do Contestado – UnC, Caixa Postal 232, CEP 89500-000, Caçador, SC, fone (49) 3561-6200, email: [gdraga6@hotmail.com](mailto:gdraga6@hotmail.com)

### **INTRODUÇÃO**

Os métodos de propagação *in vitro* são bastante eficientes na multiplicação de fruteiras de clima temperado, tanto das matrizes como dos porta-enxertos, oferecendo maior segurança no aspecto fitossanitário das mudas produzidas em comparação com os métodos convencionais. Entretanto, o enraizamento e a aclimatização são pontos críticos na micropropagação, podendo, em alguns casos, limitar este processo. Para Collet & Lê (1987) e Alvarez et al. (1989), a propagação clonal *in vitro* de espécies lenhosas é dificultada principalmente porque muitas delas não produzem raízes. Por outro lado, o genótipo da planta determina diferentes respostas nos diferentes estágios da micropropagação e/ou no enraizamento (Marks, 1991; Haissig et al., 1992).

O processo de aclimatização consiste em retirar a planta da condição *in vitro* e transferir-la para a casa de vegetação, controlando fatores que possam limitar o desenvolvimento das plantas, como temperatura, luminosidade, água, substratos e nutrientes (Grattapaglia & Machado, 1990). Outro fator determinante para um bom desempenho das plantas durante o processo de aclimatização é a qualidade das raízes desenvolvidas *in vitro*, pela sua influência direta na taxa de sobrevivência.

Apesar de o ágar ser o agente solidificante mais utilizado, diversos autores tem citado problemas na qualidade do enraizamento. Hutchinson (1984), trabalhando com macieira, observou um pobre crescimento das raízes em ágar, apesar de apresentar mais de 90% de iniciação radicular. Pierik (1988) afirma que as raízes formadas *in vitro* não se apresentam totalmente funcionais quando transferidas para *in vivo*, sendo fracas e com poucos pelos absorventes, geralmente morrendo logo após. Debergh & Maene (1981), citaram a mesma razão para a perda de crescimento das brotações enraizadas *in vitro* após transferidas para *in vivo*. Segundo eles, raízes crescidas em ágar geralmente não possuem pelos absorventes, podendo vir a morrer logo após o transplante. Em trabalho de Leite (1995), a adição de vermiculita ao meio de enraizamento, melhorou o crescimento e a qualidade de raízes de plantas de pêra e, após o transplante em casa de vegetação, a taxa de sobrevivência também foi aumentada.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do enraizamento *in vitro* de plantas de porta-enxertos de macieira, em substratos porosos, na porcentagem de sobrevivência e produção de matéria seca após o período de aclimatização.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Epagri/Estação Experimental de Caçador, SC.

**Enraizamento *in vitro*:** Visando identificar o melhor substrato para enraizamento, brotações de porta-enxertos de macieira provenientes do quinto subcultivo, com 2,5 a 3,0 cm de comprimento e com dois pares de folhas, foram repicados para meio MS (Murashige & Skoog, 1962) reduzido a metade da concentração, suplementado com 1mg.L<sup>-1</sup> de ácido idolacético (AIA), 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio inositol e 30g.L<sup>-1</sup> de sorbitol, contendo diferentes substratos: ágar, cinza vegetal e vermiculita (nº 2, granulometria média).

Para a vermiculita e a cinza vegetal, 25 ml de meio nutritivo foi adicionado em cada frasco de vidro de 250 mL contendo 15 g dos respectivos substratos e em seguida esterilizado em autoclave durante 15 minutos a 120°C. Durante 30 dias, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ±1,5°C, fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 75 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

Completado o período de enraizamento *in vitro*, as plantas foram repicadas para bandejas de isopor alveoladas (128 células) contendo 100 mL de substrato comercial Plantmax® por célula. As bandejas foram mantidas por 28 dias em casa de vegetação com temperatura de 25 ±3°C e recebendo a irrigação por aspersão, sendo esta controlada em função das perdas provocadas por evapotranspiração, medida em minitanque Classe A.

Após o período de 28 dias, as plantas, já aclimatizadas, foram avaliadas quanto ao percentual de sobrevivência e produção de matéria seca.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições, e 20 plantas por repetição. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo que os dados de porcentagem foram transformados em arco-seno  $\sqrt{x/100}$ , conforme Sokal e Rohlf (1995). Para a comparação de médias foi utilizado o teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 28 dias da repicagem das plantas enraizadas para as bandejas alveoladas, a sobrevivência de plantas variou de 79,2 a 97,6%. A maior porcentagem de sobrevivência (97,6%) foi observada nas plantas enraizadas em meio contendo vermiculita, apresentando diferença significativa com as porcentagens observadas nas plantas enraizadas no ágar e na cinza vegetal. Com relação à matéria seca produzida pelas raízes e parte aérea, constatou-se uma variação desse parâmetro de 22 a 36,8% sendo que o tratamento com plantas enraizadas no meio contendo vermiculita apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Pela análise estatística, não se detectaram diferenças entre as plantas enraizadas no ágar e na cinza vegetal, para nenhuma das características analisadas. Apesar do resultado superior obtido com a cinza vegetal, em relação ao ágar, esperava-se um desempenho melhor deste substrato. Porém, o fraco desempenho pode ser atribuído ao fato da cinza vegetal ser um substrato industrial, originado da caldeira da indústria madeireira e apresenta granulometria inferior a da vermiculita e, por ser um produto de origem industrial, apresenta resíduos de substâncias químicas que podem ser tóxicas às raízes das plantas, como por exemplo o sódio.

Tabela 1. Porcentagem de sobrevivência e de matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de porta-enxertos de macieira aclimatizadas, em função do tipo de substrato utilizado no enraizamento *in vitro*.

Substrato utilizado no enraizamento <i>in vitro</i>	Sobrevivência de plantas após aclimatização* (%)	Porcentagem de matéria seca das plantas aclimatizadas (%)
Vermiculita	97,6 a	36,8 a
Cinza vegetal	82,4 b	23,4 b
Ágar	79,2 b	22,0 b
C.V. (%)	6,7	8,9

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. \*Valores transformados em arco-seno  $\sqrt{x/100}$ .

Em avaliações visuais, a vermiculita adicionada ao meio MS 50% para indução do enraizamento, proporcionou um sistema radicular mais rústico, com ramificações e presença de pelos absorventes que foram determinantes para a obtenção da alta taxa de sobrevivência de plantas (Figura 1). Esta conformação de raízes, já constatadas por Gratapaglia & Machado (1990), Leite et al. (2002) e, mais recentemente, por Vieira et al. (2006), se deve, em parte, a uma forma de aeração que tende a estimular a formação de um sistema radicular com maior volume. Pelos resultados obtidos neste trabalho, pôde-se inferir que o desenvolvimento de raízes destituídas de pelos absorventes, no meio com ágar, são ineficientes após o transplante para um substrato aerado, causando perda de vigor das plantas em casa de vegetação.





Figura 1. Arquitetura do sistema radicular de plantas de porta-enxertos de macieira (*Malus domestica*), aos 28 dias após a repicagem para substrato Plantmax<sup>®</sup>, em função do tipo de substrato utilizado no enraizamento *in vitro*; A) Planta enraizada em meio de cultura contendo vermiculita; B) Planta enraizada em meio de cultura contendo ágar (Caçador -SC, 2007).

## CONCLUSÃO

As maiores porcentagens de sobrevivência e produção de matéria seca obtidas neste trabalho, evidenciam que plantas de macieira provenientes de enraizamento *in vitro*, utilizando a vermiculita como suporte físico, possibilita ganhos substanciais na etapa de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, R.; NISSE, S.J.; SUTTER, E.R. Relationship between índole-3acetic acid levels in apple (*Malus pumilla* Mill) rootstocks cultured *in vitro* and adventitious root formation in presence of índole-3-butyric acid. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.89, p.439-443, 1989.

COLLET, G.F.; LÊ, C.L. Role of auxin, during *in vitro* rhizogenesis of rose and apple trees. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 212, p.273-280, 1987.

DEBERGH, P.C.; MAENE, L.J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.14, p.335-345, 1981.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**, Brasília, ABCTP/EMBRAPA, CNPH, 1990, 433p.

HAISSIG, B.E.; DAVIS, T.D.; RIEMENSCHNEIDER, D.E. Researching the controls of adventitious rooting. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.84, p.310-317, 1992.

HUTCHINSON, J.F. Factors affecting shoot proliferation and root initiation in organ cultures of the apple "Northern spy". **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.22, p.347-358, 1984.

LEITE, G.B. **Efeito de reguladores de crescimento, substratos, sacarose e intensidade luminosa na micropropagação de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Bartlett e do clone OH x F97**, 1995. 50f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade federal de pelotas – RS, Pelotas, 1995.

LEITE, G.B.; FINARDI, N.L.; FORTES, G.R.L. **Use of vermiculite as a substrate and effect of light on *in vitro* rooting of pears, cv. Bartlett and clone OHxF 97**. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v.26, n.5, p.977-982, 2002.

MARKS, T.R. Rhododendron cuttings. II. Factors affecting rooting following micropropagation. **Journal of Horticultural Science**, Washington, v.66, n.1, p.113-118, 1991.

MURASHIGE, T.E.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

PIERIK, R.L.M. Handicaps for the large scale commercial application of micropropagation. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.230, p.63-71, 1988.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry**, 3.ed. San Francisco: Freeman and Company, 1995. 776p.

VIEIRA, R. L.; LEITE, G. B.; WAMSER, A. F.; Efeito se substratos porosos no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira M-9 (*Malus pumilla*). In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 9., 2006, Fraiburgo. **Anais...** Fraiburgo: Epagri, 2006. p. 41.

## PALAVRAS-CHAVES

*Malus domestica*; Vermiculita; cultivo *in vitro*

## Efeito de meio, BAP e fotoperíodo na micropropagação de antúrio var. Eidibel.

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho<sup>1</sup>; Marcos Vinícius Marques Pinheiro<sup>2</sup>; Gabrielen de Maria Gomes Dias<sup>2</sup>; João Paulo Saraiva Morais<sup>3</sup>; Levi de Moura Barros<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [crisrina@cnpat.embrapa.br](mailto:crisrina@cnpat.embrapa.br); <sup>2</sup>Aluno de graduação em Agronomia (UFC-CCA), Campus do Pici, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Fortaleza-CE, fone (85) 3366-9668, email: [macvini@gmail.com](mailto:macvini@gmail.com); <sup>3</sup>Assistente A da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [saraiva@cnpat.embrapa.br](mailto:saraiva@cnpat.embrapa.br).

O objetivo do trabalho foi avaliar meios de cultura (MS e Pierik), acrescidos de BAP (6-benzilaminopurina) em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup>) sob fotoperíodos de 12 e 16 horas, na multiplicação *in vitro* de *Anthurium andraeanum* var. Eidibel. Foram utilizados como explantes, mudas obtidas da calogênese de folhas jovens de plantas matrizes. Estes foram inoculados em frascos com 30 mL de meio e as culturas mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 25 ± 1°C, intensidade luminosa de 1000 lux e fotoperíodo de acordo com o tratamento. A taxa de multiplicação foi avaliada aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação dos explantes. Usou-se o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 4 x 2, constituído de 5 repetições de 3 frascos, cada um com 4 explantes. Os dados foram transformados para a raiz quadrada de (x + 0,5), submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As maiores taxas de multiplicação foram obtidas no meio Pierik, em todas as avaliações, e no fotoperíodo de 16 horas, aos 45 e 60 dias. Em relação ao BAP, não foram registradas diferenças entre as concentrações testadas. Fixando-se 180 dias de subcultivo, obtêm-se um total teórico de mudas de 339, 119 e 54, respectivamente, com subcultivos de 30, 45 e 60 dias. Sendo assim, para a micropropagação, desta variedade de antúrio, recomenda-se meio Pierik acrescido de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, em fotoperíodo de 16 horas, com subcultivos a cada 30 dias.

### PALAVRAS-CHAVES

*Anthurium andraeanum*; Araceae; micropropagação; floricultura; cultivo *in vitro*.

## Efeito do BAP na multiplicação de diferentes espécies de helicônias.

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho<sup>1</sup>; Gabriellen de Maria Gomes Dias<sup>2</sup>; Marcos Vinícius Marques Pinheiro<sup>2</sup>; João Paulo Saraiva Morais<sup>3</sup>; Levi de Moura Barros<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [cristina@cnpat.embrapa.br](mailto:cristina@cnpat.embrapa.br); [levi@cnpat.embrapa.br](mailto:levi@cnpat.embrapa.br); <sup>2</sup>Aluno de graduação em Agronomia (UFC-CCA), Campus do Pici, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Fortaleza-CE, fone (85) 3366-9668, email: [gabriellen@gmail.com](mailto:gabriellen@gmail.com); [macvini@gmail.com](mailto:macvini@gmail.com); <sup>3</sup>Assistente A da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [saraiva@cnpat.embrapa.br](mailto:saraiva@cnpat.embrapa.br).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do 6-benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro* de quatro espécies de helicônias: *Heliconia psittacorum* cv. St. Vincent Red, *H. bihai* cv. Lobster Claw Two, *H. lingulata* cv. Fan e *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet. Gemas retiradas de plantas estabelecidas *in vitro* foram inoculadas em meio MS com diferentes concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg L<sup>-1</sup>). As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Aos 30, 45 e 60 dias após a inoculação, avaliaram-se os números de brotos obtidos por explante. O número de gemas foi significativamente maior na presença de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, quando comparado com meio sem a adição desta citocinina, em todas as avaliações, para as espécies *H. psittacorum*, *H. bihai* e *H. chartaceae*, e para *H. lingulata* apenas nas duas últimas avaliações. Durante a fase de multiplicação, o intervalo mais indicado para subcultivos sucessivos em *H. psittacorum*, *H. bihai* e *H. chartaceae* é de 30 dias, e para *H. lingulata*, de 45 dias.

### PALAVRAS-CHAVES

*Heliconia psittacorum*; *H. bihai*; *H. lingulata*; *H. chartacea*; cultivo *in vitro*.

## Efeito do número de explantes, meio de cultura e fotoperíodo na micropropagação de abacaxi ornamental *Ananas comosus* var. *ananassoides*

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho<sup>1</sup>; Cinthya Fontenele Vieira<sup>2</sup>; Felipe de Sousa Barbosa<sup>3</sup>; João Paulo Saraiva Morais<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1839, email: [cristina@cnpat.embrapa.br](mailto:cristina@cnpat.embrapa.br);

<sup>2</sup>Bolsista DTI-CNPq, Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [cinthya\\_fontenele@hotmail.com](mailto:cinthya_fontenele@hotmail.com); <sup>3</sup>Aluno de graduação em Agronomia (UFC-CCA), Campus do Pici, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Fortaleza-CE, fone (85) 3366-9668, email: [felipesbarbosa@gmail.com](mailto:felipesbarbosa@gmail.com); <sup>4</sup>Assistente A da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Bairro Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3299-1880, email: [saraiva@cnpat.embrapa.br](mailto:saraiva@cnpat.embrapa.br).

Um dos fatores limitantes na expansão da cultura do abacaxi ornamental é a disponibilidade de mudas, em quantidade e qualidade. A micropropagação permite obter maior taxa de multiplicação e garantia da alta qualidade fitossanitária das mudas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do número de explantes, do meio de cultura e do fotoperíodo na multiplicação *in vitro* de *Ananas comosus* var. *ananassoides*. Foram utilizados como explantes, brotos subcultivados *in vitro* de tamanho aproximado de 0,5 cm, seccionados longitudinalmente sem dividir. Estes foram inoculados em frascos, de capacidade de 220 mL, contendo 30 mL de meio MS suplementado com BAP e ANA. Todos os meios foram autoclavados a 121°C, por 15 minutos. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento a 25 ± 1°C, intensidade luminosa de 1000 lux e fotoperíodo de acordo com o tratamento. Os tratamentos foram distribuídos segundo delineamento inteiramente casualizado em fatorial 6 x 2 x 2: número de explantes por frasco (3, 4, 5, 6, 7 e 8); meio de cultura (MS + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA adicionado de 0,5 ou 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP) e fotoperíodo (12 e 16 horas), em doze repetições. As avaliações foram feitas aos 40 dias, observando-se o número de brotos emitidos por explante, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para fins de análise estatística, os dados foram transformados em raiz quadrada de x + 0,5. Apenas foram registradas diferenças quanto ao meio de cultura, indicando o MS + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP como o mais indicado. Do ponto de vista econômico, para micropropagação desta variedade de abacaxi ornamental, recomenda-se a utilização de oito explantes por frasco, no meio de cultura indicado, sob fotoperíodo de 12 horas.

### PALAVRAS-CHAVES

*Ananas comosus* var. *ananassoides*; Bromeliaceae; cultivo *in vitro*; produção de mudas; floricultura.

## Sacarose e qualidade de luz na propagação *in vitro* de plântulas de orquídea.

Costa, Fernanda Carvalho<sup>1</sup>; Araújo, Aparecida Gomes de<sup>1</sup>; Santos, Dalíllia de Nazaré dos<sup>1</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>1</sup>

\* Apoio Financeiro FAPEMIG e CNPq

<sup>1</sup> Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37.200-000. email: agaraujo2003@hotmail.com, mpasqual@ufla.br; <sup>2</sup> Departamento de Biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37.200-000.

### INTRODUÇÃO

Poucos estudos têm sido realizados buscando compreender o efeito da qualidade de luz no crescimento e no desenvolvimento dos tecidos de plantas cultivadas *in vitro*. Entretanto, esses estudos têm demonstrado que a qualidade da luz pode alterar a concentração de carboidrato e hormônios dentro da planta (Almeida & Mundstock, 2001; Erig & Schuch, 2005).

Embora o açúcar não seja o componente de maior custo no preparo do meio de cultura, a redução da sua concentração pode ser economicamente favorável, especialmente devido a uma menor propensão de crescimento de fungos e bactérias (Prakash et al., 2004).

Com o objetivo de otimizar o processo de micropropagação de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' avaliaram-se diferentes qualidades de luz e concentrações de sacarose adicionadas ao meio de cultura WPM.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de orquídea *Cattleya loddigesii* 'Tipo', oriundas de sementes germinadas *in vitro*, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, foram inoculadas em frascos de vidro (5 plântulas/frasco) com capacidade para 250 cm<sup>3</sup>, contendo 60 mL de meio WPM, acrescido de sacarose (0, 20, 40 e 60 g L<sup>-1</sup>), carvão ativado (2 g L<sup>-1</sup>), ágar (6 g L<sup>-1</sup>) e pH ajustado para 5,7±0,1 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos.

Após a inoculação, os frascos foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico e, em seguida, transferidos para diferentes condições de incubação (CV: casa de vegetação; CVA: casa de vegetação sob sombrite de malha azul; CVV: casa de vegetação com sombrite de malha vermelha; SC: sala de crescimento; SCA: sala de crescimento com sombrite de malha azul; SCV: sala de crescimento com sombrite de malha vermelha).

O material foi colocado diretamente sobre as bancadas em casa de vegetação e sob malhas fotoconversoras. As malhas coloridas utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries<sup>®</sup>. Utilizou-se a malha ChromatiNet Vermelha 50% e a malha ChromatiNet Azul 50%.

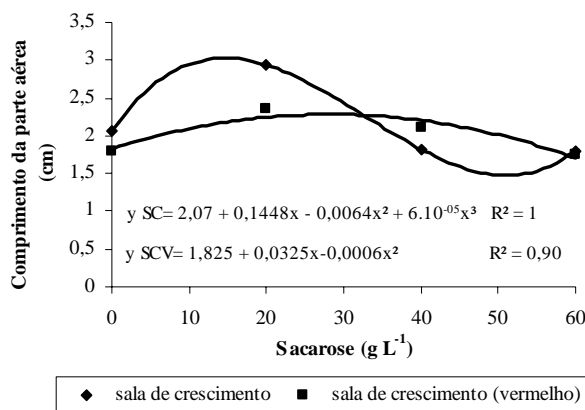
Foram cultivadas também plântulas em frascos mantidos em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas de luz, temperatura de 25±2°C, para servirem como tratamento controle. Em sala de crescimento, foram testadas também as coberturas coloridas ChromatiNet vermelha e azul.

A radiação média (MJ.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>) observada nos microambientes foram: CV=3,15; CVV=2,31; CVA=3,15; SC=3,33; SCV=1,30 e SCA= 1,61. Essas foram mensuradas por meio de sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x6, com 5 repetições constituída de 5 plântulas cada. Os dados foram comparados pelo programa Sisvar (Ferreira, 2000). O experimento foi avaliado após 90 dias da instalação, considerando-se: comprimento de parte aérea (cm), número de raízes por explante e massa seca total de plântulas (g).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O maior comprimento da parte aérea (3,0 cm) foi verificado com, aproximadamente, 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose (Figura 1) e cultivo sob condições de sala de crescimento (SC). O cultivo em SCV também foi significativo (2,25 cm), combinado com 27 g L<sup>-1</sup> de sacarose, mas com resultados inferiores ao cultivo em sala de crescimento (SC).



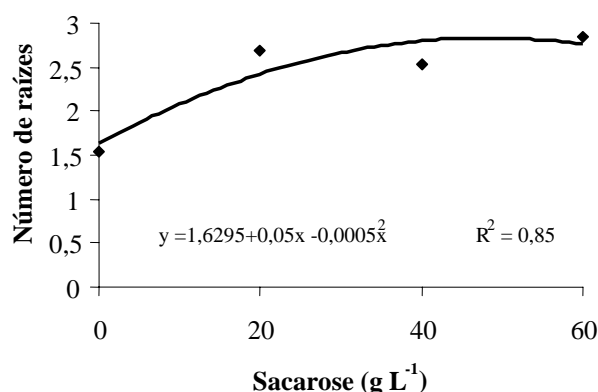
**Figura 1** Comprimento da parte aérea em plântulas de *Cattleya loddigesii* cultivadas em meio WPM e mantidas sob diferentes ambientes e concentrações de sacarose.

De modo geral, comprimentos de onda mais longos, principalmente na luz vermelha, promovem acentuado alongamento nas células, enquanto que as luzes azul e branca previnem o alongamento.

Dignart (2006), registrou os mesmos resultados, trabalhando com orquídea *Cattleya walkeriana*, constatando que 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose foi a concentração que resultou no maior comprimento de parte aérea. Oliveira et al. (2003) obtiveram melhores respostas para altura de parte aérea em plântulas de *Oncidium varicosum*, com a utilização de 60 g L<sup>-1</sup> de sacarose.

Para a condição de incubação, os resultados diferem daqueles encontrados por Dignart (2006), que obteve maior comprimento de parte aérea no cultivo de *Cattleya walkeriana*, em sala de crescimento, sob telas azul e vermelha (2,65 e 2,45, respectivamente).

Maior número de raízes (2,87 raízes) foi registrado com a adição de 45 g L<sup>-1</sup> de sacarose ao meio de cultura (Figura 2).



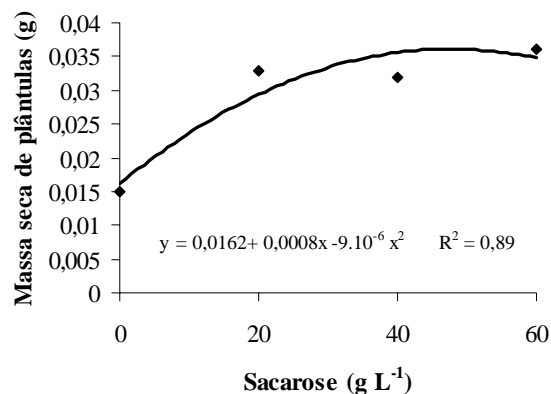
**Figura 2** Número de raízes em plântulas de *Cattleya loddigesii* cultivadas em meio WPM, com diferentes concentrações de sacarose.

Os resultados obtidos mostram que o desenvolvimento radicular desta espécie está diretamente relacionado à concentração de sacarose no meio de cultura e estão de acordo com os encontrados por Chong & Pua (1985) e Shibli et al. (1992), que observaram a necessidade de fornecimento de alta concentração de sacarose para a emissão de raízes em várias espécies.

Resultados similares foram obtidos por Dignart (2006), que também observou que o número de raízes foi menor para as menores concentrações de sacarose no meio de cultivo *in vitro* de orquídeas (*Cattleya*), porém, a sacarose não influenciou no comprimento das mesmas. Oliveira et al. (2003) registraram melhores respostas para número de raízes em plântulas de *Oncidium varicosum*, com a utilização de 60 g L<sup>-1</sup> de sacarose.

No presente trabalho, o fator qualidade de luz não teve influência sobre o número de raízes. Dignart (2006) observou respostas similares em todos os tratamentos, exceto sala de crescimento sob sombrite azul, com média inferior (2,71 raízes) no cultivo *in vitro* de *Cattleya walkeriana*.

A maior massa seca de plântulas (0,034 g) foi obtida com a adição de 45 g L<sup>-1</sup> de sacarose no meio de cultura WPM (Figura 3).



**Figura 3** Massa seca de plântulas de *Cattleya loddigesii* cultivadas em meio WPM, com diferentes concentrações de sacarose.

A redução de sacarose tem sido testada em diversas pesquisas como forma de melhorar a capacidade fotossintética dos tecidos cultivados *in vitro* e reduzir perdas atribuídas à contaminação microbiana. No entanto, diversos autores são contrários à idéia de redução de sacarose durante a micropropagação e afirmam que os mecanismos pelos quais a concentração de carboidrato influencia na aclimatização não são muito claros. Portanto, manter os níveis de sacarose em torno de 2%-3% na fase que antecede a aclimatização é recomendável, pois, desse modo, a planta acumularia reservas de energia para sobreviver melhor ao ambiente (Capellades et al., 1990; Wainwright & Scrace, 1989).

Neste trabalho, melhores resultados para parte aérea de plântulas (número de folhas, número de brotos e comprimento de parte aérea) foram obtidos em sala de crescimento, com a utilização de 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O sistema radicular e a massa seca de plântulas foram mais responsivos em meio com 45 g L<sup>-1</sup> de sacarose, e o cultivo em SCV proporciona maior comprimento de raízes.

## CONCLUSÕES

Melhor crescimento *in vitro* em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' são obtidos com a utilização de 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose e cultivo em sala de crescimento convencional. Maiores enraizamento e massa seca de plântulas são obtidos com a adição de 45 g L<sup>-1</sup> de sacarose no meio, independente do ambiente de cultivo. Para o crescimento de raízes recomenda-se cultivo sob sombrite vermelho em sala de crescimento.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. O afilhamento da aveia afetado pela qualidade de luz em plantas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS. v. 31, n. 3, p. 393-400, maio/jun. 2001.

CAPELLADES, M.; FOUNTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment Influences Anatomy of Stomata and Epidermal Cells in tissue cultured *Rosa multiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 1, p. 141-145, Jan. 1990.

CHONG, C.; PUA, E. C. Carbon nutrition of Ottawa three apple rootstocks during stages of *in vitro* propagation. **Journal of Horticultural Science**, Kent, v. 60, n. 3, p. 285-290, July 1985.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ERIG, A. C.; SCHUCH M. W. Tipo de luz na micropropagação *in vitro* de framboeseira (*Rubus idaeus* L.) 'Batum'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 27, n. 3, p. 488-490, dez. 2005.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais..** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 225-258.

OLIVEIRA, L. V. R.; FARIA, R. T.; FONSECA, I. C. B.; SACONATO, C. Influência da fonte e concentração de carboidratos no crescimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 265-272, 2003.

PRAKASH, S.; HOQUE, M. I.; BRINKS, T. Culture media and containers. In: **Low costs options for tissue culture technology in developing countries**. Austria: IAEA – International Atomic Energy Agency, 2004. p. 29-40.

SHIBLI, R. A.; SMITH, M. A. L.; SPOMER, L. A. Osmotic adjustment and growth responses of three *Chrysanthemum morifolium* Ramat. cultivars to osmotic stress induced *in vitro*. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 15, n. 9, p. 1373-1381, 1992.

WAINWRIGHT, H.; SCRACE, J. Influence of *in vitro* preconditioning with carbohydrates during the rooting of microcuttings on *in vitro* establishment. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 38, n. 3/4, p. 261-267, Mar. 1989.

PALAVRAS-CHAVES: *Cattleya*, micropropagação, Orchidaceae, carboidrato, luz natural.

## Qualidade de luz e GA<sub>3</sub> no crescimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* 'Tipo'\*

Araújo, Aparecida Gomes de<sup>1</sup>; Rodrigues, Felipe Almendagna<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>1</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>

\* Apoio Financeiro FAPEMIG e CNPq

<sup>1</sup> Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37.200-000. email: agaraujo2003@hotmail.com, mpasqual@ufla.br; <sup>2</sup> Departamento de Biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37.200-000.

### INTRODUÇÃO

A composição do meio de cultura e a concentração dos reguladores de crescimento são determinantes no crescimento e no padrão de desenvolvimento das plantas, na maioria dos sistemas de cultura de tecidos (Caldas *et al.*, 1998). Segundo estes mesmos autores, as giberelinas, a exemplo do ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), não são comumente incluídas nos meios de cultivo, em razão do suprimento endógeno ser suficiente para os processos morfogênicos. Porém, quando plantas produzidas *in vitro* não estão em condições de serem aclimatizadas, devido ao seu tamanho, o cultivo na presença de GA<sub>3</sub> pode provocar o alongamento em algumas espécies (Grattapaglia & Machado, 1998) e, conseqüentemente, um maior número de indivíduos poderá ser transferido para casa de vegetação.

A qualidade da luz utilizada nas salas de crescimento é também de suma importância na morfogênese *in vitro*.

Poucos estudos têm sido realizados buscando-se compreender o efeito da qualidade de luz no crescimento e no desenvolvimento dos tecidos de plantas cultivadas *in vitro*. Entretanto, esses têm demonstrado que a qualidade da luz influencia a eficiência biológica dos reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura, bem como o balanço hormonal nos tecidos (Erig & Schuch, 2005).

Com o objetivo de otimizar o crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' avaliaram-se diferentes concentrações de ácido giberélico e diferentes espectros de luz.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', oriundas de sementes germinadas *in vitro*, com 1,0 cm de comprimento e com raízes foram utilizadas como explantes.

Após um ensaio prévio, determinou-se que o melhor meio para essa espécie é o WPM, o qual foi suplementado com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (0; 2,5; 5,0; 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>), acrescido de 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 2 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 150 g L<sup>-1</sup> de polpa de banana 'Nanica' madura, solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado para 5,7±0,1.

Verteram-se 60 mL de meio em frascos de vidro com capacidade para 250 cm<sup>3</sup>, vedados com tampas plásticas translúcidas e autoclavados à pressão de 1,5 atm e à temperatura do 121°C, durante 20 minutos. Após a inoculação, os frascos contendo cinco plântulas cada, foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de, aproximadamente, 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

As culturas foram submetidas a diferentes qualidades de luz (branca, azul, amarela, verde e vermelha), obtidas com a utilização de duas folhas de papel celofane envolvendo os frascos de cultivo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x5, com três repetições com cinco plântulas cada. Decorridos 90 dias da instalação do experimento avaliaram-se número de folhas, número de brotos, número e comprimento de raízes (cm), comprimento da parte aérea (cm) e massa fresca de plântulas (g). Os dados foram analisados empregando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2000), por meio de regressão polinomial para concentrações de GA<sub>3</sub> e teste de Scott-Knott, para tipos de luz, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa entre os fatores estudados para qualquer uma das variáveis analisadas. O comprimento da parte aérea e o comprimento de raízes apresentaram significância dos fatores estudados isoladamente, enquanto que as variáveis número de raízes e massa fresca de plântulas apresentaram significância apenas para o fator GA<sub>3</sub>. Houve significância apenas para o fator luz quando se estudou o número de folhas. O número de brotos não foi afetado pelos tratamentos.

Maior número de folhas (11,07) foi verificado quando as plântulas foram cultivadas sob papel celofane azul (Tabela 1).

Tabela 1 Número de folhas, comprimento de raízes e da parte aérea em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', cultivadas em diferentes qualidades de luz.

Qualidade de luz	Número de folhas	Comprimento de raízes (cm)	Comprimento da parte aérea (cm)
Amarela	8,56 b	4,24 b	2,78 b
Azul	11,07 a	4,59 b	2,74 b
Branca	7,96 b	5,25 a	2,54 b
Verde	8,64 b	4,66 b	2,82 b
Vermelha	8,40 b	4,20 b	3,61 a
CV (%)	31,28	20,37	19,35

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si, significativamente, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

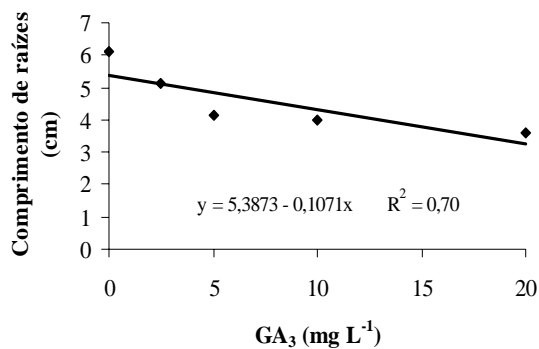
Segundo Erig & Schuch (2004), o cultivo de macieira sob celofane vermelho e em sala de crescimento com 4,4 µM de BAP no meio de cultura possibilita a obtenção de maior número de gemas e taxa de multiplicação nas cultivares Matergala e Galaxy e, conseqüentemente, maior número de folhas.

As plântulas apresentaram maior crescimento em altura (3,61 cm) sob cultivo em celofane vermelho (Tabela 1). As demais condições de luz tiveram resultados semelhantes, porém, inferiores. Resultados distintos foram encontrados por Erig & Schuch (2004), que registraram melhores resultados para número e comprimento de brotos na cv. Matergala de macieira, sob cultivo em luz amarela (celofane). Já na cv. Galaxy, a qualidade de luz não alterou esses parâmetros.

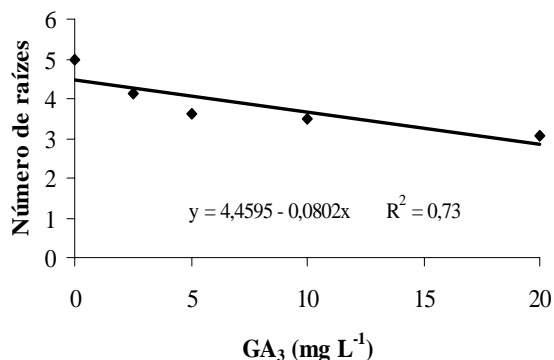
Segundo George (1996), a luz vermelha estimula o enraizamento em muitas espécies, porém, neste trabalho, o comprimento de raízes foi afetado apenas pela luz branca (5,25 cm). Os demais tratamentos de luz tiveram resultados semelhantes (Tabela 1), porém, inferiores à sala de crescimento convencional. Estes resultados concordam com os de Antonopolou et al. (2004), que encontraram melhores taxas nos parâmetros de enraizamento sob radiação branca, isso porque as folhas irradiadas com luz branca absorvem mais os comprimentos de ondas azul, vermelho e verde, necessários para ganhos energéticos pela fotossíntese, bem como para outros processos fisiológicos.

Pelo gráfico da Figura 1, observa-se que maior comprimento de raízes (5,39 cm) foi registrado na ausência de giberelina. Doses crescentes do fitoregulador promoveram decréscimo nesta variável.

O efeito ora inibitório, ora estimulatório dos reguladores de crescimento na formação de brotos e raízes em diferentes plantas pode estar associado à própria concentração, bem como a absorção dos reguladores de crescimento pelo substrato (George, 1996).



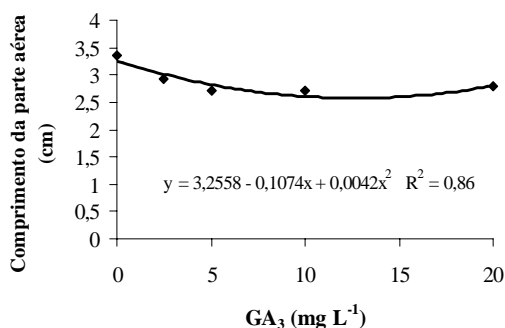
**Figura 1** Comprimento de raízes (cm) em plântulas de *C. loddigesii* 'Tipo' cultivadas em diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.



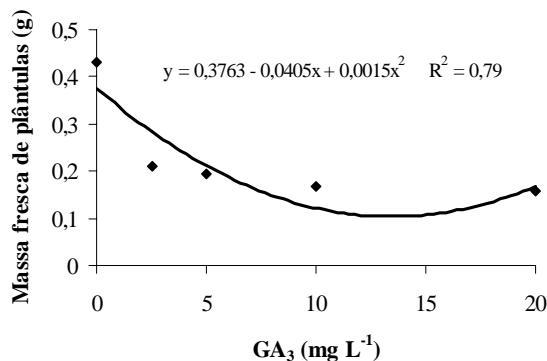
**Figura 2** Número de raízes em plântulas de *C. loddigesii* 'Tipo' cultivadas em diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

O maior número de raízes (4,46) foi verificado na ausência da giberelina (Figura 2). A qualidade de luz não influenciou o número de raízes, fato também constatado por Affonso *et al.* (2003) em camomila.

Avaliando-se o efeito do GA<sub>3</sub>, constata-se que melhores respostas para comprimento de parte aérea (Figura 3) foram registradas na ausência do regulador de crescimento (3,26 cm). A incorporação de GA<sub>3</sub> ao meio WPM teve pouca influência no desenvolvimento da parte aérea. Doses crescentes de GA<sub>3</sub> reduziram gradativamente o comprimento da parte aérea.



**Figura 3** Comprimento de parte aérea (cm) em plântulas de *C. loddigesii* 'Tipo' cultivadas em diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.



**Figura 4** Massa fresca de plântulas (g) de *C. loddigesii* 'Tipo' cultivadas em diferentes concentrações de giberelina.

A maior massa fresca de plântulas (0,376g) foi verificada também na ausência do regulador de crescimento (Figura 4). Com aumento nas concentrações de GA<sub>3</sub> adicionadas ao meio WPM, houve decréscimo nessa variável.

De forma similar, Araujo *et al.* (2005), testando GA<sub>3</sub> em *Laeliocattleya* x *Cattleya Walkeriana*, verificaram melhores resultados para a produção de massa fresca de plântulas, na ausência desse regulador de crescimento.

No presente trabalho, a adição de GA<sub>3</sub> no meio interferiu negativamente no desenvolvimento do sistema radicular e no acúmulo de biomassa das plântulas. O cultivo sob celofane vermelho induziu alongamento de parte aérea e o cultivo em sala de

crescimento (luz branca) induziu o crescimento de raiz. Ressalta-se que em papel celofane de cor vermelha, todos os comprimentos de onda são absorvidos e o vermelho, refletido.

#### CONCLUSÕES

O cultivo em sala de crescimento sob celofane vermelho aumenta o alongamento das plântulas.

A presença de GA<sub>3</sub> interfere negativamente no crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya loddigessi* 'Tipo'.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONOPOULOU, C.; DIMASSI, K.; THERIOS, I.; CHATZISSAVVIDIS, C. The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient concentrations of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 48, n. 4, p. 549-553, 2004.

ARAUJO, A. G.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; RODRIGUES, V. A.; FERREIRA, A. L. Meios de cultura e GA<sub>3</sub> no cultivo *in vitro* de um híbrido de orquídea. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 612, set. 2005. Suplemento.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. v. 1, p. 87-132.

ERIG, A. C.; SCHUCH M. W. Ação da 6-benzilaminopurina e da qualidade de luz na multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cvs. Galaxy e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS, v. 12, n. 2, p. 151-155, abr./jun. 2004.

ERIG, A. C.; SCHUCH M. W. Tipo de luz na micropropagação *in vitro* de framboeseira (*Rubus idaeus* L.) 'Batum'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 27, n. 3, p. 488-490, dez. 2005.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais..** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 225-258.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**, part 1 - the technology. 2. ed. Edington Limited, 1996. 1574 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae *Cattleya*, giberelina, qualidade de luz, cultura de tecidos.

## Fontes de nitrogênio no crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea *Cattleya loddigesii* 'Tipo'.

Araújo, Aparecida Gomes de<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>1</sup>; Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>1</sup>; Carvalho, Janice Guedes de<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Agricultura (DAG), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37.200-000. email: agaraujo2003@hotmail.com, mpasqual@ufla.br; <sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Ciências do Solo (DCS), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37.200-000. email:janicegc@ufla.br

### INTRODUÇÃO

O meio de cultura utilizado na micropropagação é um fator determinante para o sucesso do cultivo *in vitro* de orquídea. A fonte de sais minerais fornecida aos explantes é extremamente importante, assim como sua concentração. O nitrogênio é um dos principais nutrientes essenciais e ativos, sendo absorvido principalmente, na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). Por ser constituinte de várias biomoléculas essenciais, como aminoácidos, ácidos nucléicos, proteínas, enzimas e outros, sua assimilação se dá em diversos processos metabólicos da planta (Sakuta, 1987).

O efeito das diferentes formas inorgânicas sobre o crescimento e o desenvolvimento em cultura de tecidos é marcante: o nitrato, como única fonte de nitrogênio, sustenta boa taxa de crescimento em muitas espécies, sendo também a melhor forma de nitrogênio para algumas culturas, tais como cenoura, roseira e várias outras espécies. No entanto, há espécies que não crescem bem com presença de nitrato no meio de cultura, como por exemplo, calos de arroz, indicando que este tecido é incapaz de utilizar o nitrato como fonte de N (Caldas et al., 1998).

Mercier & Kerbauy (1998), comparando fontes de nitrogênio (glutamina e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) em *Tillandsia pohliana* (Bromeliaceae), verificaram que  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  induziu acréscimo nas concentrações de citocininas e, paralelamente, declínio no conteúdo de ácido indol acético (AIA). Além disso, proporcionou maiores massas fresca e seca em plântulas.

Outro elemento, o cálcio, desempenha papel importante na morfogênese, por causa da interação com substâncias reguladoras de crescimento. Parece haver associação entre o cálcio e as citocininas, principalmente nas áreas onde está ocorrendo diferenciação. O cálcio auxilia na desintoxicação de altas concentrações de outros elementos minerais na planta e exerce também função estrutural (atuando na formação da parede celular) e nos processos de divisão celular (Arruda, 2000).

Embora as orquídeas sejam objeto de muita pesquisa, existem poucos trabalhos realizados no cultivo *in vitro* dessa espécie na tentativa de se estudar fontes de nitrogênio de fácil aquisição em substituição e/ou redução ao nitrato de amônio, cuja comercialização é controlada pelo exército.

Diante do exposto, o presente trabalho teve o objetivo de otimizar o crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', avaliou-se o efeito de concentrações de nitrato de cálcio ( $\text{CaNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) e nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) adicionadas ao meio Wood Plant Medium (WPM).

### MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', oriundas de sementes germinadas *in vitro*, com 1,0 cm de comprimento e com raízes, foram inoculadas em frascos com capacidade para 250 cm<sup>3</sup>, contendo 60 mL de meio de cultura. Após um ensaio prévio, determinou-se o melhor meio para essa espécie como sendo o Wood Plant Medium (WPM) de Lloyd & McCown (1980).

Os tratamentos consistiram de concentrações de nitrato de cálcio (0, 278, 556, 834 e 1112 mg L<sup>-1</sup>) e de nitrato de amônio (0, 200, 400, 600 e 800 mg L<sup>-1</sup>) em todas as combinações possíveis. O meio foi acrescido de 2% de sacarose, 15% de polpa de banana

'Nanica' madura, 0,2% de carvão ativado, solidificado com 0,6% de ágar e pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$ , antes da autoclavagem, a  $121^\circ\text{C}$  e  $1,5 \text{ atm}$ , por 20 minutos.

Após a inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e  $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa, onde permaneceram por 90 dias. Os parâmetros analisados foram: número de folhas, número de raízes, número de brotos, comprimento da parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm) e massa seca de plântulas (g).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $5 \times 5$ , com cinco repetições de 5 plântulas cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados por regressão polinomial, com auxílio do programa Sisvar (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros avaliados número de folhas, de brotos e de raízes apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. A interação foi significativa para número de folhas e raízes, enquanto o fator nitrato de amônio foi significativo apenas para número de brotos. As demais variáveis não apresentaram diferenças entre os tratamentos.

Para número de folhas, houve significância da interação. Apenas a concentração de  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de nitrato de amônio combinada com concentrações de nitrato de cálcio influenciaram essa variável. Melhores resultados foram observados com a utilização de  $400 \text{ mg L}^{-1}$  ( $5 \text{ mM L}^{-1}$ ) de nitrato de amônio, na ausência de nitrato de cálcio (Figura 1), ocorrendo a formação média de 9,14 folhas por explante. Essa concentração de nitrato de amônio corresponde à concentração original do meio WPM.

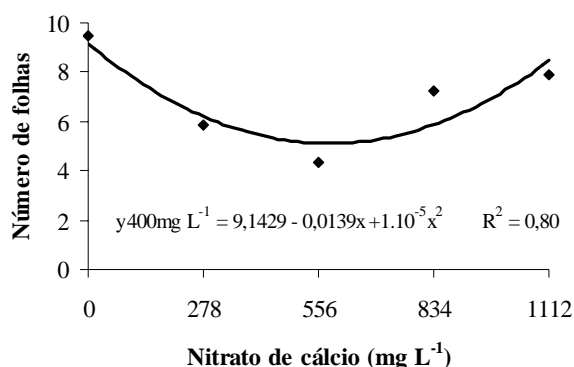


Figura 1 Número de folhas em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivadas em meio WPM contendo diferentes concentrações de nitrato de cálcio e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de nitrato de amônio.

Observou-se que não há necessidade da utilização de nitrato de cálcio no meio WPM para estimular emissão de folhas. Contudo, o meio WPM contém uma outra fonte de cálcio, o cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). No entanto, Kanashiro (2005) recomenda a utilização de  $9,38 \text{ mM L}^{-1}$  de nitrato de cálcio [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ] como fonte de cálcio a ser adicionada ao meio líquido MS modificado em vez de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , para crescimento *in vitro* de *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae).

À medida que houve incremento nas doses de nitrato de cálcio, registrou-se redução no número de folhas até a concentração de  $695 \text{ mg L}^{-1}$ , a partir da qual verificou-se aumento crescente do número de folhas (6,05) até a dose máxima utilizada ( $1112 \text{ mg L}^{-1}$ ).

A interação foi significativa, sendo que, apenas a dose de  $600 \text{ mg L}^{-1}$  de nitrato de amônio em combinação com as concentrações de nitrato de cálcio tiveram influência para essa variável. Maior número de raízes (4,3) foi verificado com  $600 \text{ mg L}^{-1}$  ( $7,5 \text{ mM L}^{-1}$ ) de nitrato de amônio (1,5 vez a concentração original do meio WPM) e  $278 \text{ mg L}^{-1}$  ( $1,18 \text{ mM L}^{-1}$ )

de nitrato de cálcio, que corresponde à metade da concentração original do meio WPM (Figura 2). A partir desse ponto, houve decréscimo no número de raízes. Essa tendência, provavelmente, indica que, para essa variável, uma menor relação  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  é necessária, para se obter melhores resultados.

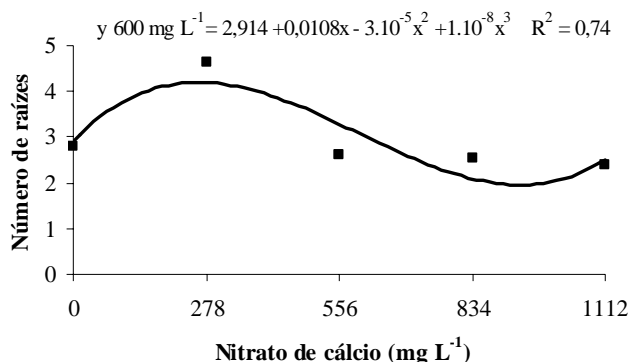


Figura 2 Número de raízes em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivadas em meio WPM contendo diferentes concentrações de nitrato de cálcio e 600 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de amônio.

Araújo et al. (2005) e Mercier & Kerbauy (1998) verificaram que concentrações crescentes de amônio favoreceram aumento no número de raízes em orquídea e aumento no número de raízes em *Pitcairnia flammea* e *Vriesia philippocoburgii*, respectivamente. Segundo Pasqual (2001), a emissão de novas raízes é favorecida pelos nutrientes cálcio e boro.

Embora algumas espécies cresçam *in vitro* na presença apenas de nitrato, a maioria dos explantes derivados de plantas intactas, tecidos e órgãos, incorpora nitrogênio e cresce mais rapidamente em soluções contendo íons nitrato e amônia do que na presença de apenas uma dessas fontes (Pasqual, 2001).

Para número de brotos, não houve interação dos fatores testados, apenas para a adição de nitrato de amônio. O maior número de brotos (1,76) foi obtido com 450 mg L<sup>-1</sup> (5,6 mM L<sup>-1</sup>) de nitrato de amônio (Figura 3), concentração próxima à original (400 mg L<sup>-1</sup>) utilizada no meio WPM. Na ausência de nitrato de amônio foi registrado 1,38 broto por explante.

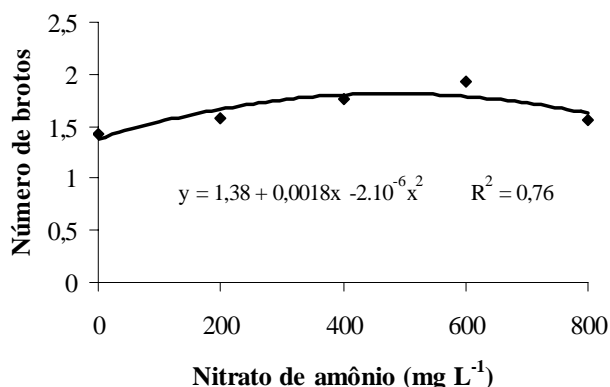


Figura 3 Número de brotos formados em plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' sob diferentes concentrações de nitrato de amônio acrescidas ao meio WPM.

A diferença de 0,38 brotos observada entre os tratamentos com 0 e 450 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de amônio pode ser explicada, provavelmente, pelo fato de a polpa de banana ter suprido grande parte do nitrogênio utilizado pelo explante, na ausência de nitrato de amônio.



Mercier & Kerbauy (1991) constataram que distintas fontes de nitrogênio provocam diferenças nas taxas de síntese de certas substâncias, como 2iP, zeatina e clorofila, assim como na atividade metabólica e no desenvolvimento de protocormos de orquídeas.

O estudo de diferentes concentrações de nitrato de amônio e nitrato de cálcio em meio WPM altera a razão das fontes de nitrogênio  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ . Esta razão parece ser determinante no crescimento *in vitro*, devendo o amônio ser, no máximo, 1/3 do N total. Esse desequilíbrio de íons pode ter influenciado os resultados obtidos no presente estudo.

## CONCLUSÕES

Para o crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', recomenda-se a utilização do meio de cultura WPM em sua formulação original, sem o nitrato de cálcio. O enraizamento é favorecido com a utilização de 600 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de amônio e 278 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de cálcio.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de bolsa de estudo ao primeiro autor e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A. G.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, V. A.; SILVA, A. B.; SOARES, G. A. Concentração de  $\text{KNO}_3$  e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  no crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, MG, v. 1, n. 1, p. 31-36, 2005.

ARRUDA, S. C. C. **Efeito do cálcio na indução de embriogênese somática de *Eucalyptus urophylla***. 2000. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1998. p. 87-132.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos, 2000, **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

KANASHIRO, S. **Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de *Aechmea blanchatiana* (Baker) L. B. Smith *in vitro***. 2005. 187 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.

MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. Effects of nitrogen source on growth rates and levels of endogenous cytokinins and chlorophyll in protocorms of *Epidendrum fulgens*. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 138, n. 2, p. 195-199, June 1991.

MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. Endogenous IAA and cytokinin levels in bromeliad shoots as influenced by glutamine and ammonium nitrate treatments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 10, n. 3, p. 225-228, set./dez. 1998.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

SAKUTA, M. Effects of sucrose source on betacyanin accumulation and growth in suspension cultures of *Phytolacea americana*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 71, p. 459-463, 1987.

PALAVRAS-CHAVES: Orchidaceae, *Cattleya*, nitrato de cálcio, nitrato de amônio, micropropagação.

## **Multiplicação *in vitro* de *Oxalis hedysaroides*.**

Diniz, Josefa Diva Nogueira<sup>1</sup>; Almeida, Jacqueline Leite<sup>1</sup>; Oliveira, Alexandre Bosco de <sup>2</sup>; Nascimento, Emanuel Peixoto do <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadora/UFC, Departamento de Fitotecnia-CCA/UFC, Caixa Postal 12.168, CEP 60.356-001, Fortaleza-CE, e-mail: [jalac@bol.com.br](mailto:jalac@bol.com.br); [dndiniz@ufc.br](mailto:dndiniz@ufc.br).

<sup>2</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia-UFC, e-mail: [aleufc@gmail.com](mailto:aleufc@gmail.com).

<sup>3</sup> Graduando do Curso de Agronomia/CCA/UFC, e-mail: [emanuelnascimento@ig.com.br](mailto:emanuelnascimento@ig.com.br).

O cultivo de plantas ornamentais tem se intensificado nos últimos anos, não só pela conscientização da sociedade da valorização do paisagismo e preservação da natureza, mas principalmente pelo que vem representando na economia do nosso Estado, seja produzindo, comercializando e até exportando flores e plantas ornamentais. Neste contexto de ampliação e estruturação de novos mercados e da profissionalização da cadeia produtiva, há a necessidade de utilização de tecnologias que possam incrementar o processo de produção. Assim, a micropropagação pode ser utilizada no processo de multiplicação rápida de novas espécies e variedades e na manutenção do padrão qualitativo do material produzido. A espécie *Oxalis hedysaroides*, é uma planta ornamental herbácea, de cor avermelhada com numerosas flores de cor amarela, que é utilizada como forração a pleno sol ou a meia sombra em canteiros, ou cultivada em vasos e jardineiras. Sua multiplicação é feita por estaquia, sendo que a micropropagação pode ser utilizada como forma de multiplicação rápida. Segmentos de caule com cerca de 15 mm e 2 gemas foram retirados de plantas mantidas *in vitro* e inoculados em meio MS com diferentes concentrações de BAP e de 2iP (0,00; 0,25; 0,50 e 1,00 mg/L) com oito tratamentos e 20 explantes por tratamento em um delineamento inteiramente casualizado. A avaliação feita aos 40 dias mostrou que o acréscimo das citocininas ao meio de cultivo, resultou em um aumento significativo no número médio de gemas emitidas por explante. Para todas as variáveis analisadas (número médio de gemas por explante, altura das plantas e peso seco) o 2iP favoreceu de forma significativa o desenvolvimento *in vitro*, quando comparado com o BAP. Para as concentrações de 2iP, a de 0,25 mg/L foi a que resultou em maior número de gemas, e plantas com folhas normais e bem formadas.

Palavras-chave: citocininas, micropropagação, planta ornamental.

## Diferentes concentrações de AIB no enraizamento *in vitro* de *Crossandra infundibuliformis*.

Almeida, Jacqueline Leite<sup>1</sup>; Diniz, Josefa Diva Nogueira<sup>1</sup>; Nascimento, Emanuel Peixoto do<sup>2</sup>; Oliveira, Alexandre Bosco de<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadora-CCA/UFC, Departamento de Fitotecnia, Caixa Postal 12.168, CEP 60.356-001, Fortaleza-CE, e-mail: [jalac@bol.com.br](mailto:jalac@bol.com.br); [dndiniz@ufc.br](mailto:dndiniz@ufc.br).

<sup>2</sup> Graduando do Curso de Agronomia/CCA/UFC, e-mail: [emanuelnascimento@ig.com.br](mailto:emanuelnascimento@ig.com.br).

<sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia-UFC, e-mail: [aleufc@gmail.com](mailto:aleufc@gmail.com).

A *Crossandra infundibuliformis* é uma planta ornamental herbácea, normalmente usada para formação de canteiros. A cultivar 'Mona wallhead', em tom salmão, pode ser propagada por semente, porém a técnica mais utilizada é a estaquia e sua difusão é limitada pela baixa produção de mudas. A micropropagação é uma ferramenta que pode ser utilizada para a multiplicação rápida da cultura possibilitando aumentar sua produção em curto espaço de tempo. O trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de AIB no enraizamento de explantes, utilizando-se segmentos de caule, com a gema apical, retirados de plantas estabelecidas *in vitro*, com 2-3 nós, medindo em torno de 1 cm de comprimento e inoculados em meio MS com 50% da concentração dos sais e diferentes concentrações de AIB (0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg/L). Para cada um dos cinco tratamentos foram utilizadas 10 repetições (cinco explantes por repetição) em um delineamento experimental inteiramente casualizado. A emissão de raízes aumentou com o tempo de cultivo *in vitro*, independentemente da adição de AIB. Nos primeiros 21 dias, a velocidade de enraizamento foi maior para os tratamentos que receberam AIB do que para a testemunha (sem AIB), sendo que a partir dessa data a velocidade se reduziu, mostrando uma tendência a estabilizar-se aos 35 dias. A presença de AIB, também resultou no aumento da porcentagem de explantes com raízes, onde na concentração de 0,5 mg/L observou-se a maior porcentagem (60%). Aos 60 dias, o número médio de raízes por explantes foi proporcional ao aumento da concentração de AIB. A concentração de 0,5 mg/L de AIB é a mais eficiente para induzir uma maior porcentagem de explantes com raízes e o número médio de raízes por explante de *crossandra* é proporcional ao aumento da concentração.

Palavras-chave: planta ornamental, raízes, auxina

## Efeito do GA<sub>3</sub> e meios de cultura na germinação *in vitro* de sementes de Ipê-Branco (*Tabebuia roseo-alba*).

Abbate, Leticia Caravita<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG), Campus da UFLA, CEP 37200-000 Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1781, email: [leticiabbade@yahoo.com.br](mailto:leticiabbade@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Associada do Departamento de Agricultura da UFLA; <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia da UFLA

### INTRODUÇÃO

O gênero *Tabebuia*, pertencente à família Bignoniaceae, compreende cerca de cem espécies com ampla distribuição desde o México e Antilhas até o Norte da Argentina, (Rizzini, 1971), apresentando flores de diferentes colorações. Dentro do gênero, os ipês são extremamente ornamentais, e nos últimos anos têm sido utilizados na arborização de ruas e parques e em reflorestamentos destinados à recomposição de vegetação arbórea, e a sua madeira pode ser empregada na construção civil. Embora a *Tabebuia roseo-alba* seja uma espécie de grande valor, existem poucas informações a respeito de suas sementes (Lorenzi, 1992). De acordo com Kageyama e Marquez (1981), espécies do gênero *Tabebuia* são pioneiras e como tal desenvolveram mecanismos adaptáveis que favorecem a dispersão e o rápido estabelecimento, possuindo pequena quantidade de reserva o que implica em curto período de viabilidade das sementes.

A germinação das sementes é extremamente variável, ao longo do desenvolvimento, maturação e armazenamento, acarretando perdas durante a germinação. As sementes são produzidas em pequenas quantidades e apresentam baixa germinação, diferentemente de *Tabebuia serratifolia*, produzidas em grande quantidade (Nery, 2005).

Uma possibilidade de obtenção de plantas matrizes, para serem usadas como fonte de explantes em experimentos de cultura de tecidos, é a germinação *in vitro*. Como o estabelecimento da cultura via material oriundo do campo ou de casa de vegetação traz o problema da contaminação endógena severa, esta pode ser a única fonte de material asséptico. Segundo Gricoletto (1997), a obtenção dos explantes a partir de plântulas germinadas *in vitro* evita a contaminação do material vegetal e a baixa resposta morfogênica dos tecidos arbóreos adultos.

A baixa produção de sementes viáveis em ipê-branco torna-se um fator limitante para a propagação sexuada da espécie. Como a cultura de tecidos vem sendo amplamente utilizada para a propagação de espécies lenhosas que apresentam dificuldade de germinação, torna-se uma opção para se tentar propagar o ipê-branco.

Esta metodologia permite o crescimento de células, tecidos e órgãos isolados da planta-mãe, em condições assépticas e controladas e se baseia na totipotencialidade das células das plantas, o que significa que qualquer célula, no organismo vegetal, contém toda a informação genética necessária à regeneração de uma planta completa (TORRES & CALDAS, 1990).

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> na taxa de germinação do ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba*) semeado em diferentes meios de cultura.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se sementes de *Tabebuia roseo-alba*, cedidas pelo Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências desta Universidade.

As sementes foram levadas à câmara de fluxo laminar, imersas em álcool 70% por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo por 10 minutos. Ao final deste tempo, as sementes foram lavadas em água destilada autoclavada por três vezes e inoculadas em diferentes meios. Foram testados o meio WPM

em sua composição original, acrescido ou não de 0,2% de carvão ativado e WPM 50% de concentração dos sais, ambos suplementados com 30,0 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificados com ágar 0,6%. Os meios de cultura foram suplementados com GA<sub>3</sub> em diferentes concentrações (0, 0,5, 1, 2, 3, 4 mg.L<sup>-1</sup>). O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavação a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os frascos contendo as sementes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de 36 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 4 repetições e 5 sementes por parcela. A avaliação foi feita diariamente de 4 a 20 dias após a semeadura. Considerou-se como semente germinada aquelas que apresentavam protusão de cerca de 2,0 mm da raiz primária e o IVG foi calculado segundo Maguire (1962).

Os resultados foram analisados estatisticamente através de uma análise de variância e, nos casos em que houve diferença significativa, pela análise de regressão, ajustando-se os modelos para as equações obtidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



Figura 1. Aspecto da plântula *in vitro* após 20 dias após a germinação.

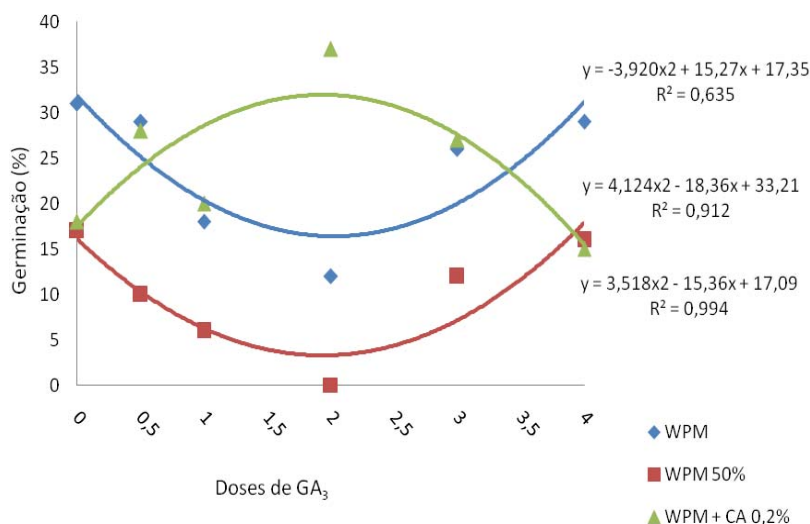


Figura 2. Germinação de sementes de ipê-branco em função de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> e dos diferentes meios de cultura.

A análise de variância mostrou diferenças significativas nas taxas de germinação obtidas nos diferentes meios testados. ( $P < 0,05$ ). O ajuste das curvas de regressão demonstrou a adequação de modelos polinomiais de segundo grau, e pode-se observar que os meios WPM e WPM 50% tem praticamente o mesmo ajuste, apenas com valores mais baixos para o WPM 50%, com isto, podemos inferir que a semente de ipê-branco necessita de uma maior concentração de sais para germinar mesmo sem GA<sub>3</sub> (Figura 2) Já no meio com carvão ativado, o GA<sub>3</sub> favoreceu a germinação apenas quando acrescido de 2mg.L<sup>-1</sup>. A taxa de germinação no meio WPM atingiu 31% enquanto que, no meio WPM 50% foi de apenas 17%. O meio com carvão ativado, proporcionou 37% somente quando acrescido de 2mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> (Figura 2).

#### CONCLUSÃO

O meio WPM acrescido de carvão ativado 0,2% com 2mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> proporcionou a maior taxa de germinação (37%), porém por razões econômicas, o meio WPM sem reguladores, que fornece uma taxa ligeiramente mais baixa (31%) tem sido recomendado para a germinação do Ipê-Branco (*Tabebuia roseo-alba*).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRIGOLETTO, E. R. **Micropropagação de *Hancornia speciosa* Gomez (Mangabeira)**. 1997. 76p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Brasília, Brasília, 1997.

KAGEYAMA, P.Y.; MARQUEZ, F.C.M. Comportamento de sementes de curta longevidade armazenadas com diferentes teores de umidade inicial: gênero *Tabebuia*, **Publicación Especial Instituto Nacional de Investigaciones Forestales**, v. 35, p. 347-352, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

NERY, M. C. **Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich.** 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 298p.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990. 433 p.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Tabebuia roseo-alba*; WPM; ácido giberélico; sementes; Bignoniaceae

## Ácido bórico e sulfato de zinco hidratado no crescimento *in vitro* de duas espécies frutíferas.

Myiata, Luzia Yuriko<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Assis, Franscinely Aparecida<sup>1</sup>; Vilela, Ximena Maira de Souza<sup>1</sup>; Silva, Andrieli Leão Pereira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Aluno de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG, e-mail: [luziaym@yahoo.com.br](mailto:luziaym@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [fvilla2003@libero.it](mailto:fvilla2003@libero.it); <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>4</sup>Aluna de graduação em Agronomia, Cesur, Rondonópolis, MT, e-mail: [andriellileao@hotmail.com](mailto:andriellileao@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

A fruticultura de clima temperado apresenta grande importância no contexto da produção mundial de frutas. Algumas das frutas produzidas em maior volume em todo o mundo, tais como a macieira e a videira, são de espécies pertencentes a esta classe. Além disso, estas espécies são cultivadas com maior intensidade nas regiões de maior consumo de frutas, tais como os países desenvolvidos do Hemisfério Norte (Chalfun et al., 1998).

No Brasil, a amoreira-preta vem sendo cultivada por pequenos produtores do Rio Grande do Sul (principal produtor brasileiro), Santa Catarina e Paraná, objetivando a exportação dos frutos. O Sul de Minas Gerais tem apresentado elevado potencial para esta fruta, destacando-se o município de Caldas. A sua propagação se faz através de estacas de raízes, ou ainda por brotos, originados de plantas cultivadas e estacas herbáceas (Antunes et al., 2004). Além destes, com a micropropagação, é possível obter plantas livres de vírus, geneticamente uniformes e em curto espaço de tempo, sendo assim uma alternativa viável (Peixoto & Pasqual, 1996).

A cultura da videira (*Vitis* spp.), pela sua extensa área plantada no Brasil e pelo seu potencial de utilização como matéria-prima para indústrias de vinhos, sucos, geléias, passas, vinagres, e para consumo *in natura*, constitui uma importante fruteira de clima temperado, ocupando o terceiro lugar quanto ao valor de produção.

Devido à grande variabilidade genética e à maior dificuldade de crescimento e diferenciação *in vitro*, a micropropagação de espécies lenhosas requer estudos mais específicos e desenvolvimento de metodologias que atendam às exigências do explante. Os meios utilizados na micropropagação fornecem substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). Embora o meio MS tenha favorecido o crescimento e desenvolvimento de várias espécies, a utilização de composições mais diluídas, como o meio DSD1 (Silva & Doazan, 1995), para algumas espécies lenhosas, como é o caso da videira, tem fornecido melhores resultados.

Existe grande variedade de meios para micropropagação. Entretanto, a maioria das descrições de preparos de meios alternativos não demonstram de maneira comparativa se o novo meio é ou não melhor que o outro do qual foi originado. Várias mudanças de padrão foram propostas na tentativa de otimizar o crescimento *in vitro* (Pasqual, 2001). Essas visam principalmente a redução ou incremento de alguns componentes, como por exemplo os micronutrientes, que podem promover melhor crescimento em tecidos vegetais.

O boro (B) é encontrado no solo sob a forma de ácido bórico e este é o composto usado como fonte do elemento em cultura de tecidos (Pasqual, 2001). O sintoma da deficiência desse micronutriente em plantas é a paralisação do crescimento dos meristemas apicais (Faquin, 2001). O zinco (Zn) é um elemento muito importante, pois, é responsável direto pela síntese do triptofano e indireto pela síntese de proteína. A principal função do Zn no metabolismo é como componente a ativador enzimático. Também está envolvido no metabolismo de auxinas, em particular no ácido indolacético (AIA) (Faquin, 2001). Os sintomas mais típicos da carência do elemento consistem no encurtamento dos internódios e na produção de folhas pequenas cloróticas e lanceoladas.



O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de propagação *in vitro* sobre o porta-enxerto de videira 'Kobber 5BB' e amoreira-preta cv. Tupy, visando mudanças nas concentrações de micronutrientes do meio de cultura DSD1.

## MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de amoreira-preta (*Rubus* sp.), com cerca de 2 cm de comprimento, oriundos de brotações preestabelecidas *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio de cultura DSD1 modificado (Silva & Doazan, 1995). O experimento consistiu de plantas de amoreira-preta cv. Tupy, do porta-enxerto de videira (*Vitis* spp.) 'Kobber 5BB' e de quatro diferentes concentrações de ácido bórico (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e quatro de sulfato de zinco hidratado (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>), em todas as combinações possíveis, adicionadas ao meio de cultura.

Os meios de cultivo foram acrescidos de 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificados com 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 25 ± 2°C, irradiância de 35 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas diárias, permanecendo nestas condições por 70 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, utilizando-se 4 repetições com 12 brotações por tratamento. Foram avaliados os números de folhas e de raízes, comprimento da parte aérea e das raízes e peso da matéria fresca da parte aérea. Os dados foram analisados através do software Sisvar (Ferreira, 2000), utilizando regressão polinomial para as variáveis.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da análise de variância para as características avaliadas estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. No experimento com o porta-enxerto de videira, observou-se significância do micronutriente boro apenas para NF e CR do porta-enxerto de videira. Não houve interação significativa para o CPA, PFPA e NR em relação à mudança da concentração dos micronutrientes do meio de cultura DSD1. Em todos os tratamentos que continham Zn foi verificada a presença de calos na base dos explantes utilizados.

TABELA 1. Resumo da análise de variância para número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), peso fresco da parte aérea (PFPA) e comprimento das raízes (CR) do porta-enxerto de videira. UFLA, Lavras, 2006.

Fontes de Variação	Quadrados Médios					
	GL	NF	CPA	NR	PFPA	CR
B	3	3,49*	0,79 <sup>n.s.</sup>	0,041 <sup>n.s.</sup>	0,00021 <sup>n.s.</sup>	3,62*
Zn	3	1,66 <sup>n.s.</sup>	4,47 <sup>n.s.</sup>	0,0096 <sup>n.s.</sup>	0,00069 <sup>n.s.</sup>	2,49 <sup>n.s.</sup>
B x Zn	9	1,08 <sup>n.s.</sup>	1,33 <sup>n.s.</sup>	0,0175 <sup>n.s.</sup>	0,00053 <sup>n.s.</sup>	1,63 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	45	0,76	2,56	0,0172	0,00035	1,23
CV (%)		12,90	14,75	9,83	22,45	24,51

\* significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Resumo da análise de variância para número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), peso fresco da parte aérea (PFPA) e comprimento das raízes (CR) de amoreira-preta. UFLA, Lavras, 2006.

Fontes de Variação	Quadrados Médios					
	GL	NF	CPA	NR	PFPA	CR
B	3	68,35 <sup>n.s.</sup>	1,234 <sup>n.s.</sup>	0,137 <sup>n.s.</sup>	0,0046 <sup>n.s.</sup>	0,108 <sup>n.s.</sup>
Zn	3	86,16 <sup>n.s.</sup>	0,416 <sup>n.s.</sup>	0,098 <sup>n.s.</sup>	0,0058 <sup>n.s.</sup>	0,174 <sup>n.s.</sup>
B x Zn	9	60,46*	1,255*	0,056 <sup>n.s.</sup>	0,0041*	0,349*
Resíduo	45	1,94	0,54	0,064	0,0012	0,066
CV (%)		13,30	18,82	15,79	13,28	13,59

\* significativo a 5% de probabilidade.

Com incrementos na concentração do ácido bórico no meio de cultura, verificou-se um aumento de forma quadrática no número de folhas do porta-enxerto de videira, onde maior número foi observado com altas concentrações desse ácido ( $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ ). Os dados obtidos aqui com esse porta-enxerto corroboram com Ribeiro (2005), que também observou que, plantas *in vitro* de *Cattleya loddigesii* possuíam menor número de folhas na ausência de sulfato de zinco hidratado adicionado ao meio de cultura Knudson. A redução dessa variável pode ter sido causada pela toxidez por  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Verificou-se interação significativa entre boro x zinco para NF, CPA, CR e PFPA de amoreira-preta. Não houve interação significativa para o número de raízes em relação à mudança da concentração dos micronutrientes do meio de cultura DSD1. Com incrementos na concentração do ácido bórico no meio de cultura, observaram-se respostas antagônicas para as duas frutíferas estudadas, verificando assim uma diminuição de forma quadrática no NF da cultivar 'Tupy', onde maior número foi observado na ausência dos micronutrientes estudados. Os dados obtidos para amoreira-preta corroboram com Ribeiro (2005), que também observou que, plantas *in vitro* de *Cattleya loddigesii* possuíam menor número de folhas na ausência de sulfato de zinco hidratado.

Resultados contrastantes foram obtidos por Franco (2004), que obteve maior número de folhas com a utilização de  $17,2 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $12,4 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  do meio de cultura MS na micropropagação de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*). Entretanto, deve-se observar que, entre espécies ocorrem comportamentos distintos. Possivelmente a amoreira-preta e o porta-enxerto de videira requerem um meio de cultura mais pobre em boro para se desenvolver melhor, quando comparados ao crisântemo.

Observa-se que incrementos nas concentrações de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  adicionadas ao meio DSD1, na ausência de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , proporcionaram diminuição de forma quadrática na altura das plantas de amoreira-preta até  $1,07 \text{ cm}$ . Essa redução foi provavelmente causada por distúrbios nutricionais pela adição desses sais. Entretanto, maior altura de brotações ( $5,42 \text{ cm}$ ) foi observada na ausência dos micronutrientes no meio de cultivo. Franco (2004) trabalhando com micropropagação de crisântemo *in vitro* afirma que maior comprimento de plantas é obtido em meio MS, adicionado de  $17,2 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $12,4 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ , o que mostra a necessidade do aumento da disponibilidade desses nutrientes nesse meio para um melhor crescimento de plantas.

Resultados semelhantes ao comprimento da parte aérea também foram constatados para peso fresco de plantas de amoreira-preta, ou seja, com incrementos nas concentrações de ácido bórico no meio DSD1, um decréscimo de forma quadrática no peso fresco da parte aérea foi observado. Ono et al. (1992) observaram que tratamentos com auxina mais boro obtiveram um aumento significativo da matéria fresca média, em relação aos tratamentos apenas com auxina. Isso implica a influência positiva do boro para esta variável.

Pode-se observar um decréscimo de forma quadrática no comprimento das raízes do porta-enxerto de videira até  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido bórico. A partir desse ponto houve redução, provavelmente devido ao excesso de micronutrientes, causando toxidez. Resultados semelhantes foram verificados tanto na presença de  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$  da fonte de boro como na sua ausência. Se o objetivo do trabalho for o enraizamento de plantas e de reduzir custos, seria viável a utilização de um meio de cultura sem a presença de ácido bórico. Evidencia-se assim que, para promover o comprimento médio do sistema radicular, o meio DSD1 é benéfico com apenas a adição de ácido bórico. De acordo com Pasqual (2001), o B promove a destruição da auxina natural e aumenta sua translocação, logo, plantas com deficiência de B têm sistema radicular reduzido.

Num substrato com deficiência de nutrientes, aumentar o comprimento das raízes é uma maneira da plântula buscar os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento mesmo que isto implique em gasto de reservas. Observa-se que a ausência de ácido bórico e ausência dos dois micronutrientes, respectivamente, no meio de cultura DSD1 influenciou o comprimento médio do sistema radicular desta maneira. Pode-se observar também para a amoreira-preta, um decréscimo de forma quadrática em todas as variáveis analisadas e interação significativa sem a adição de boro e zinco no meio de cultura. A redução desses

parâmetros pode ter sido causada pela toxidez por ácido bórico e/ou sulfato de zinco hidratado.

Se o objetivo do trabalho for de multiplicação de plantas e redução de custos, seria viável a utilização de um meio de cultura sem a presença desses micronutrientes. Evidencia-se assim que, para promover o comprimento da parte aérea e médio do sistema radicular, o meio DSD1 é benéfico na ausência de boro e zinco.

## CONCLUSÕES

Melhores resultados na micropropagação de amoreira-preta cv. Tupy são obtidos na ausência de ácido bórico e sulfato de zinco hidratado em meio de cultura DSD1. Com 4,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico adicionado ao meio, verifica-se maior número de folhas e comprimento das raízes do porta-enxerto de videira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. **Aspectos Técnicos da Cultura da Amora-Preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.13. Embrapa Clima Temperado. Documentos, 122).

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA/ CNPH, 1998. 1:87-132.

CHALFUN, N. N. J; PASQUAL, M.; HOFFMANN, A. **Fruticultura comercial: frutíferas de clima temperado**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1998, 7:304p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p. 255-8.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras, MG. UFLA/FAEPE, 2001. 182p. Lavras, MG.

FRANCO, J.C.C. **Micropropagação do crisântemo: ácido bórico e sulfato de zinco**. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2004. 21p.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; RODRIGUES, S.D. Interações entre auxinas e boro no enraizamento de estacas de camélia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.4, n.2, p.107-112, 1992.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras, UFLA/FAEPE, 2001. 74p.

PEIXOTO, P.H.P.; PASQUAL, M. Influência da origem dos explantes na multiplicação e no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de videira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.20, n.3, p.293-300, 1996.

RIBEIRO, L. de S. **Adequação de meio de cultura para o crescimento *in vitro* de orquídeas do gênero *Cattleya***. 2005. Tese de doutorado (Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG. 2005.

SILVA, A.L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal Int. Science of Vigne et Vin**, v. 29, p. 1-9, 1995.

PALAVRAS-CHAVE: *Rubus* sp.; *Vitis* spp., meio de cultura DSD1, boro, zinco.

## Estabelecimento *in vitro* de helicônia a partir de ápice floral

Gato, Arlena Maria Guimarães<sup>1</sup>, Paulo Hercílio Viegas Rodrigues<sup>2</sup>, Flávio Freires Ferreira<sup>3</sup>, José Augusto da Silva Cabral<sup>4</sup>.

Doutoranda PPGG-UFAM - Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – [gato.cba@suframa.gov.br](mailto:gato.cba@suframa.gov.br); <sup>1</sup> Coord. Tec. do Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – [phrviegas@hotmail.com](mailto:phrviegas@hotmail.com); <sup>2</sup> Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – [llferreira@bol.com.br](mailto:llferreira@bol.com.br); <sup>3</sup> Coord. Geral do Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – [cabral.cba@suframa.gov.br](mailto:cabral.cba@suframa.gov.br); <sup>4</sup>

A floricultura tropical tem se destacado graças aos produtores de alguns estados do nordeste do Brasil como o Ceará, Pernambuco, Alagoas e Rio Grande do Norte. O ano de 2006 apresentou a retomada no ritmo das exportações na floricultura brasileira, com um dos destaques para o estado de Alagoas, responsável pelo crescimento de 163,38 % nos valores comercializados no mercado internacional sobre o mesmo período do ano anterior. Apesar disso, a produção de mudas de qualidade, das diferentes espécies de helicônias não tem acompanhado esse crescimento. Este fato deve-se, principalmente, pela dificuldade em estabelecer *in vitro* espécies de interesse econômico de helicônias. A existência de microorganismos endofíticos foi apontada como um dos causadores do insucesso no cultivo *in vitro* dessa cultura. Com o objetivo de avaliar outra fonte de explante, foram utilizados no presente ensaio ápices florais de diferentes espécies de helicônias amazônicas. O ensaio contou com ápices florais em diferentes fases de desenvolvimento, sendo T1 fase de ponteiro, T2 ponteiro e duas brácteas abertas e T3 ponteiro e cinco brácteas abertas. Os ápice de diferentes espécies de helicônias foram inoculados em meio de cultivo MS com adição de vitamina de Morel e 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Após oito subcultivos, resultados promissores foram observados em *H. rauliniana*, *H. rostrata* e *H. Eclipse Total*, na fase T2 de desenvolvimento da haste.

Palavras chave:

Micropropagação, cultura de tecido, produção de mudas, floricultura tropical

## **Preparo de lâminas foliares de Pinhão-manso: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.**

Dalíhnia Nazaré dos Santos<sup>1</sup>; Moacir Pasqual<sup>2</sup>; Claudinéia Ferreira Nunes<sup>3</sup>; Aparecida Gomes de Araujo<sup>4</sup>; Adriene Matos dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, emai: [dalilnia@yahoo.com.br](mailto:dalilnia@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: [nunescr@yahoo.com.br](mailto:nunescr@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Pesquisadora Doutora, Agronomia/Ciências do Solo (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências do Solo – DCS. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 88534497, email: [agaraujo2003@yahoo.com.br](mailto:agaraujo2003@yahoo.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

O pinhão-manso de nome científico *Jatropha curca L.* é uma oleaginosa, pertencente à família botânica *Euphorbiaceae*, originária da América tropical (Peixoto, 1973). É uma planta conhecida desde tempos antigos, utilizada na fabricação de sabão e iluminação de casas. Diversas partes da planta como folhas, sementes e raízes frescas ou como decocção são usadas na medicina tradicional chinesa.

Hoje em dia há um estímulo pela busca de fontes renováveis de energia, e nesse, consenso o pinhão-manso (*Jatropha curca L.*) é apontado como uma oleaginosa em potencial, por se tratar de uma planta de elevada rusticidade. Heller (1996) descreve que o pinhão-manso tem pleno desenvolvimento em solos aerados, bem drenado e é bem adaptado a solos marginalizados, que contenha poucos nutrientes.

No entanto o pinhão-manso é uma planta carente de estudos e, portanto carente de tecnologias adequadas ao seu manejo. Pesquisas vêm sendo realizadas buscando sanar essa e outras necessidades, como o aspecto nutricional da planta. Uma das tecnologias que vem auxiliar é a cultura de tecidos vegetais, considerada uma técnica de relevada importância, pois permite a propagação rápida de culturas de ciclo longo (Ribeiro, 1999).

As contaminações no cultivo *in vitro* são um problema constante, os vegetais cultivados a campo apresentam intenso contato com microorganismos que podem comprometer o desenvolvimento do cultivo *in vitro*. Para tanto é essencial que o tecido que dará origem ao explante, esteja livre de contaminantes, sendo necessária a realização de um tratamento de desinfestação deste tecido, a fim de eliminar microorganismos exógenos, para a obtenção de um bom resultado no final do processo de estabelecimento *in vitro* (Gamborg & Phillips, 1995; Rocha, 1999; Souza et al., 2003; Silva et al., 2003).

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio em associação com o tempo de exposição do explante ao produto, na assepsia de segmentos foliares de pinhão-manso.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Folhas oriundas de plantas de pinhão-manso cultivadas na unidade experimental da Universidade Federal de Lavras foram utilizadas como fonte de explante. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura (DAG/UFLA), Lavras – MG.

As plantas passaram por uma desinfestação prévia com pulverizações utilizando fungicida a base de ditiocarbamato 3g.L<sup>-1</sup> (Dithame\*N<sup>+</sup>). Coletaram-se folhas jovens das brotações superiores, isentas de qualquer dano físico ou patogênico. Durante a coleta, as folhas foram imersas em água destilada para uma lavagem inicial e em seguida levadas para o laboratório onde permaneceram em água corrente por 10 minutos.

Em ambiente asséptico de câmara de fluxo laminar, as folhas foram mergulhadas em álcool 70% por 1 minuto e em água destilada estéril, por três vezes; imersas nas soluções de hipoclorito de sódio comercial (água sanitária) com diferentes concentrações de cloro ativo (1%, 1,5%, 2%) combinados com diferentes tempos (10min, 20min, 30min) de exposição em agitação constante, e novamente lavadas em água destilada esterilizada. Cada explante com área aproximada de 1cm<sup>2</sup>, foi inoculado individualmente em tubos de ensaio contendo 15mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado em ensaio fatorial 4 x 4 com 3 repetições de 4 tubos, 12 tubos por tratamento. O material foi incubado em câmara de crescimento, no escuro, à temperatura de 27± 1°C, por 14 dias, quando então foi avaliado quanto à contaminação ocasionada por fungos ou bactérias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

É sabido que as plantas lenhosas apresentam problemas de oxidação em cultivo *in vitro*, dificultando seu estabelecimento nessa via de cultivo. Essa característica não é considerada empecilho no processo de cultivo *in vitro* para a espécie lenhosa estudada, já que o observado foram oxidações parciais nas bordas dos explantes, em alguns dos tratamentos.

Conforme verificado na Tabela 1, as médias de contaminação das lâminas foliares de pinhão-mansó variaram entre 0,00% e 1,50% para contaminação fúngica e bacteriana. De modo geral, não houve contaminação total em nenhum dos tratamentos utilizados, corroborando com Erig & Schuch (2003), onde trabalhando com macieira observaram que, a desinfestação dos explantes com hipoclorito de sódio (cloro ativo) é mais eficiente, possibilitando uma maior percentagem de sobrevivência. Assim como foi verificado no presente trabalho.

A maximização da assepsia ocorreu com a utilização de mais de uma concentração de cloro ativo e tempo de exposição em relação à contaminação fúngica. Porém, destaca-se que para esta contaminação a concentração de 2,0% de cloro ativo em exposição por 10 minutos ocorreu em maior incidência. Para contaminação bacteriana, independente das concentrações e tempos de exposição testados, não houve diferença significativa.

**TABELA 1.** Influência das concentrações de cloro ativo e tempo de exposição de lâminas foliares de pinhão-mansó em relação à contaminação por fungos e bactérias. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Cloro ativo (%)	Tempo (min)	Fungo (%)	Bactéria (%)
1	10	0,00a	0,00a
1	20	0,50a b	1,50a
1	30	0,50a b	0,50a
1,5	10	0,25a	0,75a
1,5	20	0,00a	0,25a
1,5	30	0,00a	0,25a
2,0	10	1,50 b	0,50a
2,0	20	0,00a	0,25a
2,0	30	0,25a	0,25a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem, significativamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

De fato, isto possibilita uma escolha mais adequada da concentração de cloro ativo a ser empregada como desinfestante, no sentido do uso da menor concentração possível para minimizar os efeitos tóxicos do desinfestante sobre o material utilizado. Os resultados apresentados neste trabalho assemelham-se aos encontrados por Donini et al. (2005) onde descreveram a utilização de cloro ativo entre 0,5% e 2,0% sendo consideradas adequadas para a desinfestação de lâminas foliares de aráceas ornamentais.

## CONCLUSÃO

A utilização do desinfestante hipoclorito de sódio é necessária para o estabelecimento *in vitro* do pinhão-manso, sendo variável com o tempo de exposição entre 10 e 30 minutos e a concentração do cloro ativo, numa faixa entre 1,0% e 2,0%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DONINI, L.P.; FERREIRA-MOURA, I.; GUISSO, A.P.; DE SOUZA J.A.; VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v.72, n.4, p.517-522, out./dez., 2005

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* BORKH.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p.221-227, jul-set, 2003

GAMBORG, O.L. & PHILLIPS, G.C. Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods. **Germany: Springer**, 1995. 359p.

HELLER, J.. **Physic nut. *Jatropha curcas* L.** Promoting the conservation and use f underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome. 1996

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

PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. p. 249-270. São Paulo, 1973

RIBEIRO, A.O.; Definição do meio de cultura para morfogênese indireta em alface variedades Verônica e Maioba. Monografia (Especialização em biotecnologia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 39p. 1999.

SILVA, R.M. dos S.; BLANK, M. de F.A.; ÂNGELO, P.C. da S. Desinfestação de explantes de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*, Poir) coletados no campo para micropropagação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. **Resumos**.Lavras:UFLA/FAEPE, 2003. p329.

SOUZA, T.V.; ABREU, M.F.; TARAZI, R.; DANTAS, A.C.M.; OLIVEIRA, V.L.; PEDROTTI, E.L. Controle de contaminantes na cultura de tecidos em macieira (*Mallus spp*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. **Resumos**.Lavras:UFLA/FAEPE, 2003. p.346.

## PALAVRAS – CHAVE

*Jatropha curcas*, assepsia, folhas.

## **Germinação *in vitro* de sementes de orquídeas (*Dendrobium nobile*).**

Silva, Juliana Aparecida dos Santos da<sup>1</sup>; Silva, Adriano Bortolotti<sup>2</sup>; Araújo, Thaís Helena<sup>3</sup>; Terra, Laís de Oliveira Ávila<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Campus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [jujuapsantos@hotmail.com](mailto:jujuapsantos@hotmail.com);

<sup>2</sup>Professor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br);

<sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [nenapa@bol.com.br](mailto:nenapa@bol.com.br);

<sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [laisaterra@bol.com.br](mailto:laisaterra@bol.com.br).

As orquídeas são apreciadas por sua beleza exótica e raridade de suas flores. Atualmente, existe no mercado uma demanda muito grande por estas plantas. Entretanto, suas sementes são de difícil germinação por serem desprovidas de endosperma, que se constitui em reserva nutritiva para a germinação. Na natureza, as sementes somente germinam se estiverem em simbiose com fungos micorrízicos, devido a isto as espécies de orquídeas apresentam baixa taxa de germinação (menos 1%). As técnicas de cultura de tecidos constituem-se em uma alternativa viável para a germinação eficiente de sementes de orquídeas *in vitro*. O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias da UNIFENAS, Alfenas – MG. Para a assepsia do material vegetal, sementes de *Dendrobium nobile* foram colocadas em hipoclorito de sódio a 1% por 20 minutos. Após este processo, as sementes foram lavadas 3 vezes em água destilada autoclavada e inoculadas em meio de cultura em condições assépticas em câmara de fluxo laminar. O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGUE & SKOOG, 1962), acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup>; o pH foi ajustado para 5,8. Foram distribuídos 40 mL de meio de cultura em frascos de 250 mL. Estes frascos foram tampados e levados para autoclavagem a 120°C por 20 minutos. Os resultados preliminares, após 60 dias de condução, mostraram alta porcentagem de germinação, acima de 90%.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Dendrobium nobile*; Germinação *in vitro*; Biotecnologia



## **Avaliação de brotações de explantes de crisântemo em função do número de gemas.**

Correa, Vinícius Rodrigues Silva<sup>1</sup>; Silva, Adriano Bortolotti<sup>2</sup>; Terra, Laís de Oliveira Ávila<sup>3</sup>; Dias, Iara Eleutéria<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Campus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [suicinivaerroc@yahoo.com.br](mailto:suicinivaerroc@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Professor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br);

<sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [laisaterra@bol.com.br](mailto:laisaterra@bol.com.br);

<sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [jara3coracoes@hotmail.com](mailto:jara3coracoes@hotmail.com).

A micropropagação de plantas *in vitro* é uma alternativa à produção de plantas clonadas, que apresentam rápido desenvolvimento sendo colocadas no mercado em menor tempo e com alta qualidade. O objetivo deste trabalho foi estudar o desenvolvimento de crisântemo oriundos de explantes com diversos números de gema. O experimento foi montado no laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Alfenas, em que foram utilizados três tratamentos, (explantes com duas, três e quatro gemas). O esquema experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com sete repetições. Cada parcela experimental foi constituída por dois tubos de ensaio contendo um explante cada. O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais do MS (Murashige e Skoog), com 30g/L de sacarose, na ausência de reguladores de crescimento, pH ajustado para 5,7. O meio de cultura foi distribuído em tubos de ensaio (15x2,5cm), sendo adicionado 30ml de meio por tubo. A autoclavagem do meio de cultura foi realizada a 120°C por 20 minutos. Após a inoculação, os tubos de ensaio com os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25°C e com fotoperíodo de 16 horas, por um período de 21 dias, findo os quais se procedeu a avaliação. Os parâmetros avaliados por contagem direta foram: número de folhas, número de raízes. O tamanho do propágulo foi avaliado por medição com paquímetro. Ao final do experimento, os propágulos provenientes de explantes, com duas gemas apresentaram três folhas e duas raízes; com três gemas apresentaram cinco folhas e três raízes; com quatro gemas apresentaram sete folhas e cinco raízes. O tamanho dos propágulos, oriundos dos diversos tipos de explante, não apresentou efeito significativo, contudo, explantes com quatro gemas produziram propágulos com maior vigor vegetativo do que aquelas oriundas de explantes com três e ou duas gemas, com maior condição de adaptação em casa de vegetação não climatizada. Portanto, conclui-se que explantes micropopagados de crisântemo, com quatro gemas, resultaram propágulos com melhor potencial de desenvolvimento.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Cultura de Tecido; Micropropagação; Crisântemo

## Produção de batata semente livre de vírus.

Terra, Laís de Oliveira Ávila<sup>1</sup>; Silva, Adriano Bortolotti<sup>2</sup>; Araújo, Thaís Helena<sup>3</sup>; Dias, Iara Eleutéria<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Campus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [laisaterra@bol.com.br](mailto:laisaterra@bol.com.br);

<sup>2</sup>Professor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br); <sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [nenapa@bol.com.br](mailto:nenapa@bol.com.br);

<sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [lara3coracoes@hotmail.com](mailto:lara3coracoes@hotmail.com).

A bataticultura é um setor de grande importância agrônômica, sendo o Estado de Minas Gerais o maior produtor de batata do Brasil. Um dos grandes problemas da cultura é a disseminação de viroses através do material vegetal contaminado. O laboratório de Biotecnologia Vegetal da Unifenas vem produzindo plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.) cv. Monalisa *in vitro* livre de viroses a partir de cultura de meristemas. Esta técnica em conjunto com a indexação do material produzido no laboratório garante a alta qualidade fitossanitária da batata semente. O trabalho foi realizado no laboratório de Biotecnologia Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias da UNIFENAS, Alfenas – MG. O meio de cultura para o crescimento dos propágulos foi composto por metade da concentração dos sais do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescendo de 15g.L<sup>-1</sup> de sacarose, o pH ajustado para 5,8. Foram distribuídos 15ml de meio de cultura em tubos de ensaio (15,0 X 2,5 cm), estes tubos foram vedados e levados para autoclavagem a 120°C por 20 minutos. O material vegetal foi constituído de gemas axilares de batata, as quais foram desinfestadas com o uso de hipoclorito de sódio a 1% por 20 minutos. Após este tratamento os meristemas foram extraídos com o emprego de lupas esteroscópica e inoculados no meio de cultura. Após a inoculação do material vegetal, os tubos de ensaio foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 24°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 25  $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ . O meio de cultura proporcionou mais de 85% de regeneração, excelente desenvolvimento dos propágulos e tuberização do material *in vitro* com 60 dias de cultivo.

Palavras-chaves:

*Solanum Tuberosum*; Cultura de Tecido; Meristema

## Regeneração de explantes de *Cattleya x mesquिताe* a partir do estiolamento de segmentos caulinares.<sup>1</sup>

Ramos, Tatiana Vieira<sup>2</sup> ; Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>3</sup>

<sup>2</sup> Professora da Universidade Estadual de Goiás (UEG), São Luis de Montes Belos, Rua da Saudade, nº 56, Vila Eduarda, São Luis de Montes Belos, Goiás, fone (62) 3247-3666, email: [tatiana.ramos@ueg.br](mailto:tatiana.ramos@ueg.br); <sup>3</sup> Professora da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus-Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [iraides@agro.ufg.br](mailto:iraides@agro.ufg.br).

A orquídea *Cattleya x mesquिताe* é um híbrido natural nativo do Estado de Goiás, propagado naturalmente por sementes e pela retirada de mudas surgidas da planta-mãe. Estas orquídeas nativas carecem de pesquisa e nem sempre se encontram disponíveis sementes e outras fontes de explantes para a micropropagação das mesmas. Os segmentos caulinares e os ápices radiculares tem sido as fontes de explantes mais estudadas como forma de produção de mudas em grande escala, mantendo-se a estabilidade genética. Tendo como objetivo verificar a capacidade regenerativa de segmentos caulinares estiolados e cultivados *in vitro*, este trabalho testou o efeito da adição de fitorreguladores ao meio de cultura. Os explantes foram uniformizados em 10 mm de comprimento e cultivados em temperatura de 25°C a 20°C, 16 horas de luz diária, durante 120 dias. O meio de cultura foi o MS com redução pela metade dos macronutrientes, utilizando um delineamento experimental inteiramente ao acaso, dez repetições e os seguintes tratamentos: sem fitorreguladores; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN; 5,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 5,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA. Aos 120 dias o BAP a 5,0 mg L<sup>-1</sup> mostrou-se mais eficiente, estimulando a produção de 25,71 brotações na base dos segmentos caulinares, quantidade essa aproximadamente vinte vezes maior do que aquela produzida nos nós. O enraizamento *in vitro* destes explantes ocorreu sem o uso de fitorreguladores.

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae, cultura *in vitro*, auxina, citocinina.

<sup>1</sup> Parte da Dissertação de Mestrado “Micropropagação de *Cattleya x mesquिताe* (Orchidaceae) autofecundada: híbrido natural do estado de Goiás”, realizado na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Goiás.

## Estabelecimento de protocolo para cultivo *in vitro* de *Cattleya x mesquिताe* autofecundada.<sup>1</sup>

Ramos, Tatiana Vieira<sup>2</sup> ; Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>3</sup>

<sup>2</sup> Professora da Universidade Estadual de Goiás (UEG), São Luis de Montes Belos, Rua da Saudade, nº 56, Vila Eduarda, São Luis de Montes Belos, Goiás, fone (62) 3247-3666, email: [tatiana.ramos@ueg.br](mailto:tatiana.ramos@ueg.br); <sup>3</sup> Professora da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus-Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [iraidess@agro.ufg.br](mailto:iraidess@agro.ufg.br).

*Cattleya x mesquिताe* é um híbrido natural da família Orchidaceae, que ocorre no município de Iporá, GO, em áreas de cerrado *stricto sensu*, podendo ser propagado naturalmente através de sementes ou mudas laterais de plantas adultas. Um outro método de propagação utilizado para orquídeas é a cultura *in vitro*, cujos explantes são obtidos a partir de sementes e, ou de órgãos vegetativos da planta-mãe. Por ser uma planta rara, é fundamental que sejam realizados estudos visando a produção mais rápida e em maior escala de mudas de *C. x mesquिताe* de alta qualidade. Este trabalho teve como objetivo verificar a influência da concentração de macronutrientes do meio MS e da adição de fitorreguladores ao meio de cultura sobre a produção de brotações, crescimento e enraizamento de explantes originados de sementes. Os explantes utilizados foram uniformizados em aproximadamente um centímetro de comprimento e cultivados *in vitro* em temperatura de 25°C ± 2°C, 16 horas de luz diária, durante 120 dias. Os meios de cultura utilizados foram o MS e MS com redução dos macronutrientes pela metade, contendo duas concentrações de AIB (0 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) e duas concentrações de BAP (0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>), num delineamento inteiramente ao acaso, arrançados em um fatorial 2 x 2 x 2, com seis repetições. Os explantes de *C. x mesquिताe* cultivados *in vitro* apresentaram baixa resposta a utilização de fitorreguladores para a produção de novas brotações quando se compara com outras espécies. O uso de BAP (3,0 mg L<sup>-1</sup>) em maiores concentrações, acrescidos ou não de AIB, propiciou maior produção de brotações, entretanto quando se adicionou a auxina, as brotações tiveram maior incremento, podendo ser facilmente individualizadas. Aos 120 dias obteve-se, em média, 12,00 brotações por explante, nos tratamentos em que se adicionou BAP e AIB ao meio MS e 10,17 brotações por explantes com a adição de BAP ao meio ½ MS. A redução dos macronutrientes do meio MS também estimulou a formação de raízes, sem no entanto, ser necessária a adição de AIB e BAP para tal finalidade.

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae, micropropagação, *in vitro*, fitorreguladores

<sup>1</sup> Parte da Dissertação de Mestrado “Micropropagação de *Cattleya x mesquिताe* (Orchidaceae) autofecundada: híbrido natural do estado de Goiás”, realizado na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Goiás.

## Germinação *in vitro* de sementes de orquídeas nativas do cerrado<sup>1</sup>.

Ramos, Tatiana Vieira<sup>2</sup> ; Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>3</sup>; Carneiro, Maurízia de Fátima<sup>4</sup>; Oliveira, Saulo de Araújo<sup>5</sup>; Pacheco, Rafael Araújo<sup>6</sup>.

<sup>2</sup> Professora da Universidade Estadual de Goiás (UEG), São Luis de Montes Belos, Rua da Saudade, nº 56, Vila Eduarda, São Luis de Montes Belos, Goiás, fone (62) 3247-3666, email: [tatiana.ramos@ueg.br](mailto:tatiana.ramos@ueg.br); <sup>3</sup> Professora da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus-Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [iraides@agro.ufg.br](mailto:iraides@agro.ufg.br); <sup>4</sup> Pesquisadora da AGENCIARURAL, CENTRAR, Rod. R-2 Q-Área, Lote AR-3, Campus Samambaia, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3201-2356, email: [maurizia@uol.com.br](mailto:maurizia@uol.com.br); <sup>5</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFG-EA), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74690-280 Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [agrosaulo@brturbo.com.br](mailto:agrosaulo@brturbo.com.br) ; <sup>6</sup> Engenheiro Agrônomo da Sociedade Jardins Madri , Goiânia, Goiás, Rua C-146, Qd. 261, nº134, Res. Mercedes Manhas, Bl. A, Apt. 402, CEP 74255-170, fone (62) 3622-8443, email: [faelpacheco@hotmail.com](mailto:faelpacheco@hotmail.com).

O cerrado goiano apresenta uma rica diversidade de espécies nativas da família Orchidaceae que apresentam alto potencial paisagístico, sendo encontradas em diversas fitofisionomias do bioma cerrado. As orquídeas são propagadas naturalmente por sementes ou mudas laterais que surgem da planta-mãe. A cultura *in vitro* também é utilizada com sucesso e é uma alternativa que maximiza a propagação destas espécies. Com a finalidade de estabelecer protocolo para semeadura *in vitro* de algumas espécies de orquídeas de ocorrência natural em Goiás, testou-se neste trabalho o efeito de fitorreguladores adicionados ao meio de cultura. Para a obtenção dos propágulos (cápsulas) foram realizadas excursões em diversas regiões do Estado de Goiás, onde foram coletadas cápsulas de algumas espécies quando maduras ou próximas da maturação em diferentes épocas e regiões. Estas permaneceram acondicionadas em geladeira até a realização da semeadura *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi o MS e os demais tratamentos foram compostos por meio MS acrescidos de AIA (1mg L<sup>-1</sup>) e AIB (1mg L<sup>-1</sup>) combinados ou não com o fungicida Benomyl (110 mg L<sup>-1</sup>) e AIA (1mg L<sup>-1</sup>) adicionado com KIN (0,25 mg L<sup>-1</sup>), num delineamento inteiramente casualizado. Para a germinação *in vitro* não houve diferença entre os tratamentos utilizados, entretanto houve variação altamente significativa entre as nove espécies semeadas. *Galeandra* sp e *Oeceoclades maculata* apresentaram baixa germinação *in vitro* até os sessenta dias de observação, enquanto que as sementes de *Vanilla* sp permaneceram inalteradas. Das espécies utilizadas *Anachelium vespa*, *Cattleya x mesquिताe*, *Cattleya walkeriana* e *Epidendrum* sp apresentaram melhor germinação que as demais espécies sendo superior a 70% aos sessenta dias da semeadura. Nos tratamentos com fitorreguladores não houve diferença significativa no tempo e para a porcentagem de germinação das sementes, indicando que as orquídeas nativas do Cerrado apresentam boa capacidade de germinação não só de acordo com a espécie e ao tempo necessário para a sua germinação, mas também esta relacionado ao estágio de maturação das cápsulas, principalmente quando coletadas na natureza .

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae, sementes, cultivo *in vitro*, fitorreguladores

<sup>1</sup> Parte do projeto de "Caracterização e uso de germoplasma de bromélias e orquídeas do cerrado", financiado pelo PIBIC/CNPq.

## Segmentos nodais e gemas axilares utilizadas como fonte de explantes na micropropagação de *Tapeinochilos ananassae* Hassk.

Souto, Nise<sup>1,6</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>2</sup>; Paulino, Patrícia<sup>3,6</sup>; Manço, Gemima<sup>4,6</sup>; Willadino, Lilia<sup>5,6</sup>; Câmara, Terezinha<sup>6,6</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE), e-mail: nise\_souto@hotmail.com; <sup>2</sup> Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE). Av. Bom Pastor, s/n, Mundaú, CEP: 55296901, Garanhuns, PE – Brasil, e-mail: claudia@nlink.com.br; <sup>3</sup>Aluna de licenciatura do curso de Ciências Biológicas, e-mail: patriciaso@hotmail.com; <sup>4</sup>Aluna de licenciatura do curso de Ciências Biológicas, e-mail: gemimamelo@ig.com.br; <sup>5</sup> Professora do Departamento de Botânica da UFRPE, e-mail: lilia@truenet.com.br; <sup>6</sup> Professora do Departamento de Química da UFRPE, tcamara@novaera.com.br; <sup>6</sup> Rua Dom Manoel de Medeiros, s/ n, Dois Irmãos, Recife- PE, Brasil, CEP:52171900.

### INTRODUÇÃO

A floricultura tropical atualmente encontra-se como um agronegócio gerador de renda e em ascensão no âmbito mundial e nacional (Lins e Sartori, 2004).

Em Pernambuco, as espécies de flores tropicais cultivadas estão compreendidas nas famílias Musaceae, Heliconiaceae, Costaceae, Zingiberaceae e Maranthaceae. O *Tapeinochilos ananassae* Hassk., espécie pertencente à família Costaceae, é uma planta tropical bastante utilizada para fins ornamentais, devido as hastes vegetativas com folhas em arranjo espiralado e a exuberância e durabilidade de suas inflorescências (Lins e Sartori, 2004; Loges *et al.*, 2005).

De acordo com Grattapaglia e Machado (1990), a micropropagação é a aplicação mais prática do cultivo *in vitro* de plantas e com maior impacto na agricultura, apresentando-se como uma excelente alternativa na propagação em larga escala de mudas isentas de doenças em algumas espécies tropicais. Os Tapéinóquilos cultivados em Pernambuco mostraram incidência de pragas e doenças nos plantios (Lins e Sartori, 2004), sendo estes problemas fitossanitários agravados em decorrência da propagação vegetativa.

Tendo em vista a ausência de trabalhos científicos relacionados ao cultivo *in vitro* de *Tapeinochilos ananassae* e dado seu destaque como flor de corte no mercado floricultor nacional, este trabalho teve como objetivo avaliar metodologias que possam favorecer o seu estabelecimento e posterior multiplicação *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e utilizaram-se como explantes, segmentos nodais e gemas axilares das plântulas advindas de embriões zigóticos de tapeinóquilos cultivados em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP.

A unidade experimental constou de um explante inoculado por tubo de ensaio (20 x 150 mm) adicionado de 10 mL de meio MS, acrescido de 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 5,8. Os tratamentos consistiram de combinações de 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) utilizados nas concentrações de 0; 1 e 2 mg L<sup>-1</sup> (Tabela 1). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições por tratamento. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de 28±1°C e fotoperíodo de 16 horas, com intensidade luminosa de 50 μmols.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>. As observações foram realizadas aos 30 dias de cultivo e incluíram: tamanho do explante, número de brotações, número de folhas, número de raízes e taxa de oxidação. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA), por meio do software ASSISTAT 7.4 beta e a comparação de médias realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo todos os dados transformados em  $\sqrt{x+0,5}$ .

Tabela 1. Tratamentos em meio MS adicionado de combinações de 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) nas concentrações de 0; 1 e 2 mg L<sup>-1</sup>.

GA <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )		
	0	1,0	2,0
0	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
1,0	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>
2,0	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estatisticamente houve diferença significativa apenas para o número de folhas e raízes em propágulos advindos de segmentos nodais sob tratamento isento de reguladores vegetais, apresentando resultado superior aos demais para esse parâmetro. Os outros parâmetros não mostraram diferenças estatísticas entre os tratamentos e entre os dois tipos de explantes utilizados (segmentos nodais e gemas) (Tabela 2).

Os explantes, no entanto, mostraram elevado nível de oxidação (Gráfico 1). A oxidação é advinda da liberação de fenóis, que são precursores da síntese de lignina pelo tecido injuriado (Erig e Schuch, 2003; Handa *et al.*, 2005; Grattapaglia e Machado, 1990). De acordo com Erig e Schuch (2003), a oxidação pode ser indicada como um importante fator no impedimento do estabelecimento *in vitro* de algumas espécies. Desta forma, a oxidação dos explantes, neste trabalho, pode ter inibido seu desenvolvimento *in vitro* sob as diversas concentrações de fitorreguladores no meio de cultivo.

Tabela 2. Efeito de BAP e GA<sub>3</sub> sob segmentos nodais e gemas de *Tapeinochilos ananassae* aos 30 dias de cultivo *in vitro*.

Tipo de Explante	GA <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Tam. Propágulo (cm)	Nº folhas	Nº raízes	Nº brotações
Segmento Nodal	0	0	1,23 a*	1,58 a	2,31 a	1,46 a
	0	1,0	1,14 a	0,87 b	0,87 bc	0,87 a
	0	2,0	1,10 a	0,87 b	0,87 bc	0,87 a
	1,0	0	1,09 a	0,70 b	1,93 ab	1,17 a
	1,0	1,0	1,11 a	0,87 b	0,70 c	0,87 a
	1,0	2,0	1,12 a	0,70 b	0,87 bc	0,99 a
	2,0	0	1,15 a	0,70 b	1,26 abc	0,70 a
	2,0	1,0	1,22 a	0,87 b	1,09 bc	0,87 a
	2,0	2,0	1,09 a	0,70 b	0,96 bc	0,96 a
	Gema	0	0	1,01 a	0,97 a	1,05 a
0		1,0	1,10 a	0,70 a	1,05 a	0,70 a
0		2,0	1,15 a	0,70 a	1,40 a	0,99 a
1,0		0	1,05 a	0,70 a	1,28 a	0,70 a
1,0		1,0	1,22 a	0,70 a	0,87 a	0,87 a
1,0		2,0	1,22 a	0,70 a	0,87 a	0,70 a
2,0		0	1,03 a	0,70 a	1,09 a	0,70 a
2,0		1,0	1,11 a	0,70 a	0,96 a	0,70 a
2,0		2,0	1,02 a	0,70 a	0,70 a	0,70 a

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula entre as colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

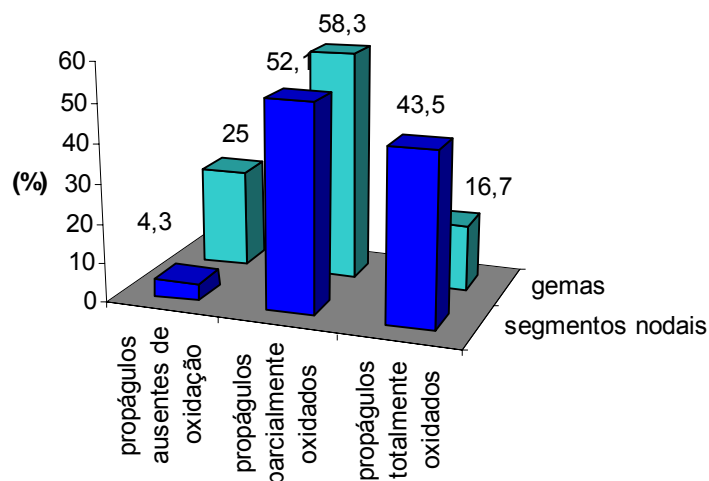


Gráfico 1. Percentual de oxidação observado nos explantes de *Tapeinochilos ananassae* aos 30 dias de cultivo *in vitro*.

No entanto, apesar do alto nível de oxidação verificado nas duas fontes de explantes, os segmentos nodais mostraram uma taxa de brotação superior às gemas (Tabela 3.).

Contudo, em ensaios posteriores, deve-se considerar a inclusão de substâncias antioxidantes e novas condições de manutenção dos explantes a fim de evitar a oxidação *in vitro*.

Tabela 3. Avaliação dos explantes de *Tapeinochilos ananassae* aos 30 dias de cultivo *in vitro*.

Tipo de Explante	Tam. Propágulo (cm)	Nº folhas	Nº raízes	Nº brotações
Segmento Nodal	1,13 a*	0,88 a	1,22 a	0,98 a
Gema	1,11 a	0,72 a	1,02 a	0,75 b

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula entre as colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

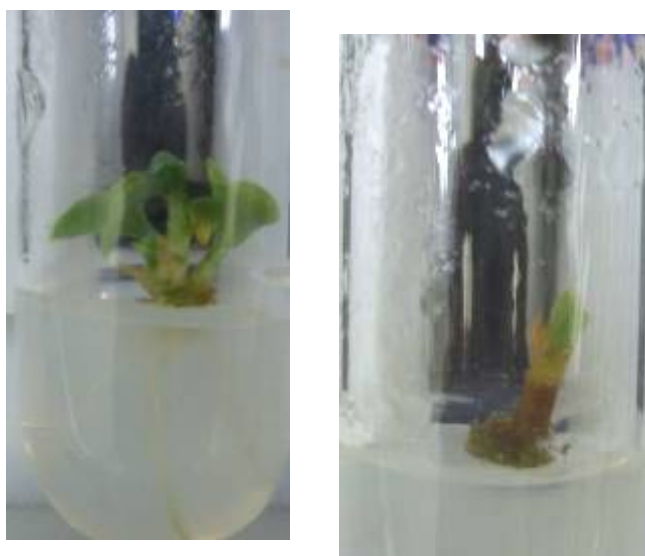


Figura 1. Propágulos de *Tapeinochilos ananassae* aos 30 dias de cultivo. (A) Propágulos advindos de segmentos nodais cultivados na ausência de reguladores vegetais; (B) Oxidação encontrada nos explantes.



## CONCLUSÃO

A partir dos resultados desses experimentos pode-se concluir que a oxidação fenólica pode ter influenciado na dificuldade de estabelecimento *in vitro* de explantes de *Tapeinochilos ananassae* Hassk. Os segmentos nodais demonstraram-se com maior potencial para formar brotações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. *In*: TORRES, A. C. *et al.* **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/ EMBRAPA-CNPH, v.1, p. 183-260, 1990.
- LINS, S. R. O.; SARTORI, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no estado de Pernambuco. **Fitopatol. Bras.**, v. 29, n. 3, 2004.
- LOGES, V.; TEIXEIRA, M. C. F.; CASTRO, A. C.; COSTA, A. S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Hortic. Bras.**, v. 23, n.3, p. 699- 702. 2005.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- HANDA, L.; SAMPAIO, P. T.; QUISEN, R. C. Cultura in vitro de embriões e de gemas de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta Amazônica**, v. 35, n. 1, p.29-33, 2005.
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Tipo de Explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* Borkh.) CVC. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **R. bras. Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 221- 227, 2003.

## PALAVRAS- CHAVE

Micropropagação; 6- benzilaminopurina; ácido giberélico; flores tropicais; Costaceae.

## Multiplicação *in vitro* de *Arundina bambusifolia*.

Maria Josirene S. Moreira<sup>1</sup> Lucimário P. Bastos<sup>2</sup> Moema Angélica Chaves da Rocha<sup>3</sup>, Maria Angélica P. de Carvalho Costa<sup>4</sup> e Érika Ribeiro de Souza<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: mjmoreira28@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Engº Agrônomo - EBDA, Ribeira do Pombal, Bahia, CEP: 48400-000, fone: (75) 32761313, e-mail: agronero@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: moemachaves@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professora do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail:mapcosta@ufba.br. <sup>5</sup>Acadêmica PIBIC, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: kinharibeiro@yahoo.com.br.

## INTRODUÇÃO

A floricultura brasileira é uma atividade econômica consideravelmente importante em função do número de produtores e pelo valor da produção comercializada. *Arundina bambusifolia* é uma orquídea que possui interesse para a comercialização e, em função disto, há uma grande demanda de mudas desta espécie.

O aumento do potencial de produtividade da maioria das espécies agrônômicas vem ocorrendo de forma consistente. Recentemente, a diversidade de procedimentos científicos utilizados no melhoramento de plantas foi expandida com o desenvolvimento da Biotecnologia Vegetal.

As orquídeas apresentam um desenvolvimento vegetativo lento, visto que a divisão de uma muda leva, no mínimo, dois anos, o que torna muito lenta e onerosa a multiplicação de grandes quantidades para comercialização de mudas. A multiplicação das orquídeas por sementes também é demorada e, das 2,5 milhões de sementes produzidas em uma cápsula, somente 5% germinam. O cultivo de sementes em meio de cultura permite acelerar esse processo e elevar a taxa de germinação, tornando o processo de multiplicação de orquídeas comercialmente viável (STANCATO & FARIA,1996). A técnica de semeadura de orquídeas *in vitro* torna possível o aproveitamento máximo de sementes, pois quase 100% das sementes germinam. Porém, esse processo tem como desvantagem a necessidade de um período de aclimatização das microplantas.

A cultura de tecidos é freqüentemente utilizada para a propagação clonal em massa de híbridos e espécies de orquídeas, possibilitando a obtenção de um grande número de plantas com alta qualidade fitossanitária em curto período de tempo. A micropropagação de orquídea é viável, no entanto, experimentos realizados ao longo dos anos vêm evidenciando que dentro da família Orchidaceae, as condições de cultivo são específicas para os gêneros e algumas vezes para espécies pertencentes ao mesmo gênero. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de micropropagação a partir de sementes germinadas *in vitro* de *Arundina bambusifolia* sp,

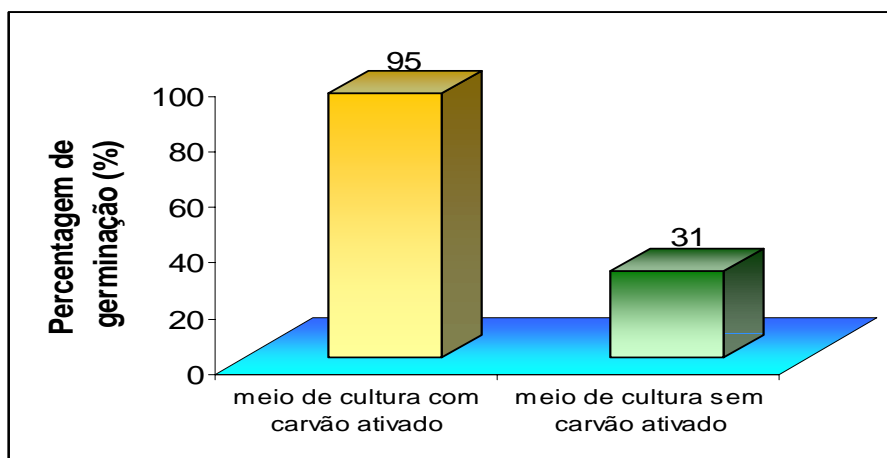
## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Cápsulas maduras de *Arundina bambusifolia* foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% e água (2:1), sob agitação por 20 minutos, depois de lavadas em água esterilizada em câmara de fluxo as cápsulas foram abertas

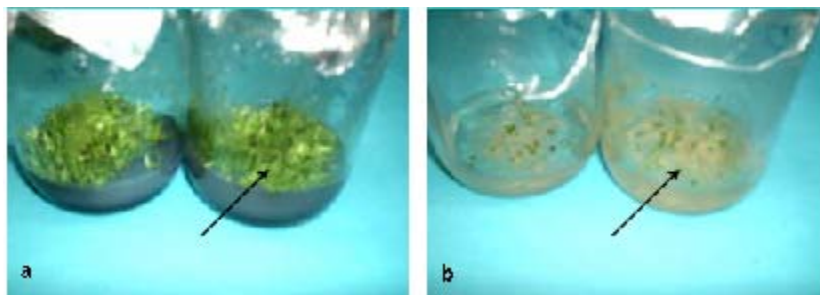
com bisturi esterilizado e as sementes incubadas em meio de cultura básico MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) contendo ou não carvão ativado para a fase de germinação. Posteriormente esse período as microplantas foram submetidas ao escuro por 60 dias para acelerar o crescimento e em seguida colocadas novamente na luz por mais 15 dias. Ao atingirem 5 cm em médias estas foram seccionadas em pequenos segmentos com aproximadamente 0,5 cm e incubadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 0,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de benzilaminopurina (BAP) combinado com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido naftalenacético (ANA), 30g de sacarose e 2 g.L<sup>-1</sup> de Phytigel para indução da organogênese. O pH do meio de cultura foi ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  (utilizando-se KOH ou HCl 0,1 N), antes da autoclavagem à temperatura de 121°C por 20 minutos. O delineamento experimental foi casualizado com 10 repetições por tratamentos com um explante por frasco. Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação, aos 100 dias e número de brotos, após 45 dias de incubação.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Analisando os diferentes meios de germinação *in vitro*, verifica-se que o meio com carvão ativado adicionado foi o que melhor proporcionou a germinação das sementes, chegando a ocorrer 95% de sementes germinadas (Figura 1).

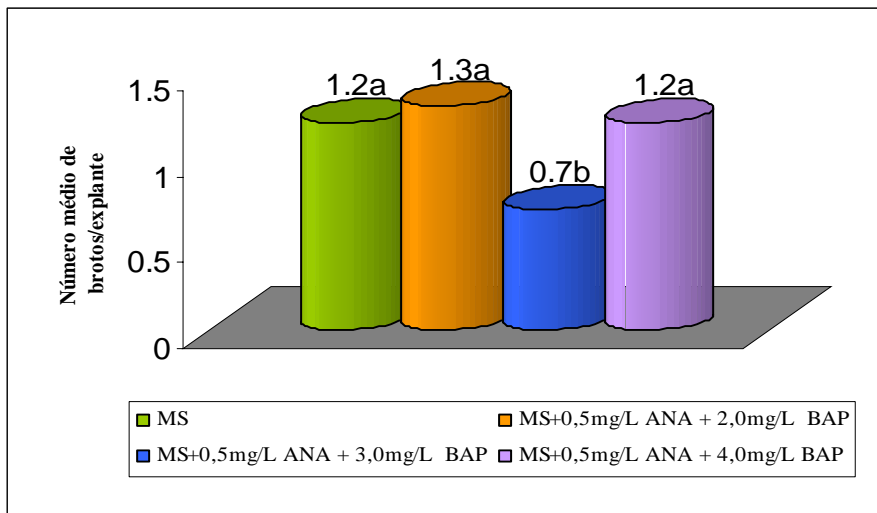


**Figura 1:** Porcentagem de germinação de sementes de *Arundina bambusifolia* em dois tipos meios de cultura. Cruz das Almas - BA, 2007.



**Figura 2:** Germinação *in vitro* de sementes de *Arundina bambusifolia* em meio de cultura com carvão ativado (a) e em meio de cultura sem carvão(b). Cruz das Almas – BA, 2007.

No que se refere à organogênese, (Figuras 3 e 4) verificou-se que o meio MS contendo  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP combinado com  $0,5 \text{ mgL}^{-1}$  de ANA favoreceu os melhores resultados, quanto ao número de explantes responsivos, embora não fora significativo.



**Figura 3:** Número médio de brotações por explante após 45 dias de incubação. Cruz das Almas - BA, 2007.

De acordo CARRY et al. (2001), a falha na competência de um tecido poderia refletir, portanto, na falta de receptores para a classe hormonal que irá induzir o processo organogenético. Outro fator associado à resposta organogênica seria o próprio metabolismo hormonal dos explantes, pois é ele que irá determinar, em última análise, o balanço hormonal endógeno para indução da organogênese (PERES et al, 1999). Tanto a aquisição de “competência” quanto à “determinação” são reflexos da expressão diferencial de genes envolvidos nos processos de desenvolvimento (PERES, 2002).



**Figura 4.** Número de brotações de *Arundina bambusifolia* em função do meio de cultura. Testemunha (A),  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA e  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP (B),  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA e  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP (C). Cruz das Almas - BA, 2007.

## CONCLUSÃO

A melhor porcentagem de germinação das sementes de *Arundina bambusifolia* é verificada quando se adiciona carvão ativado ao meio de cultura.

A combinação 2,0 mg L<sup>-1</sup> BAP + 0,50 mg L<sup>-1</sup> ANA adicionada ao meio de cultura MS é aquela que melhor proporciona a formação de brotações adventícias *in vitro* em segmentos *Arundina bambusifolia*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARRY, A.; UTTAMCHANDANI, S. J.; SMETS, R.; VAN ONCKELEN, H.A. & HOWELL, S. H. H. *Arabidopsis*. Mutants with increased organ regeneration in tissue culture are more competent to respond to hormonal signals. **Planta**. 213:700-707, 2001.

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

PERES, L.E. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano IV, 2002.

PERES, L.E.P.; AMAR, S.; KERBAUY, G.B; SALATINO, A.; ZAFFARI, G.R. & MERCIER, H. Effects of auxin, cytokinin and ethylene treatments on the endogenous ethylene and auxin-to-cytokinin ratio related to direct root tip conversion of *Catasetum fimbriatum* Lindl. (Orchidaceae) into buds. **Plant Physiol.**, 155:551-555, 1999.

STANCATO, G.C.; FARIA R.T. **In vitro growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid Laelia cinnabarina Batem.** (Orchidaceae). *Lindleyana*, West Palm Beach, v. 11, n. 1, p. 41-43, 1996.

PALAVRAS-CHAVE: orquídea, cultivo *in vitro* e organogênese.

## Multiplicação *in vitro* de *Genipa americana* L.: Efeito da orientação do explante no meio de cultura.

Maria Josirene S. Moreira<sup>1</sup> Moema Angélica Chaves da Rocha<sup>2</sup> Lucimário P. Bastos<sup>3</sup> e Maria Angélica P. de Carvalho Costa<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: mjmoreira28@yahoo.com.br;

<sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: moemachaves@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Engº Agrônomo - EBDA, Ribeira do Pombal, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75) 3621-2002, e-mail: agronero@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professora do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail:mapcosta@ufba.br.

### Introdução

O sucesso da cultura de tecidos e da morfogênese *in vitro* depende do tipo, do tamanho, da idade do explante e das condições de cultivo *in vitro*. Em plantas lenhosas, os tecidos procedentes de plântulas são usados predominantemente como fonte de explantes devido a seu grande potencial regenerativo. A organogênese a partir de explantes oriundos de plântulas tem sido reportada em carambola (Litz e Conover, 1980), *annonaceae* (Santana, 2003), maçã (Erig e Schuch, 2002).

A posição do explante no meio de cultivo sugere exercer função importante na organogênese *in vitro*, pois segundo George (1993) a polaridade natural dos eventos regenerativos é normalmente atribuída ao movimento de substâncias reguladoras de crescimento no interior da planta. A adição de auxinas e citocininas ao meio de cultura podem reforçar a polaridade normalmente observada no explante, induzindo a regeneração de partes não responsivas de órgãos ou conduzindo ao desaparecimento ou reversão da tendência polar.

O objetivo deste trabalho foi observar o efeito da posição do explante em relação à multiplicação *in vitro* de genótipos de jenipapeiro.

### Material e métodos

Sementes de frutos maduros foram coletados de plantas distintas em duas localidades do Recôncavo Baiano: no município de Cruz das Almas - BA (JRB59) e no povoado de Outeiro Redondo na região de Maragojipe-BA (JRB69) e colocadas para germinar *in vitro*, seccionados em fragmentos de aproximadamente 1,0 cm de comprimento cada, foram incubados em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 17,74µM BAP, cuja concentração foi determinada em função do experimento onde foram induzidas brotações adventícias em segmentos de hipocótilo, utilizados como explante, submetidos as concentrações 0,00; 2,22; 8,87, 17,74 e 26,76 µM de BAP. Os explantes foram dispostos nas seguintes posições:

1. Horizontalmente sobre a superfície do meio de cultura;
2. Verticalmente na posição normal, com a extremidade basal do segmento inserido no meio de cultura;
3. Verticalmente no meio na posição invertida.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado 2 X 3 (sendo 2 genótipos e 3 orientações do explante no meio de cultura), com 10 repetições por tratamento, sendo que cada repetição foi constituída de quatro segmentos de hipocótilo por frasco. As culturas foram mantidas em sala de crescimento durante 60 dias sob condições de fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 27 ± 1 °C e densidade de fluxo de fótons 22 mE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Foram analisadas as seguintes variáveis: porcentagem e tipo de calo induzido, porcentagem de brotações induzidas, número médio de brotações por explantes, e número médio de folhas expandidas aos 30 e 60 dias. Foi realizada análise de variância considerando o delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2X3, sendo 2 genótipos e 3 posições, com 10 repetições. Cada parcela experimental foi formada por 4

explantes. As variáveis número médio das brotações e número médio de folhas expandidas foram transformadas para  $\sqrt{x+0,5}$  visando o atendimento das pressuposições da análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE INC., 2000).

### Resultados e discussões

O resumo da análise de variância evidencia que a interação genótipo x orientação do explante foi significativa tanto para o número médio de brotações como para número médio de folhas expandidas ( $P \leq 0,01$ ). O efeito isolado dos genótipos demonstrou-se significativo para número médio de brotações e significativo para número médio de folhas expandidas ( $P \leq 0,05$ ), também foi verificado que o efeito isolado da orientação do explante foi significativo para as duas variáveis em questão (Tabela 1).

**TABELA 1.** Resumo da análise de variância para número médio das brotações (NMB) e número médio de folhas expandidas (NMFE) aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos de jenipapeiro, em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Fonte de Variação	GL	Quadrados médios	
		NMB <sup>1</sup>	NMFE <sup>1</sup>
Genótipo (A)	1	0,6427 **	0,1595 *
Orientação do explante (B)	2	1,4619 **	0,1237 **
A x B	2	1,1607 **	0,1438 **
Resíduo	54	0,1048	0,0234
CV(%)	59	27,0922	18,3886

\* e <sup>1</sup> significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

<sup>1</sup> transformado para raiz ( $x + 0,5$ ).

A tabela 2 revela os dados referentes à porcentagem de explantes responsivos para total de calos formados, calos friáveis ou duros, e brotações. Os segmentos inseridos no meio de cultivo na posição horizontal obtiveram os maiores valores para porcentagem de calos no genótipo JRB59 (100%), ao passo que, o genótipo JRB69 expressou a melhor reposta para formação de calos na posição vertical normal. No presente estudo houve a predominância de calos considerados duros, de coloração branca ou verde claro, esponjosa e sem brilho. Para a maioria dos tratamentos ocorreu a formação de calos nas duas extremidades de corte, porém, para a orientação vertical, os calos apresentavam-se sempre maiores na extremidade que se encontrava em contato com o meio de cultura (Figura 1).

Ambos os genótipos foram capazes de emitir brotações adventícias. Estas, quando formadas, ocorriam por organogênese indireta. Foi verificada a maior porcentagem de explantes responsivos para brotações (100%) na posição vertical invertida, esta posição favoreceu os dois genótipos estudados, entretanto, para o genótipo JRB69, a posição vertical normal também atingiu 100% de explantes responsivos para a variável em questão.

**TABELA 2.** Porcentagem de explantes responsivos para total de calos formados, calos friáveis, calos duros e brotações aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos *Genipa americana* L., em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Tipo de orientação	Calos (%)	Calos friáveis		
		(%)	Calos duros (%)	Brotação (%)
<b>JRB 59</b>				
Horizontal	100,00	0,00	100,00	40,00
Vertical normal	92,50	0,00	92,50	60,00
Vertical invertida	95,00	0,00	95,00	100,00
<b>JRB 69</b>				
Horizontal	85,00	20,00	65,00	50,00
Vertical normal	100,00	0,00	100,00	100,00
Vertical invertida	95,00	5,00	90,00	100,00



**FIGURA 1.** Formação de calos em duas orientações de explante aos 60 dias de cultivo. Vertical invertida (A) e horizontal (B). Cruz das Almas - BA, 2006.

Apesar da posição vertical invertida ter favorecido igualmente os genótipos JRB59 e JRB69 para a porcentagem de explantes responsivos para brotações, os dados sobre o número médio de brotações por explante demonstram haver diferença significativa entre as orientações e entre os genótipos. O maior número médio de brotações no genótipo JRB59 foi observado na posição vertical invertida (1,8 brotações/explante) e na posição vertical normal para o genótipo JRB69 (2,60 brotações/explante) (Tabela 3).

Santana (2003) ao estudar o efeito da polaridade do explante na resposta morfogênica em hipocótilos de *Annona squamosa* L., obteve o maior número de brotações na orientação vertical normal, fato este que pode ser atribuído a características genéticas da espécie. Erig e Schuch (2002) estudando a orientação do explante no meio, em macieira cv. Marubakaido verificaram que a posição horizontal foi a que possibilitou obtenção de maior número de brotações por explante, porém, Zimmerman e Fordham (1985) conseguiram, em macieira cv. "Delicious" a maior indução de brotações quando os explantes foram posicionados na forma invertida no meio de cultura.

Segundo George (1993) a polaridade da regeneração varia com o genótipo (até entre variedades dentro de uma mesma espécie) e pode às vezes, ser revertida pelo tratamento com reguladores de crescimento. O mesmo autor ainda cita que a polaridade natural dos eventos regenerativos é normalmente atribuída ao movimento de substâncias reguladoras de crescimento no interior da planta e, de acordo com Hartmann et al. (1997), quando um segmento de tecido é cortado pode, de certa forma, causar a redistribuição das substâncias reguladoras de crescimento, o que explica as diferentes respostas no crescimento.

**TABELA 3.** Número médio de brotações aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos de *Genipa americana* L., em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Posição	JRB 59	JRB 69	Média
Horizontal	0,15 bA	0,53 bA	0,34 b
Vertical normal	0,60 bB	2,60 aA	1,60 a
Vertical invertida	1,80 aA	1,10 bA	1,44 a
<b>Média</b>	<b>0,85 B</b>	<b>1,40 A</b>	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 4 demonstra os resultados obtidos para número médio de folhas expandidas, por explante, provenientes de hipocótilos de *Genipa americana* L. em diferentes orientações de cultivo. Constatou-se que houve diferença significativa entre os genótipos, sendo que o JRB69 obteve os melhores resultados. Em relação as diferentes orientações do explante no meio, para essa variável, observou-se que ocorreu diferença significativa entre os tratamentos. A orientação vertical normal foi a que demonstrou as melhores médias para o número de folhas expandidas por explante.



**TABELA 4.** Número médio de folhas expandidas aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos de *Genipa americana* L., em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Posição	JRB59	JRB 69	Média
Horizontal	0,025 bB	0,100 bA	0,063 b
Vertical normal	0,075 bB	0,625 aA	0,350 a
Vertical invertida	0,275aA	0,250 bA	0,263 ab
Média	0,125 B	0,325 A	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### Conclusões

O cultivo de segmentos de hipocótilo na posição vertical invertida foi mais eficiente na resposta organogênica, porém, para o número médio de brotações e número médio de folhas expandidas a posição vertical normal foi a melhor, independente dos genótipos estudados.

### Referências Bibliográficas

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira Fruticultura** v.24, n.2, Jaboticabal 2002.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** Part 1 – The technology. 2. ed. Edngton: Exegetcs, 1993. 574p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; R. L. **Plant propagation: principles and practices.** 6 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770p.

LITZ, R.E; CONOVER, R.A. Partial organogenesis in tissue culture of *Averrhoa carambola*. **HortScience**, v.15, p.735, 1980.

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

SANTANA, J. R. F. **Controle da morfogênese in vitro em algumas espécies de annonaceae.** 2003. 237p. Tese (Doutorado em Agronomia – Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, 2003.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT User's Guide. v. 8.0. Vol. I. Cary NC: SAS Institute, Inc., 2000.

ZIMMERMAN, R. H.; FORDHAM, I. Simplified method for rooting apple cultivars *in vitro*. **Journal of American Society for horticultural Science**, Alexandria, v.110, n.1, p.34-38, 1989.

PALAVRAS - CHAVE: Multiplicação *in vitro*, explante e *Genipa americana* L.

AGRADECIMENTOS: A CAPES<sup>1</sup> pela concessão de bolsa de mestrado.

<sup>1</sup> Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

## Características anatômicas de plântulas de orquídeas submetidas a diferentes qualidades de luz.

Pasqual, Moacir<sup>1</sup>, Araújo, Aparecida Gomes de<sup>1</sup>; Miyata, Luzia Yuriko<sup>1</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>

\* Apoio Financeiro FAPEMIG e CNPq

<sup>1</sup> Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, 37.200-000. email: agaraujo2003@hotmail.com, [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br);

<sup>2</sup> Departamento de Biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, 37.200-000. Lavras-MG.

### INTRODUÇÃO

A utilização da luz natural apresenta inúmeras vantagens sobre sistema de iluminação tradicional, no que se refere às alterações morfofisiológicas das plantas.

Embora diversos autores tenham confirmado efeitos morfológicos e fisiológicos da qualidade de luz nas plantas, as respostas variam de acordo com a espécie estudada (Antonopolou et al., 2004; Schuerger et al., 1997). A qualidade da luz pode afetar estruturas anatômicas das folhas, parecendo exercer maiores efeitos durante a expansão foliar, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade de luz (Saebo et al., 1995; Schuerger et al., 1997).

Diante disso, objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar o efeito de qualidades de luz com uso de malhas coloridas nas características anatômicas em folhas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' (Orchidaceae).

### MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de orquídea *Cattleya loddigesii* 'Tipo' oriundas de sementes germinadas *in vitro* com, aproximadamente, 1,0 cm de comprimento e com raízes foram inoculadas em frascos contendo o meio de cultura WPM, acrescido de carvão ativado (2 g L<sup>-1</sup>), sacarose (20 g L<sup>-1</sup>), ágar (6 g L<sup>-1</sup>) e pH ajustado para 5,7±0,1 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos.

Os explantes, em número de 5 por frasco, foram inoculados em recipientes com capacidade de 250 cm<sup>3</sup>, contendo 60 mL de meio. Após a inoculação, os frascos foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico, e, em seguida, transferidos para sala de crescimento ou casa de vegetação, com nível de sombreamento de 50% de transmitância.

Os tratamentos consistiram de diferentes ambientes de cultivo *in vitro*: casa de vegetação (CV) e sala de crescimento (SC) com sombrites azul (CVA e SCA) e vermelho (CVV e SCV).

O material foi colocado diretamente sobre as bancadas em casa de vegetação e sob malhas especiais que, segundo o fabricante, alteram o espectro de luz solar. As malhas coloridas utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries<sup>®</sup>. Utilizou-se a malha ChromatiNet Vermelha 50% e a malha ChromatiNet Azul 50%.

Foram cultivadas também plântulas em frascos mantidos em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas de luz e temperatura de 25±2°C, para servirem como tratamento controle.

A radiação média (MJ.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>) observada nos microambientes foram: CV=3,15; CVV=2,31; CVA=3,15; SC=3,33; SCV=1,30 e SCA= 1,61. Essas foram mensuradas por meio de sensores de radiação acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Licor. Neb).

Após 180 dias de cultivo, cinco plântulas foram retiradas por tratamento aleatoriamente e fixadas em álcool etílico 70%, para análise dos estudos anatômicos. Este trabalho foi realizado no laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Para as seções transversais, foram realizados cortes na região do terço mediano das folhas, utilizando-se o micrótomo de mesa. As seções transversais foram clarificadas em hipoclorito de sódio 1%, durante cinco minutos, sendo enxaguadas em água destilada por dez minutos. Após a lavagem, as seções foram coradas com azul de astra e safranina, seguindo a metodologia descrita por Bukatsch (1972), modificada por Kraus & Arduin (1997). As lâminas foram montadas em glicerina 50%. Para cada tratamento, foram avaliadas cinco folhas de diferentes plântulas e, em cada folha, foram efetuadas cinco avaliações em campos diferentes. Utilizou-se uma ocular micrometrada acoplada a um microscópio de luz. As variáveis analisadas para as seções transversais foram: espessura das epidermes superior e inferior, espessura do mesofilo do feixe central e número de feixes vasculares.

Os cortes paradérmicos foram efetuados manualmente no terço médio foliar, na superfície abaxial das folhas. As lâminas das seções paradérmicas foram montadas com corante safranina em glicerina, com concentração de 0,1% (v/v). Dessas seções, as variáveis analisadas foram: frequência de estômatos, número das células epidérmicas, diâmetros polar e equatorial.

A frequência estomática foi avaliada com auxílio de uma câmara clara, em microscópio Olympus CBB, seguindo a técnica descrita por Laboriau et al. (1961). A frequência estomática e o número de células foram calculados pela contagem do número por mm<sup>2</sup> de área da folha.

As fotomicrografias foram feitas em microscópio Olympus modelo BX 60, acoplado a uma máquina fotográfica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que as folhas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo' cultivadas sob diferentes espectros de luz são do tipo hipoestomáticas, apresentando estômatos do tipo anomocítico. As epidermes são uniestratificadas em ambas as faces da folha e o mesofilo possui parênquima clorofiliano homogêneo.

Maior número de estômatos foi observado em plantas cultivadas em SC e SCV, e em CV e CVV (Tabela 1), enquanto que plântulas cultivadas sob cobertura azul, tanto em CV como em SC, tiveram resultados inferiores. Esses resultados podem ser comparados aos observados por Rajapske & Kelly (1993), que obtiveram menor densidade estomática trabalhando com crisântemo cultivado sob filtros de CuSO<sub>4</sub>, que produz os mesmos efeitos de filtros de luz azul.

**Tabela 1** Número de estômatos (NE), número de células (NC), espessura da epiderme superior (EES) em µm, inferior (EEI) e mesofilo (M), número de feixes (NF), relação diâmetro polar/ diâmetro equatorial (DP/DE) entre estômatos e índice estomático (IE) em folhas de plântulas de *Cattleya loddigesii* 'Tipo', cultivadas em diferentes ambientes de luz com telas coloridas.

Trat	NE	NC	EES	M	EEI	NF	DP/DE	IE
CVV	93,7 a	808,8 a	45,0 a	697 a	18 a	6,0 b	0,98 a	10,4 a
CVA	80,4 b	754,1 b	54,9 a	439 b	18 a	5,2 b	1,02 a	10,2 a
CV	93,1 a	842,9 a	44,1a	629 a	19a	7,0 b	1,01 a	9,92 a
SCV	95,4 a	767,8 b	52,2 a	484 b	19 a	7,0 b	1,10a	10,8 a
SCA	72,5 b	714,3 b	45,0 a	500 b	17,1 a	5,6 b	0,98 a	9,17 a
SC	94,7 a	857,7 a	47,7 a	559 b	19,8 a	13,4 a	1,01 a	9,97 a
CV(%)	13,59	7,48	14,76	16,23	16,42	16,55	7,09	13,79

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Dignart (2006) registrou maiores densidades de estômatos, em *Cattleya walkeriana*, em sala de crescimento sem sombrite e com cobertura vermelha, e em casa de vegetação sem cobertura e menores densidades em plântulas cultivadas sob cobertura azul, tanto em casa de vegetação como em sala de crescimento.

Contudo, sabe-se que a análise da densidade estomática, por si só, não é um parâmetro preciso para afirmar a adaptabilidade anatômica de espécies cultivadas *in vitro* à aclimatização (Rocha, 2005). Um bom indicativo de funcionalidade estomática é o formato das células guarda em conjunto e um bom parâmetro de avaliação é a relação entre diâmetro polar e diâmetro equatorial dos estômatos. Segundo o mesmo autor, quanto maior for a relação diâmetro polar/diâmetro equatorial (DP/DE), mais elipsóide é o formato do estômato, portanto, maior funcionalidade ele deve apresentar.

Maior número de células foi registrado quando as plântulas foram cultivadas em SC, CV e CVV (Tabela 1).

Não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para espessura das epidermes superior e inferior; já a espessura do mesofilo foi maior em CV e CVV; os demais tratamentos tiveram resultados inferiores (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Schuerger et al. (1997), que também não observaram diferenças significativas para espessura das epidermes em pimentão (*Capsicum annum*) e afirmaram que o mesofilo é mais eficiente nas respostas de alterações espectrais.

Os resultados encontrados para a espessura do mesofilo evidenciam a importância da influência da intensidade de luz sobre as características desse tecido foliar, como já relatado por diversos autores (Rocha, 2005; Serret et al., 1997). E diferem de outros obtidos por tratamentos de alterações espectrais, pois, na maioria dos casos, observa-se redução da espessura foliar sob radiação vermelha (Saebo et al., 1995; Schuerger et al., 1997). Quanto maior o espessamento do mesofilo, maior a eficiência da fotossíntese, entretanto, exposição a elevadas densidades de fluxo de fótons fotossintéticos pode levar a danos por fotoinibição e fotoxidação do aparato fotossintético.

O número de feixes vasculares foi maior em plântulas cultivadas em SC sem utilização das malhas coloridas (Tabela 1). Os tratamentos em sala de crescimento com sombrites e os de casa de vegetação, independente da cobertura com sombrites coloridos, tiveram resultados inferiores.

Analisando-se a relação DP/DE (Tabela 1), artifício utilizado para se medir a funcionalidade estomática, verifica-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Diante disso, conclui-se que a condição de luz natural (CV sem proteção) é capaz de proporcionar elevada densidade estomática, com boa funcionalidade dos estômatos, contribuindo para que as plântulas sejam mais facilmente adaptadas à condição heterotrófica. De forma similar, não foram verificadas diferenças significativas dos tratamentos para o índice estomático.

As alterações promovidas pelo ambiente podem tornar a folha mais semelhante àquela encontrada em ambiente natural, podendo evidenciar maior capacidade fotossintética, por meio de maior diferenciação dos tecidos clorofilianos.

## CONCLUSÕES

O ambiente de cultivo promove alterações anatômicas em *Cattleya loddigesii* 'Tipo', durante o cultivo *in vitro*.

O cultivo em casa de vegetação (luz natural) com sombreamento de 50% de transmitância promove uma superfície foliar anatomicamente adaptada à fase de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONOPOULOU, C.; DIMASSI, K.; THERIOS, I.; CHATZISSAVVIDIS, C The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient concentrations of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 48, n. 4, p. 549-553, 2004.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Seropédica, 1997. 198 p.

LABORIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. G.; SALGADO-LABORIAU, M. I. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-252, jun. 1961.

RAJAPSKE, N. C.; KELLY, J. W. Spectral filters influence transpirational water loss in *Chrysanthemum*. **Hortscience**, Alexandria, v. 28, n. 10, p. 999-1001, Oct. 1993.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira ‘prata anã’**: alterações morfoanatômicas. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. **Plan Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SERRET, M. D.; TRILLAS, M. I.; MATAS, J.; ARAUS, J. L. The effect of different closure types, light, and sucrose concentration on carbon isotope composition and growth of *Gardenia jasminoides* plantlets during the micropropagation and subsequent acclimation *ex vitro*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 47, n. 3, p. 217-230, Sept. 1997.

PALAVRAS-CHAVE: *Cattleya*, Qualidade de luz, anatomia foliar, malhas fotoconversoras, micropropagação.

## Efeito de concentrações de benzilaminopurina (BAP) e volume do meio de cultura na regeneração de microplantas de *Ananas bracteatus* Tricolor

Maria Josirene S. Moreira<sup>1</sup> Lucimário P. Bastos<sup>2</sup> Moema Angélica Chaves da Rocha<sup>3</sup>, Maria Angélica P. de Carvalho Costa<sup>4</sup> e Weliton Antônio B. de Almeida<sup>4</sup>. Érika Ribeiro de Souza<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: mjmoreira28@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Engº Agrônomo - EBDA, Ribeira do Pombal, Bahia, CEP: 48400-000, fone: (75) 32761313, e-mail: agronero@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: moemachaves@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professores do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail:mapcosta@ufba.br. <sup>5</sup>Acadêmica PIBIC, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: kinharibeiro@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

As bromélias têm recebido atenção de um número cada vez maior de pesquisadores e colecionadores. A importância econômica das bromélias está na sua crescente utilização em projetos paisagísticos, por causa da beleza de suas flores, resistência e praticidade no manuseio, além de formar um micro habitat para diversos grupos de organismos. Durante o ciclo vital, de acordo com a espécie e/ou condições ambientais, a planta floresce e frutifica somente uma vez (PAULA 2000). Esta família é composta por 3 subfamílias, 46 gêneros e mais de 200 espécies, sendo todas nativas das zonas tropicais e subtropicais do continente americano com exceção de uma única espécie, *Pitcairnia feliciana*, que ocorre na África.

A propagação destas plantas tem sido realizada por sementes ou brotações axilares. No primeiro caso, devido à grande variabilidade e a conseqüentemente desuniformidade no desenvolvimento das plantas, tem dificultado o plantio comercial. Quanto à propagação vegetativa as taxas de multiplicação pelos métodos convencionais são muito baixas, demandando bastante tempo para a obtenção de um número de mudas, haja vista que o número de brotações laterais formadas pela planta matriz é bastante limitado. Segundo Ventura et al. (1993), a taxa média de produção de mudas por planta varia de 3 a 6 mudas ao final de um ano e meio.

A micropropagação de plantas ornamentais e sua utilização em âmbito comercial já são realidades em diversos países do mundo, destacando-se Holanda, França, Espanha, Japão e, mais recentemente, o Brasil. O processo de cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas qual um explante (célula, tecido ou um órgão) é isolado sob condições assépticas, em meio nutritivo artificial. Esse processo baseia-se na totipotencialidade das células, ou seja, qualquer célula do organismo vegetal apresenta todas as informações genéticas necessárias à regeneração de uma planta.

A composição e a concentração hormonal no meio nutritivo são fatores essenciais no crescimento e no padrão do desenvolvimento na maioria dos sistemas da cultura de tecido. As citocininas são os principais reguladores vegetais para a regulação do crescimento e da morfogênese de tecidos e órgãos (PASQUAI, 2001). Atuam na indução da quebra da dominância apical e proliferação de gemas axilares. A benzilaminopurina (BAP) tem sido muito eficaz na multiplicação de explantes e indução de gemas adventícias (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de concentrações de benzilaminopurina (BAP) e volume do meio MS (Murashige & Skoog, 1962) na regeneração de microplantas de *Ananas bracteatus* Tricolor.

## METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB - Cruz das Almas). Segmentos nodais (com aproximadamente 1 cm de comprimento) de plantas estabelecidas *in vitro* a partir de gemas laterais foram utilizados como explante de partida.

Os segmentos foram incubados em meio de cultura MS, suplementado com 20 g/L de sacarose, 0,0; 1,5; 2,5; 3,0; 3,5; e 4,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e solidificado com 2 g L<sup>-1</sup> de Phytigel. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8, anteriormente à autoclavagem. As culturas foram mantidas em sala de crescimento durante 45 dias sob condições de fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e densidade de fluxo de fótons 22 mE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, com dez repetições, utilizando-se um segmento nodal por frasco, totalizando seis tratamentos. As avaliações foram realizadas aos 45 dias, determinando-se o número de broto por explante e comprimento dos brotos (cm). No sentido de testar a quantidade de meio de cultura segmentos nodais foram incubados em 5,0; 10,0; 15,0; e 20,0 ml do meio de cultura meio de cultura MS, suplementado com 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina) em frascos com capacidade para 200 mL. As culturas foram mantidas em sala de crescimento nas mesmas condições mencionadas acima e durante o mesmo período. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, com dez repetições, utilizando-se um segmento nodal por frasco. Foi avaliado o número de broto por explante aos 45 dias de cultivo.

## RESULTADOS

As diferentes concentrações de BAP influenciaram de maneira positiva na taxa de multiplicação por explante, bem como no comprimento das brotações de *Ananas bracteatus* Tricolor (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações de BAP no número de brotos de *Ananas bracteatus* Tricolor. UFRB.Cruz das Almas – BA, 2006.

Concentração de BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Número médio de brotações/explante	Comprimento médio das brotações/explante (cm)
0.0	1,2 b	0.42 c
1.5	1,6 b	0.46 c
2.5	4,8 a	2.52 a
3.0	3,8 a	1.4 b
3.5	3,8 a	0.68 c
4.5	3,0 a	0.82 c
cv %	21.63	17.88

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP foi a que induziu maior número de brotações, apresentando em média de 4,8 brotos/explante, não diferindo estatisticamente dos tratamentos com 3,0, 3,5 mg L<sup>-1</sup> e 4,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, que produziram uma média de 3,8 e 3,0 brotos/explante, respectivamente. A concentração de 2,5 mgL<sup>-1</sup> de BAP foi a que proporcionou maior comprimento médio de brotos (Tabela 1 e Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Avenido (1996) que trabalhando com uma espécie de

bromélia, que obteve melhor taxa de multiplicação em meio acrescido de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP. Aranda-Peres (2005) obteve regeneração de plantas das espécies *Aechmea bromelifolia* e *Aechmea distichantha* em meio MS com  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP e  $0,18 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA.



Figura 2. Desenvolvimento de brotos de *Ananas bractetus* Tricolor cultivados em meio MS suplementado com  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP. UFRB, Cruz das Almas - BA, 2006

O número de brotações foi diretamente proporcional à quantidade de meio de cultura. Os tratamentos mais eficientes foram os que continham 15 e 20 mL do meio de cultura MS, produzindo em média 3,9 e 5,2 brotos/explante, respectivamente. Os tratamentos contendo 5 e 10 mL do meio de cultura foram os menos eficientes não diferindo estatisticamente entre si. Este fato, provavelmente pode ser decorrente da maior disponibilidade de nutrientes para os explantes.

O microambiente dentro dos frascos de cultura parece ser um ambiente homogêneo, mas na verdade é o responsável pela variabilidade no comportamento das culturas. O tipo de frasco e a quantidade de meio afetam a área superficial da interface meio-atmosfera, o volume de ar sobre o meio e a profundidade do meio (BUFFA FILHO, 2002).

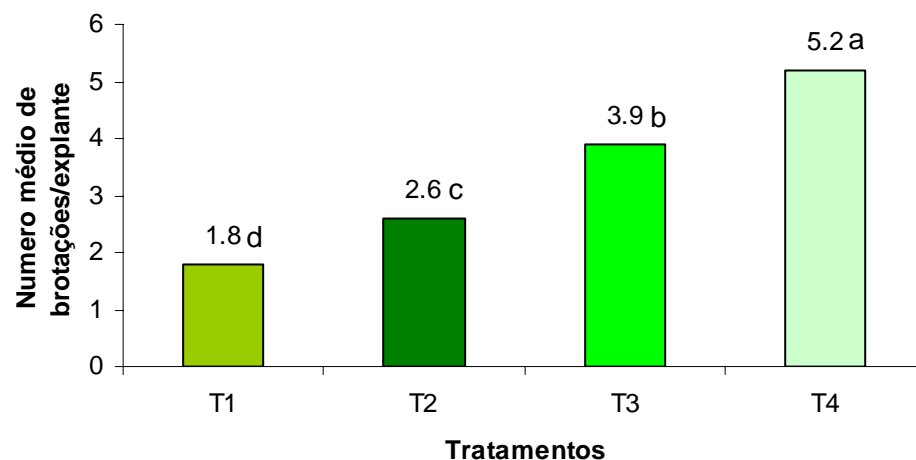


Figura 3: Número médio de brotações/explante sob diferentes quantidade de meio de cultura MS (T1= 5 mL, T2= 10 mL, T3= 15 e T4= 20 mL) em *Ananas bracteatatus* durante 45 dias. (UFRB/ Cruz das Almas/ BA - 2006).



## CONCLUSÕES

A concentração de 2,5mg L<sup>-1</sup> de BAP adicionado ao meio de cultura MS, proporcionou a multiplicação e comprimento médio por brotação em *Ananas bracteatus* Tricolor.

O volume de 20mL do meio de cultura MS favorece a multiplicação de brotos/explante em *Ananas bracteatus* Tricolor.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARANDA-PERES, A. N. **Cultivo in vitro de Bromélias da Mata Atlântica: micropropagação, Avaliação nutricional e substrato para aclimatação**. 2005. 125f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2005.

AVENIDO, R.A.;ZAMORA,A. Rapid multiplicação of bromeliad by tissue culture. **Journal of Crop Science**, Philippne v. 21, n., p. 63, 1996.

BUFFA FILHO, Waldemar et al . Induction of bioactive metabolites in plant cell tissue culture of *Maytenus ilicifolia*. **Eclet. Quím.**, São Paulo, v. 27, n. spe, 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-46702002000200033&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-46702002000200033&lng=es&nrm=iso)>. Acesso em: 27 Abr 2007.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Embrapa-SPI, 1998. v. 1, p. 184-250.

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

PASQUAL, M. **Meios de cultura: cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PAULA, C.C. **Cultivo de Bromélias**. Editora Viçosa:Apreda Fácil, 2000. 139p. il.

VENTURA, J. A.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M. Integrated management system for pineapple *Fusarium* disease control. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 334, p. 439-454, 1993.

Palavras-chaves: reguladores vegetais, bromeliáceas, citocinina.

## **Crescimento vegetativo e resposta ao estresse hídrico de cafeeiros propagados por embriogênese somática e por sementes.**

Almeida, Gustavo Rennó Reis<sup>1</sup>; Carvalho, Carlos Henrique Siqueira de<sup>2</sup>; Guimarães, Rubens José<sup>3</sup>; Padilha, Lílian<sup>2</sup>; João Batista Teixeira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Minasul, Varginha, MG, e-mail: [renno@minasul.com.br](mailto:renno@minasul.com.br). <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Café, Varginha, MG, e-mail: [carlos.carvalho@embrapa.br](mailto:carlos.carvalho@embrapa.br) e [lilian.padilha@embrapa.br](mailto:lilian.padilha@embrapa.br); <sup>3</sup>Professor da Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG; <sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, e-mail: [batista@cenargen.embrapa.br](mailto:batista@cenargen.embrapa.br).

### **INTRODUÇÃO**

O desenvolvimento de uma cultivar de café arábica é um processo longo, que pode consumir até 30 anos de trabalho. Isto acontece porque as plantas em melhoramento em geral são submetidas a um ou mais cruzamentos e a vários ciclos de seleção, a fim de que as características de interesse sejam reunidas e fixadas na nova cultivar, permitindo a produção de plantas uniformes através de sementes.

Uma outra forma que pode ser utilizada para o desenvolvimento de cultivares de café é a seleção de plantas matrizes e a sua posterior multiplicação por propagação vegetativa. A propagação vegetativa possibilita a multiplicação de híbridos e de plantas superiores que ainda segregam para uma ou mais características. Dentre os métodos de propagação vegetativa mais adequados à espécie arábica, a embriogênese somática (ES) tem se destacado, pois permite a multiplicação de plantas em larga escala (Berthouly, 1999). Todavia, existem poucos estudos sobre o comportamento de plantas obtidas por ES sob condições de baixa disponibilidade de água no solo, e em condições de campo. Neste contexto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de água disponível no solo e o crescimento vegetativo em condições de campo de cafeeiros propagados via embriogênese somática em comparação com cafeeiros propagados por sementes.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados dois experimentos (01 e 02): O experimento 01 foi conduzido em casa de vegetação e teve como objetivo avaliar o efeito do estresse hídrico em plantas propagadas via embriogênese somática, comparadas com plantas propagadas via semente, em vários níveis de disponibilidade de água no solo. O experimento foi instalado em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial de 4x2, sendo quatro níveis de água no solo (40%, 70%, 100% e 130% da capacidade de campo) e dois tipos de propagação (embriogênese somática e semente), com quatro repetições e três vasos de 20 litros por parcela. Os seguintes parâmetros foram avaliados quatro meses após o início dos tratamentos: altura de plantas, diâmetro de caule, número de ramos plagiotrópicos, massa seca da parte aérea, comprimento radicular, área foliar e número de nós do ramo ortotrópico.

O experimento 02 foi realizado em campo e comparou o crescimento vegetativo de plantas propagadas por ES com plantas oriundas de sementes. Utilizou-se delineamento de blocos casualizados, com 10 repetições e parcelas com sete plantas e três tratamentos: 1) cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 propagada por ES, 2) por sementes e 3) um híbrido denominado de H 4217-3-4, também obtido por ES. Avaliações de crescimento vegetativo foram realizadas mensalmente do 7º ao 13º mês após o plantio.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No experimento 01 as plantas propagadas via embriogênese somática apresentaram um sistema radicular com morfologia diferente do de plantas propagadas por sementes. Observou-se ausência de raiz pivotante e predominância de raízes laterais adventícias com

crescimento inicial no sentido horizontal e a seguir crescimento vertical descendente. Todavia, não houve diferença significativa entre a massa seca e o comprimento do sistema radicular de plantas propagadas por ES e por sementes sob diferentes níveis de água no solo. Além disso, o crescimento vegetativo para os diversos parâmetros avaliados, incluindo massa seca das folhas e altura de planta (Figuras 1 e 2), foi semelhante para plantas provenientes dos dois métodos de propagação.

Em condições de campo, no experimento 02, as plantas da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 apresentaram maior crescimento vegetativo que as plantas da mesma cultivar oriundas de sementes para todas as características avaliadas, como por exemplo, altura de planta e número de ramos plagiotrópicos (Tabelas 1 e 2 e Figuras 3 e 4). A cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 propagada via embriogênese somática apresentava uma altura 9,53% maior que as plantas propagadas via semente; e 20,76% mais ramos plagiotrópicos. Semelhantemente, Richie et al (1993), comparando o crescimento de plantas de pinheiro propagadas por estaquia e por semente e verificou que plantas propagadas por estaquia tiveram maior altura e maior volume do sistema radicular do que plantas propagadas por sementes. Plantas que apresentam maior altura tendem a apresentar maior número de ramos plagiotrópicos, logo com maior número de gemas, podendo influenciar de maneira positiva na produção (Karasawa, 2001).

Tabela 1. Valores médios de altura de plantas (cm) para mudas de café propagadas por embriogênese somática e por sementes, avaliadas do 7º ao 13º mês após o plantio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Genótipo	Meses após o plantio						
	7º	8º	9º	10º	11º	12º	13º
H 427-3-4 Embriogênese	13,13 c	15,93 c	19,04 c	24,20 c	29,73 c	36,28 c	40,77 c
IAC 44 Semente	18,23 b	21,35 b	24,68 b	29,94 b	36,21 b	43,45 b	48,53 b
IAC 44 Embriogênese	21,49 a	23,8 a	27,18 a	33,21 a	40,18 a	48,12 a	53,64 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem na coluna para cada variável resposta entre si, Teste de Scott Knot ao nível de % de probabilidade.

Tabela 2. Valores médios de números de ramos plagiotrópicos para mudas de café propagadas por embriogênese somática e por sementes, avaliadas do 7º ao 13º mês após o plantio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Genótipos	Meses após o plantio						
	7º	8º	9º	10º	11º	12º	13º
H 427-3-4 Embriogênese	2,10 c	2,84 c	5,69 c	8,64 c	10,02 c	12,76 c	15,87 c
IAC 44 Semente	3,56 b	4,88 b	7,33 b	10,99 b	13,12 b	15,87 b	18,62 b
IAC 44 Embriogênese	7,92 a	9,07 a	11,82 a	15,49 a	17,90 a	20,85 a	23,5 a

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem na coluna para cada variável resposta entre si pelo Teste de Scott Knot ao nível de 5% de probabilidade.

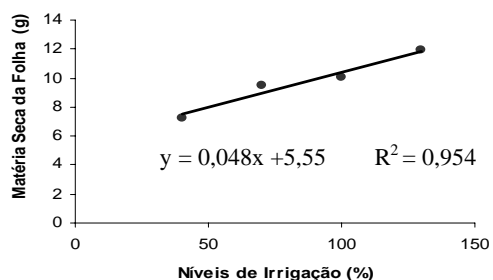


Figura 1. Média da massa seca das folhas de Catuaí Vermelho IAC 44 propagadas por embriogênese somática e por semente em função de diferentes níveis de disponibilidade de água no solo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

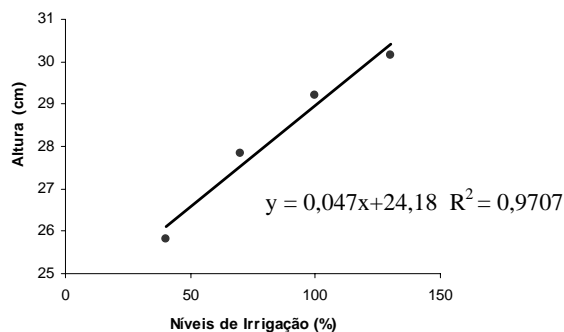


Figura 2. Valores médios de altura de planta de Catuaí Vermelho IAC 44 propagados por embriogênese somática e por semente em função de diferentes níveis de disponibilidade de água no solo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

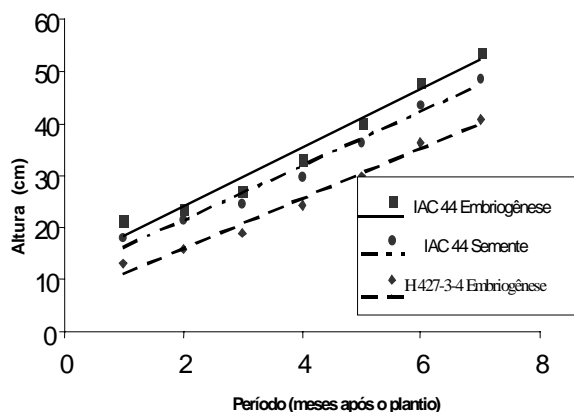


Figura 3. Altura média de plantas (cm) de mudas de café propagadas por semente e por embriogênese somática durante os sete primeiros meses após o plantio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

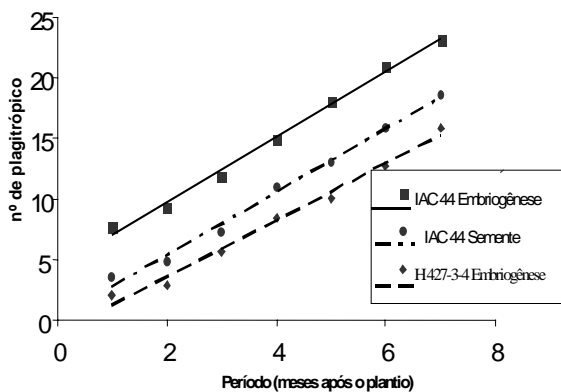


Figura 4. Números de ramos plagiotrópicos de mudas de café propagadas por semente e por embriogênese somática durante os sete primeiros meses após o plantio. UFLA, Lavras, MG, 2007.

## CONCLUSÕES

Nos 13 primeiros meses pós-plantio a cultivar Catuaí Vermelho IAC 44, proveniente de embriogênese somática, apresenta melhor crescimento vegetativo do que a mesma cultivar proveniente de sementes e que o híbrido H 427-3-4 proveniente de embriogênese somática.

Plantas propagadas por embriogênese somática têm resposta semelhante a plantas oriundas de sementes, quando submetidas a diferentes níveis de disponibilidade de água no solo.

O sistema radicular de cafeeiros propagados via embriogênese somática não limita, e pode até contribuir para um maior desenvolvimento das plantas na fase inicial da cultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTHOULY, M. Biotecnologías aplicadas al mejoramiento genético del cafetero. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON BIOTECHNOLOGY IN THE COFFEE AGROINDUSTRY, 3, 1999, Londrina. Proceedings... Londrina: IAPAR/IRD, 2000. P. 9-22.

KARASAWA, S. Crescimento do cafeeiro (*Coffea arábica* L. cv. Topázio MG – 1190) sob diferentes manejos de irrigação localizada. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RITCHIE, G.A., Tanaka, Y., Meade, R.; Duke, S.D. Field survival and early height growth of Douglas-fir rooted cuttings: relationship to stem diameter and root system quality. *Forest ecology and Management*, Amsterdam, v.60, n.3/4, p. 237-256, 1993.

#### PALAVRAS –CHAVE

Café, propagação vegetativa, estresse hídrico, micropropagação.

## Efeito residual do BAP (6- benzilaminopurina) em subcultivos *in vitro* de *Heliconia rostrata* Ruiz & Pavón.

Souto, Nise<sup>1,6</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>2</sup>; Manço, Gemima<sup>3,6</sup>; Paulino, Patrícia<sup>4,6</sup>; Willadino, Lilia<sup>5,6</sup>; Câmara, Terezinha<sup>6,6</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE), e-mail: nise\_souto@hotmail.com; <sup>2</sup> Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE). Av. Bom Pastor, s/n, Mundaú, CEP: 55296901, Garanhuns, PE – Brasil, e-mail: claudia@nlink.com.br; <sup>3</sup>Aluna de licenciatura do curso de Ciências Biológicas, e-mail: gemimamelo@ig.com.br; <sup>4</sup>Aluna de licenciatura do curso de Ciências Biológicas, e-mail: patriciaso@hotmail.com; <sup>5</sup> Professora do Departamento de Botânica da UFRPE, e-mail: lilia@truenet.com.br; <sup>6</sup> Professora do Departamento de Química da UFRPE, tcamara@novaera.com.br; <sup>6</sup> Rua Dom Manoel de Medeiros, s/ n, Dois Irmãos, Recife- PE, Brasil, CEP:52171900.

### INTRODUÇÃO

A grande riqueza florística e diversidade edafoclimática do Brasil abrem espaço para o cultivo de flores e plantas tropicais devido às condições ambientais naturais favoráveis. As flores tropicais apresentam comercialização facilitada pela beleza, diversidade, durabilidade pós-colheita e resistência ao transporte das plantas (Loges *et al.*, 2005; Lins & Coelho, 2004; Kiyuana *et al.*, 2004).

As espécies do gênero *Heliconia*, são herbáceas perenes com brácteas de cores muito vivas, proporcionando a sua comercialização. No entanto, a propagação tradicional das helicônias, por meio da divisão do rizoma, pode disseminar patógenos que são transmitidos entre plantios sucessivos (Torres *et al.*, 2005). Neste sentido, a micropropagação tem-se mostrado uma técnica eficiente, produzindo mudas isentas de doenças. Apresenta-se como uma técnica que possibilita a padronização de mudas de alta qualidade, exigidas no mercado internacional de flores (Grattapaglia e Machado, 1990; Anéfalos *et al.*, 2003)

Para aumentar a produção de mudas no cultivo *in vitro* de plantas, devem ser adicionados fitorreguladores ao meio de cultivo. As citocinininas, estão entre os reguladores de crescimento mais usados em sistemas de micropropagação (Caldas *et al.*, 1990). O BAP (6-benzilaminopurina) é uma das citocinininas de destaque, devido a eficácia demonstrada na multiplicação de diversas espécies, favorecendo a formação de gemas axilares. No entanto, o excesso de citocinina pode trazer toxicidade aos tecidos vegetais, afetando o desenvolvimento das culturas. (Grattapaglia e Machado, 1990).

Portanto, o presente trabalho visa avaliar o efeito residual do BAP em subcultivos de *Heliconia rostrata* Ruiz & Pavón.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os propágulos de *Heliconia rostrata* utilizadas como explantes foram obtidas a partir de embriões zigóticos inoculados. A unidade experimental constou de um explante por tubo de ensaio, contendo 10 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 6,5g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 5,8. Os tratamentos consistiram do meio MS sob 3 tratamentos: T0 – Ausência de BAP (controle), T1 – 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP e subcultivos alternados com 0 mg L<sup>-1</sup> BAP (subcultivos alternados) e T3 - 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP em todos os subcultivos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 9 repetições por tratamento. Os propágulos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de 28±1° C e fotoperíodo de 16 horas, com intensidade luminosa de 50µmols.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>. Foram realizadas observações e subcultivos a cada 30 dias, levando-se em consideração: número de raízes, de folhas, de gemas, o tamanho dos propágulos e das gemas (cm) e o nível de oxidação.

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA), por meio do software ASSISTAT 7.4 beta e a comparação de médias realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo os dados transformados em  $\sqrt{x+0,5}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos em 3 subcultivos de *Heliconia rostrata*, verificou-se que o tamanho do propágulo e o número de folhas aos 30 dias de cultivo no tratamento T0, apresentaram diferença significativa comparando com os tratamentos T1 e T2 (Tabela 1), no entanto esses parâmetros não mostraram diferenças significativas entre os 2 subcultivos seguintes.

O enraizamento dos explantes mostrou diferenças estatísticas apenas no segundo subcultivo (60 dias), onde se pôde perceber a diminuição do número de raízes nos tratamentos T1 (0,70) e T2 (0,70). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), um fator limitante ao enraizamento pode ser o efeito residual do BAP, o que justifica o resultado obtido.

Já o número e o tamanho de gemas apresentaram maiores valores a partir do segundo subcultivo (60 dias) nos tratamentos T1 e T2, demonstrando o efeito do BAP em T2 e seu aspecto residual em T1. No subcultivo posterior, no entanto esses parâmetros possuíram maiores valores para o tratamento constante com o BAP (T2). Estudando aspectos da multiplicação *in vitro* de *Rubus sp*, Villa *et al.* (2005), verificaram como a adição de BAP pode estimular uma maior formação de brotos, no entanto, reduzindo seu tamanho e com menor número de segmentos nodais e folhas.

A maximização da taxa de multiplicação de brotos é um dos objetivos da micropropagação (Villa *et al.*, 2005), porém o ideal é que consiga se estabelecer uma relação favorável entre o número de mudas produzidas e o tamanho ideal dessas mudas, visando uma maior sobrevivência na fase de aclimatização (Diniz *et al.*, 2004). Ao final do experimento, foram formados 77 brotos (incluindo todos os tratamentos) e verificou-se uma maior taxa de produção de gemas e um melhor aspecto dos explantes nos subcultivos alternados com BAP (T1) (gráfico 1). Ao final dos subcultivos em T2, haviam propágulos endurecidos e engrossados, além de uma maior perda por oxidação em relação aos demais tratamentos (gráfico 2).

Visto os resultados obtidos, no tratamento utilizando o BAP em subcultivos alternados, observou-se uma boa taxa de produção de gemas, mesmo não apresentando diferença significativa com o tratamento dos propágulos sob subcultivos sempre adicionados de BAP (T2), pois as gemas se apresentavam bem formadas, macias e vigorosas, além de minimizar a possibilidade de variação somaclonal e redução nos custos de produção (figura 1).

Tabela 1. Avaliação do desenvolvimento de propágulos de *Heliconia rostrata* em subcultivos consecutivos.

Subcultivo	Tratamento	Tam. Propágulos(cm)	Nº folhas	Nº raízes	Nº gemas	Tamanho gemas
1	T0	2,06 a*	1,49 a	1,14 a	0,99 a	0,88 a
	T1	1,80 b	1,18 b	0,87 a	1,29 a	1,18 a
	T2	1,82 b	1,20 ab	1,08 a	0,99 a	0,91 a
2**	T0	1,96 a	1,41 a	1,44 a	0,76 b	0,76 a
	T1	1,81 a	1,36 a	0,70 b	1,37 a	1,24 a
	T2	1,76 a	1,21 a	0,70 b	1,31 a	1,22 a
3	T0	1,91 a	1,42 a	1,32 a	0,70 b	0,70 b
	T1	1,82 a	1,36 a	0,86 a	1,39 a	1,30 a
	T2	1,77 a	1,27 a	0,70 a	1,15 a	0,94 b

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula entre as colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

\*\* Subcultivos isentos de BAP em T1

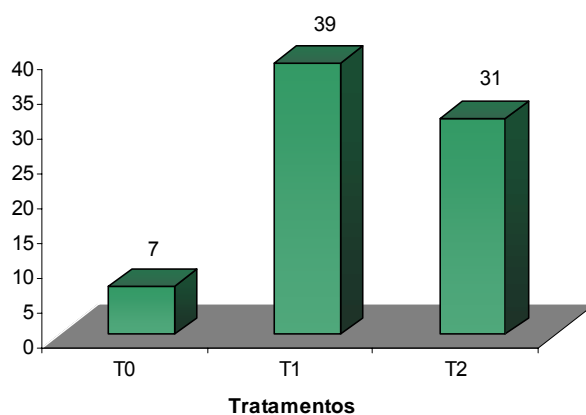


Gráfico 1. Número de gemas nos tratamentos T0, T1 e T2 nos 3 subcultivos (90 dias)

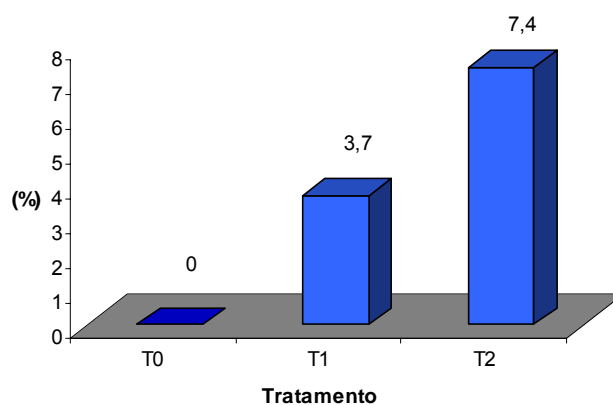


Gráfico 2. Percentagem de perdas por oxidação dos explantes nos tratamentos T0, T1 e T2 nos 3 subcultivos (90 dias)



Figura 1. Propágulos de *Heliconia rostrata* aos 90 dias de cultivo *in vitro* sob os tratamentos T0, T1 e T2.



## CONCLUSÃO

A utilização de BAP (6-benzilaminopurina) em subcultivos alternados (tratamento T1) proporcionou a multiplicação de gemas com boas características morfológicas e fisiológicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEFALOS, L. C.; GUILHOTO, J. J. M. Estrutura do mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais. **Agric. São Paulo**, SP, v. 50, n. 2, p. 41-63, 2003.

DINIZ, J. D. N.; GOMES, S. O.; INNECO, R.; ALMEIDA, J. L.; COSTA, J. T. Avaliação dos efeitos da quebra da dominância apical e do BAP na multiplicação *in vitro* de *Heliconia stricta* Huber. **Revista Ciência Agronômica**, V. 35, Número especial, 232- 237, 2004.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. *In*: TORRES, A. C. *et al.* **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/ EMBRAPA-CNPq, v.1, p. 183-260, 1990.

KIYUANA, I; FRANCISCO, V. L. F. S.; CASER, D. V.; ASSUMPÇÃO, R.; ÂNGELOS, J. A. Floricultura brasileira no início do século XXI: o perfil do produtor. **Informações Econômicas**, SP, v.34, n.4, 2004.

LOGES, V.; TEIXEIRA, M. C. F.; CASTRO, A. C.; COSTA, A. S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Hortic. Bras.**, v. 23, n.3, p. 699- 702. 2005.

LINS, R. O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatol. Bras.**, v. 29, n. 3, maio/ jun, 2004.

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

TORRES, A. C. *et al.* Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. **Hortic. bras.**, v. 23, n. 3, jul.-set. 2005.

VILLA, F.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta "Ébano" em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.29, n.3, p. 582- 589, maio/jun., 2005.

## PALAVRAS- CHAVE

Micropropagação; 6- benzilaminopurina; flores tropicais; Heliconiaceae.

## Indução de Calos em Sempre-Viva (*Syngonanthus mucugensis* Giulietti) utilizando diferentes tipos de explantes e concentrações de BAP.

Paixão-Santos, Janilza da<sup>1</sup>; Dornelles, Ana Lúcia Cunha<sup>2</sup>; Pereira, Flávia Dionísio<sup>3</sup>; Oliveira, Lenaldo Moniz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Msc, Universidade Estadual de Feira de Santana, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – LCTV –Av. Presidente Dutra S/N, Santa Mônica, CEP 44055-000, Feira de Santana, Ba fone (75) 3625-2300, email: [spjanil@hotmail.com](mailto:spjanil@hotmail.com); <sup>2</sup>Dra Professora da UFRRJ; email: [al\\_cunha@terra.com.br](mailto:al_cunha@terra.com.br) – UFRJ – Instituto de Biologia BR-465 Km 7- CEP 23890-000, Soro pédica-RJ. <sup>3</sup>Dr. LCTV-UEFS email: [flavia1808@hotmail.com](mailto:flavia1808@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

*Syngonanthus mucugensis* Giulietti é uma espécie ornamental, da família Euricaulaceae, popularmente conhecida por sempre-viva-de-mucugê. A espécie é perene e ocorre no município de Mucugê (BA), em altitudes variando entre 800 e 1.600 m (Giulietti et al., 1996). Em condições naturais, *S. mucugensis*, possui de 20 a 58 cm de altura. Suas inflorescências são vistosas, com brácteas involucrais que mudam de cor das séries mais externas para as séries mais internas (Scatena et al., 2004).

Por apresentar escapos e inflorescências que conservam a aparência de estruturas vivas, mesmo depois de coletadas e secas, é comercializada e exportada para decoração de interiores, embora, por se tratar de uma espécie com risco de extinção, sua coleta seja proibida (Giulietti et al., 1998; Giulietti, 1996 a; Giulietti et al., 1996 b).

Nos últimos anos, a cultura de tecidos tornou-se um importante procedimento, tanto para a ciência como em aplicações tecnológicas. Para a micropropagação em plantas duas estratégias têm sido utilizadas: a regeneração de calos (organogênese indireta) e a multiplicação de brotos (organogênese direta). A regeneração de calos pode ser considerada como método potencial de propagação, caso as variações genéticas (variação somaclonal) não atinjam valores percentuais elevados (Pierik, 1985; Einset, 1986). Objetivou-se neste trabalho avaliar a indução de calos *in vitro*, de *Syngonanthus mucugensis* utilizando diferentes tipos de explantes e concentrações de BAP (6-benzylaminopurina).

### MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se explantes obtidos de plântulas preestabelecidas *in vitro*. As plântulas utilizadas tinham 60 dias de cultivo *in vitro* e possuíam 2,0 cm de comprimento. Os segmentos nodais utilizados também eram provenientes de plântulas com 60 dias, porém com 0,5 cm.

Os explantes foram inoculados em 50% dos sais do meio MS (½MS) (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com (0,0; 0,89; 1,78; 3,55; 7,10; 14,21 e 28,42µM) de BAP. Utilizou-se 50 mL de meio de cultura nos frascos. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Após a inoculação, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25±3°C, fotoperíodo de 16 horas com radiação fotossintética ativa de 15 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, durante 60 dias.

Avaliaram-se a porcentagem de sobrevivência dos explantes e de formação de calos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo que cada tratamento continha 4 repetições e cada repetição era formada por 4 explantes.

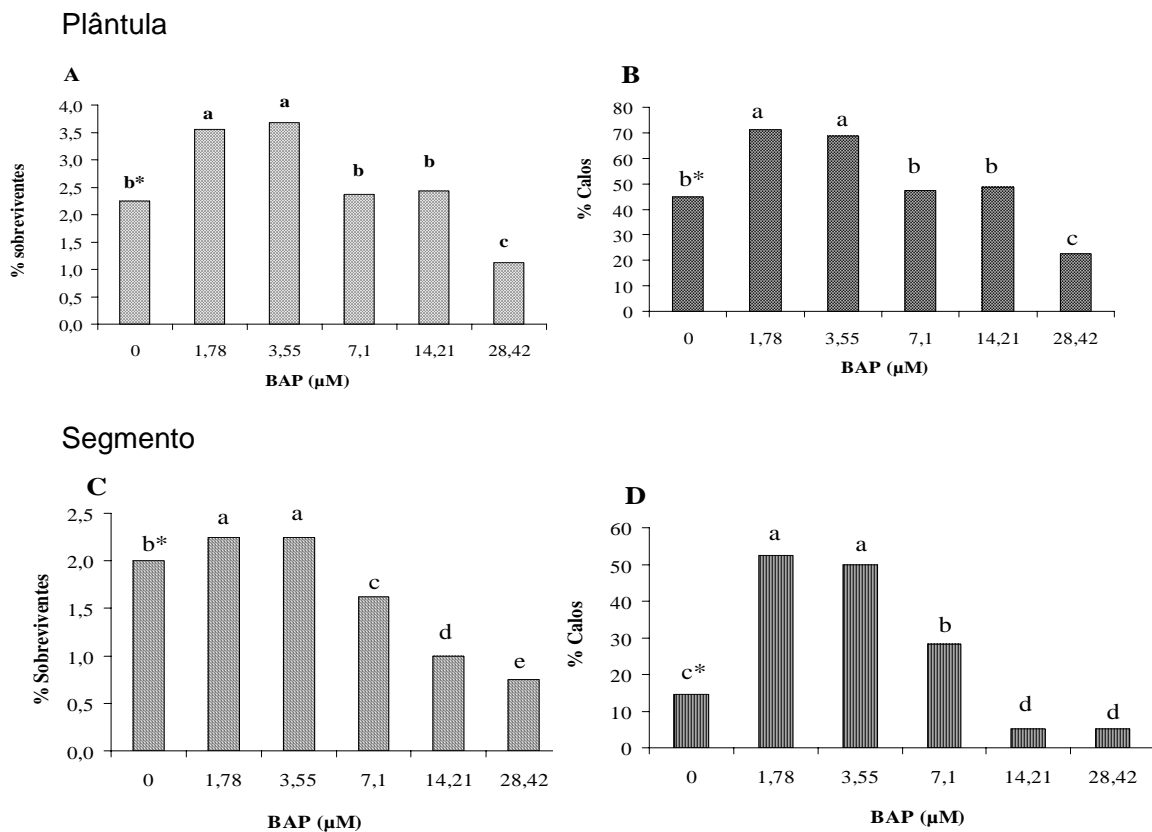
Na avaliação das porcentagens utilizou-se uma escala de valores de 0 a 10, que correspondia às porcentagens de 0 a 100% para sobrevivência e formação de calos. As médias dos frascos foram analisadas mediante a análise de variância testando-se pelo teste de Tukey. O programa utilizado para análise dos dados foi o software SISVAR (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que houve efeito significativo ( $P < 0,01$ ) do meio de cultura sobre as variáveis porcentagem de sobreviventes e de calos quando utilizou como explantes a plântula toda ou os segmentos nodais.

Quando inoculadas plântulas como explante, utilizando as concentrações 1,78 e 3,55  $\mu\text{M}$  de BAP no meio de cultura, a porcentagem de sobrevivência foi de 3,56 e 3,68%. As concentrações intermediárias 7,14 e 14,21  $\mu\text{M}$  obtiveram índice de 2,37 e 2,43% de sobreviventes. O tratamento sem regulador de crescimento não diferiu estatisticamente dos tratamentos com concentrações intermediárias, onde obteve-se 2,25% de sobreviventes. Já o tratamento com maior concentração de BAP 28,42  $\mu\text{M}$  obteve o menor índice de sobrevivência 0,75% (Figura 1A). O mesmo comportamento foi observado na formação de calos. As concentrações de 1,78 e 3,55  $\mu\text{M}$  promoveram maiores porcentagens de calos 71,25 e 68,75% respectivamente. As concentrações de 7,14 e 14,21  $\mu\text{M}$  induziram 47,5 e 48,75% e o tratamento sem regulador de crescimento 45%. O tratamento com 28,42  $\mu\text{M}$  também foi o que induziu a menor porcentagem de formação de calos (28,42%) (Figura 1B).

Com relação à utilização dos segmentos nodais verificou-se que as porcentagens de sobreviventes, bem como as de indução de calos foram menores que aqueles alcançados quando utilizado a planta toda como fonte de explante. No tratamento cujas concentrações de BAP foram de 1,78 e 3,55  $\mu\text{M}$  no meio de cultura, obteve-se as maiores porcentagens de sobrevivência que foram de 2,25% em ambos os tratamentos. O tratamento sem a adição de regulador de crescimento obteve 2,0% de sobreviventes, e os tratamentos com as concentrações de 7,14; 14,21 e 28,42  $\mu\text{M}$  obtiveram 1,62; 1,0 e 0,75% de sobreviventes respectivamente (Figura 1C). Na formação de calos as concentrações de 1,78 e 3,55  $\mu\text{M}$  também foram superiores aos demais tratamentos, promoveram 52,5 e 49,96% de calos. O tratamento com a concentração 7,14  $\mu\text{M}$  de BAP promoveu 28,19%, o sem regulador de crescimento 14,61%. Nos tratamentos com as concentrações de 14,21  $\mu\text{M}$  e 28,42  $\mu\text{M}$  obteve-se os menores e os mesmos valores de porcentagem de calos 5,17% (Figura 1D).



\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de

Figura 1-Indução de calos em *Syngonanthus mucugensis* (A) Porcentagem de sobreviventes em plântulas (B) Porcentagem de calos em plântulas (C) Porcentagem de sobreviventes em segmento nodal (D) Porcentagem de calos em segmento nodal.

Vários trabalhos têm demonstrado que certos grupos de plantas respondem mais facilmente em culturas *in vitro* que outros, e estas diferenças mostram que as condições ideais variam com o genótipo em estudo (Flores et al., 1998). Neste trabalho verificou-se que tanto para a porcentagem de sobrevivência como para a formação de calos, em ambos os explantes utilizados, as melhores concentrações de BAP foram as com 1,78 µM e 3,55 µM (Figura 2).

Desse modo, o comportamento observado no desenvolvimento de *Syngonanthus mucugensis*, nas condições testadas, sugere que a metodologia apresentada pode ser considerada eficiente para estudos do desenvolvimento vegetal. Os resultados demonstram que as concentrações de 1,78 e 3,55 µM de BAP apresentam os melhores resultados para porcentagem de sobreviventes e formação de calos, além disso, ambos os explantes (plântulas ou segmentos nodais) são de relevante importância na indução de calos.

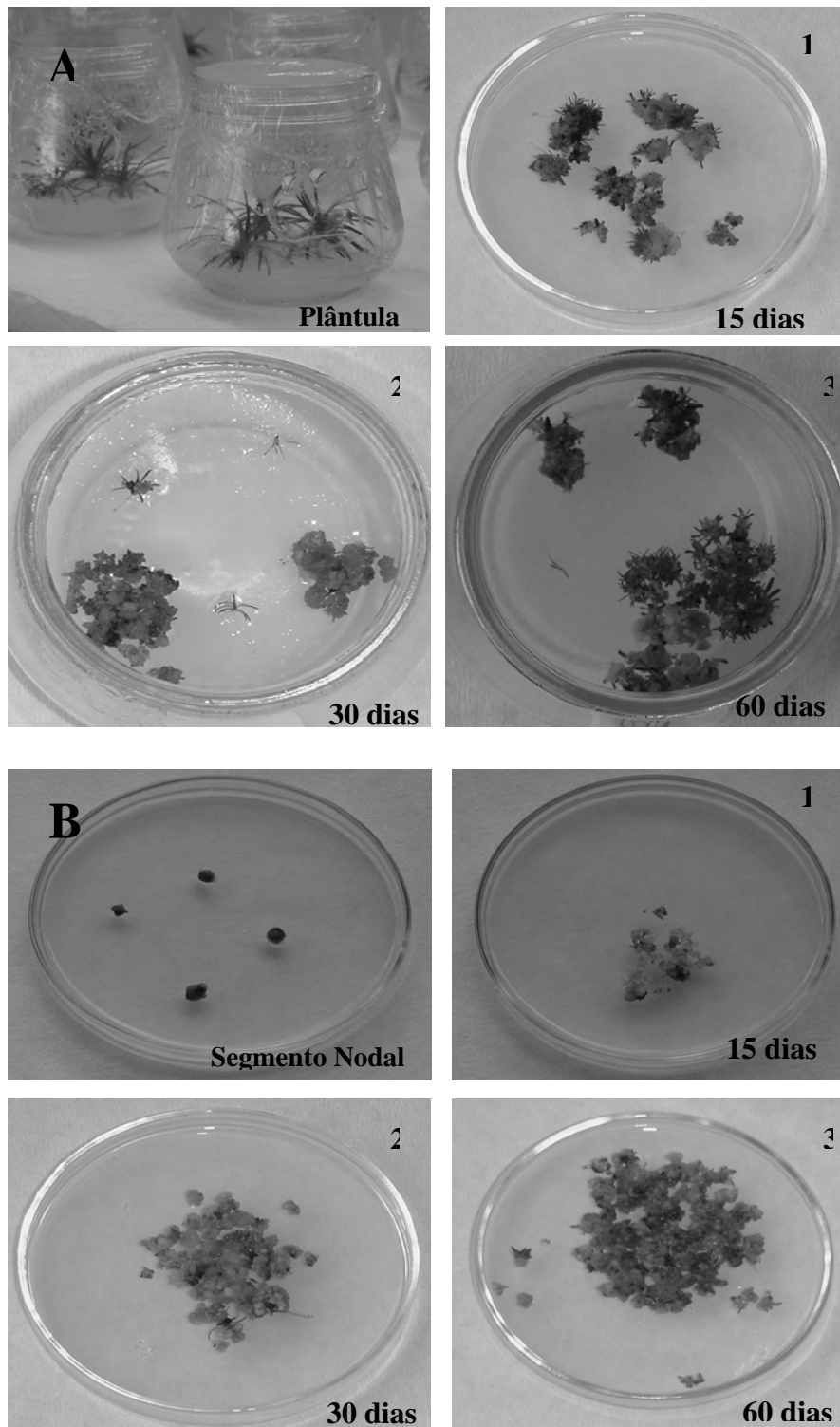


Figura 2- Indução de calos em *Syngonanthus mucugensis* (A) utilizando planta toda como explante inoculado em  $\frac{1}{2}$ MS adicionado a  $3,55 \mu\text{M}$  (1) aos 15 dias (2) aos 30dias (3) 60dias (B) utilizando segmento nodal como explante inoculado em  $\frac{1}{2}$ MS adicionado a  $3,55 \mu\text{M}$ .

## CONCLUSÕES

Plântulas e segmentos nodais de *Syngonanthus mucugensis* são explantes responsáveis ao BAP levando a formação de calos friáveis, sendo que produção significativa é obtida utilizando-se as concentrações de 1,78 e 3,55  $\mu\text{M}$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EINSET, J. W. A practical guide to woody plant micropropagation. **Arnoldia**, Jamaica Plain, v.46, p.36-44, 1986.

FERREIRA, D. F. **SISVAR** - versão 4,3. DEX/UFLA - Lavras, MG, 2003.

FLORES, R.; GOMES, P. R.; FARIA, J.T.C.; CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G.L.R.; PETERS, J. A. Calogênese in vitro de duas cultivares de morangueiro (*Fragaria x ananassa*) a partir de discos foliares. **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 4, n.1, p. 09 -14, 1998.

GIULIETTI, N.; GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R. Estudos em sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, n.1, p.179-193, 1998.

GIULIETTI, A. M. Novas espécies no gênero *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae). **Boletim de Botânica**, n. 15, p.63-71, 1996 a.

GIULIETTI, A. M.; WANDERLEY, M.G. L.; WAGNER, H. M. L. Estudos em sempre vivas: Taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**. n.10, p.329-377, 1996 b.

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

PIERIK, R.L.M. **Plantenteelt in kweekbuizen**. 2. herz druk. Wageningen: Ponsen & Looijen, 1985. 202 p.

SCATENA V. L, J. P LEMOS-FILHO & AAA LIMA. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). **Acta bot. Bras.** v.10, n. 1, 1996.

## PALAVRAS-CHAVES

*Syngonanthus mucugensis*, cultura de tecidos, regulador de crescimento, plantas ornamentais.

## Metabolismo do nitrogênio durante a pré-aclimatização e aclimatização de plântulas de *Agave attenuata* Salmy-Dyck.

Elaine Buch Sezerino<sup>1</sup>; Gilmar Roberto Zaffari<sup>2</sup>; Henri Stuker<sup>2</sup>; Miguel Pedro Guerra<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Centro de Ciências Agrárias (UFSC), Rua Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, fone (48) 37275333, email: [ellainebuch@yahoo.com.br](mailto:ellainebuch@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisador da Estação Experimental de Itajaí (Epagri), Laboratório de Biotecnologia, Caixa Postal 277, Rodovia Antonio Heil, Km 06, Itaipava, Caixa Postal 277, CEP 88301-970, Itajaí, SC, fone (47) 33415244, Professor da Universidade do Vale do Itajaí – Campus de Itajaí, CTTMar, Caixa Postal 360, CEP 88302-202, Itajaí, SC, fone (47) 33417949, email: [gzaffari@epagri.sc.gov.br](mailto:gzaffari@epagri.sc.gov.br); email: [stuker@epagri.sc.gov.br](mailto:stuker@epagri.sc.gov.br); <sup>3</sup>Professor Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Centro de Ciências Agrárias (UFSC), Laboratório de Fisiologia de Desenvolvimento e Genética Vegetal, Rua Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, fone (48) 37275333, email: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

A expressão de genes responsáveis pela sinalização entre a raiz e a parte aérea é afetada pelo fornecimento de nutrientes, carbono e pelo estresse hídrico das plantas. As concentrações de nitrato e amônia em células de plantas cultivadas *in vitro* dependem das fontes nitrogenadas e do suprimento exógeno de carbono. As alterações na sinalização entre raiz e parte aérea não envolvem somente uma mobilização e re-circulação de proteínas, aminoácidos e hormônios, mas também de sinais derivados do  $\text{NO}_3^-$  que estão relacionados com a ativação da expressão de vários genes. O presente trabalho teve como objetivo estudar o metabolismo fisiológico de plântulas de *Agave attenuata* Salmy Dyck na fase de pré-aclimatização e aclimatização. As plântulas foram cultivadas em meio de cultura MS 50% e 100% com diferentes concentrações de sacarose (0, 1 e 2%), determinando-se o conteúdo de proteínas, aminoácidos totais e amônia e nitrato. A micropropagação das plântulas na fase de pré-aclimatização *in vitro* em meio de cultura MS com 50% promoveu um acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  induzindo uma inibição do crescimento e um menor desenvolvimento morfo-fisiológico. Plântulas micropropagadas em meio de cultura MS com 100% suplementado com 2% sacarose mostraram uma adequada mobilização de proteínas totais e aminoácidos totais, níveis de nitrato e amônia para o metabolismo do carbono e nitrogênio, melhorando desempenho fisiológico das plântulas de *Agave attenuata* Salmy-Dyck. Os resultados sugerem que a concentração de sacarose 2% no meio MS 100% maximiza a eficiência fotoquímica resultando no desenvolvimento de plântulas com uma adequada regulação metabólica durante a aclimatização. As fontes de carbono e nitrogênio são fatores importantes para determinar os processos de resposta adaptativa das espécies na fase da aclimatização

### PALAVRAS-CHAVE

*Agave attenuata*; *in vitro*; proteínas totais; aminoácidos totais;  $\text{NO}_3^-$ ;  $\text{NH}_4^+$ .

## **Influência da condição nutricional do meio de cultura sobre o metabolismo mixotrófico de plântulas de *Agave attenuata* Salmy-Dyck.**

Elaine Buch Sezerino<sup>1</sup>; Gilmar Roberto Zaffari<sup>2</sup>; Henri Stuker<sup>2</sup>; Miguel Pedro Guerra<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Centro de Ciências Agrárias (UFSC), Rua Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, fone (48) 37275333, email: [ellainebuch@yahoo.com.br](mailto:ellainebuch@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisador da Estação Experimental de Itajaí (Epagri), Laboratório de Biotecnologia, Caixa Postal 277, Rodovia Antonio Heil, Km 06, Itaipava, Caixa Postal 277, CEP 88301-970, Itajaí, SC, fone (47) 33415244, Professor da Universidade do Vale do Itajaí – Campus de Itajaí, CTTMar, Caixa Postal 360, CEP 88302-202, Itajaí, SC, fone (47) 33417949, email: [gzaffari@epagri.sc.gov.br](mailto:gzaffari@epagri.sc.gov.br); email: [stuker@epagri.sc.gov.br](mailto:stuker@epagri.sc.gov.br); <sup>3</sup>Professor Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Centro de Ciências Agrárias (UFSC), Laboratório de Fisiologia de Desenvolvimento e Genética Vegetal, Rua Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, fone (48) 37275333, email: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

As plantas apresentam alta plasticidade de adaptação nos diferentes ambientes em resposta às mudanças nas condições nutricionais, especialmente associadas ao carbono e nitrogênio. Em sistemas *in vitro*, esta plasticidade do metabolismo é particularmente importante para reduzir o estresse hídrico das plântulas na fase de aclimatização e envolve uma sinalização entre raiz e parte aérea. O presente trabalho teve como objetivo estudar o metabolismo fisiológico de plântulas de *Agave attenuata* Salmy-Dyck na fase de pré-aclimatização e aclimatização, cultivadas em meio de cultura MS 50% e 100% com diferentes concentrações de sacarose (0, 1 e 2%), determinando o conteúdo de carboidratos solúveis, amidos e fenóis totais. A micropropagação das plântulas na fase de pré-aclimatização *in vitro* em meio de cultura MS com 50% promoveu um acúmulo de carboidratos solúveis totais, induzindo uma inibição do crescimento e um menor desenvolvimento morfo-fisiológico. Os resultados demonstraram que, tanto na fase *in vitro* quanto na fase da aclimatização, as plântulas provenientes do meio MS a 50% foram influenciadas negativamente pela redução nutricional, apresentando concentração elevada de açúcares solúveis totais e amido quando comparadas com aquelas oriundas do meio MS a 100%. Plântulas micropropagadas em meio de cultura MS com 100% suplementado com 2% sacarose mostraram uma adequada mobilização de carboidratos solúveis, amidos e fenóis totais para o metabolismo do carbono e nitrogênio, melhorando desempenho fisiológico das plântulas de *Agave attenuata* Salmy-Dyck. Os resultados sugerem que a concentração de sacarose 2% no meio MS 100% maximiza a eficiência fotoquímica resultando no desenvolvimento de plântulas com uma adequada regulação metabólica.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Agave attenuata*; nutrientes; carboidratos solúveis; amido; fenóis totais.



## Influência da composição do meio de cultura na pré-aclimatização e aclimatização de propágulos de *Agave attenuata* Salmy-Dyck.

Elaine Buch Sezerino<sup>1</sup>; Gilmar Roberto Zaffari<sup>2</sup>; Henri Stuker<sup>2</sup>; Miguel Pedro Guerra<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Centro de Ciências Agrárias (UFSC), Rua Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, fone (48) 37275333, email: [ellainebuch@yahoo.com.br](mailto:ellainebuch@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisador da Estação Experimental de Itajaí (Epagri), Laboratório de Biotecnologia, Caixa Postal 277, Rodovia Antonio Heil, Km 06, Itaipava, Caixa Postal 277, CEP 88301-970, Itajaí, SC, fone (47) 33415244, Professor da Universidade do Vale do Itajaí – Campus de Itajaí, CTTMar, Caixa Postal 360, CEP 88302-202, Itajaí, SC, fone (47) 33417949, email: [gzaffari@epagri.sc.gov.br](mailto:gzaffari@epagri.sc.gov.br); email: [stuker@epagri.sc.gov.br](mailto:stuker@epagri.sc.gov.br); <sup>3</sup>Professor Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Centro de Ciências Agrárias (UFSC), Laboratório de Fisiologia de Desenvolvimento e Genética Vegetal, Rua Admar Gonzaga 1346, Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, fone (48) 37275333, email: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

*Agave attenuata* Salmy-Dyck é uma planta ornamental originária do México, de grande uso ornamental em canteiros e jardins, havendo uma grande demanda de mudas no mercado, por parte dos produtores envolvidos na sua comercialização. A produção de mudas desta espécie é realizada por meio de propagação assexuada, com a utilização de brotos. Entretanto, esta técnica apresenta uma série de desvantagens, tendo em vista que sua propagação é lenta e de uma difícil adaptação climática. Técnicas de micropropagação permitem a captura de ganhos genéticos e a obtenção rápida de um grande número de mudas com alta sanidade e em menor tempo. A cultura *in vitro* desta espécie utiliza o meio de cultura MS Murashige & Skoog (1962), suplementado com vários outros componentes. A composição do meio de cultura, principalmente as fontes e concentrações de nitrogênio e carbono afetam às respostas morfogênicas obtidas. Assim, no presente trabalho estudou-se os efeitos do meio de cultura MS a 50 e 100% e de diferentes concentrações de sacarose (0, 1 e 2%) sobre a dinâmica do crescimento dos propágulos desta espécie nas fases de pré-aclimatização, visando aumentar as taxas de sobrevivência na fase de aclimatização. As fases *in vitro* e *ex vitro* foram influenciadas negativamente pela ausência de sacarose nos meios MS a 50% e 100% para a altura, massa fresca e seca como também para taxa de sobrevivência e enraizamento. Assim, *Agave attenuata* Salmy-Dyck mostra-se dependente da sacarose no meio de cultura para maximizar o desenvolvimento e a sobrevivência durante as fases da aclimatização. Os melhores resultados foram obtidos em resposta ao meio MS a 100% suplementado com 2% de sacarose. A análise das características de altura, produção de biomassa (massa fresca e seca), taxa de sobrevivência e enraizamento mostraram que os propágulos de *Agave attenuata* Salmy-Dyck foram dependentes das concentrações de nutrientes inorgânicos do meio MS e das concentrações de sacarose.

### PALAVRAS-CHAVES

*Agave attenuata*; nutrientes; dinâmica de crescimento; matéria seca; enraizamento.

## Embriogênese somática indireta em explantes foliares de café Conilon.

Medeiros, Emmanuel Cabral<sup>1</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>2</sup>; Willadino, Lilia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduando de Engenharia Agrônômica - UFRPE; Bolsista PIBIC/CNPq/UFRPE. Rua D, Manuel de Medeiros, S/N. Recife-PE. CEP: 52171900. Fone (81) 3320-6364/6366, e-mail: [emmanuel.agro@bol.com.br](mailto:emmanuel.agro@bol.com.br); <sup>2</sup>Professora do Depto de Química -(UFRPE), e-mail: [tkrcamara@pq.cnpq.br](mailto:tkrcamara@pq.cnpq.br). <sup>3</sup>Professora do Depto de Biologia UFRPE, e-mail: [lilia@pq.cnpq.br](mailto:lilia@pq.cnpq.br).

### INTRODUÇÃO

O café é o segundo maior gerador de riquezas do planeta. O Brasil possui uma área plantada de 2,7 milhões de hectares, com aproximadamente seis bilhões de pés de café. O setor é responsável pela geração de sete milhões de empregos e por uma riqueza anual de cerca de quatro bilhões de dólares. A espécie *Coffea canephora* Pierre Ex-Froehner responde por 27,7% dos dois milhões de toneladas de grãos beneficiados na safra de 2005 (Embrapa Café, 2007). Essa espécie é cultivada em altitudes inferiores a 500 metros e sua principal variedade é conhecida como Conilon. O cultivo do café Conilon na Zona da Mata de Pernambuco traduz-se em importante contribuição sócio-econômica para o estado uma vez que a colheita dessa variedade coincide com a entressafra da cana-de-açúcar.

*C. canephora* apresenta auto-incompatibilidade e é estritamente alógama. A reprodução por sementes leva à formação de lavouras muito heterogêneas com plantas expressando características muito distintas quanto à arquitetura, vigor, uniformidade de maturação dos frutos, etc (Montagnon et al., 1998a; 1998b).

O melhoramento genético dessa espécie compreende uma etapa sexuada que consiste na seleção fenotípica de indivíduos em campos com população heterogênea; e outra vegetativa, que consiste na clonagem dos genótipos selecionados. A clonagem por estaquia só é feita com ramos ortotrópicos, o que limita a disponibilidade de estacas e danifica a arquitetura da planta. Atualmente, a cultura de tecidos é uma etapa requerida na cultura do café para a propagação de genótipos, para a produção e seleção de novos somaclones e para a transformação genética. A embriogênese somática é um método de regenerar plantas de café, mas seu êxito depende de diversas condições como, estado fisiológico, tipo de explante, tempo de subcultivo e genótipo (Maciel et al., 2003; Brito, 2004).

A partir de genótipo de *C. canephora* selecionado na Zona da Mata de Pernambuco, foram realizados ajustes de protocolo para embriogênese somática.

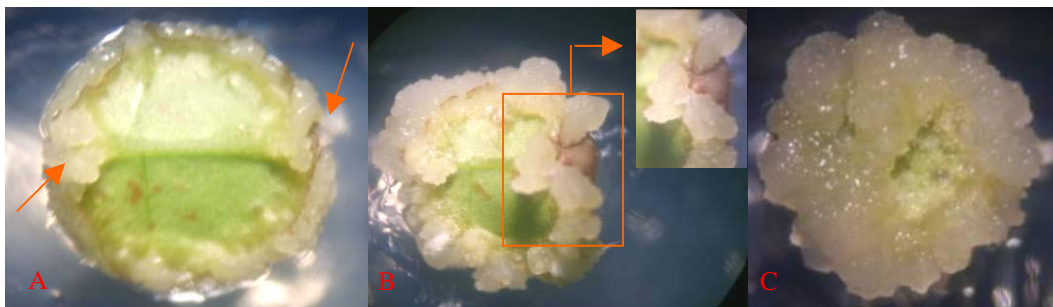
### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE. Foi utilizada a planta UFRPE-08 selecionada em cafezal mantido no campus da UFRPE em Recife. Foram retiradas folhas da segunda axila do terceiro ramo plagiotrópico, com comprimento médio de 9,0 cm, segundo metodologia de Brito (2004). As folhas foram levadas para o laboratório, lavadas com detergente neutro e enxaguadas em água corrente durante 60 minutos. Após a lavagem, foram submetidas à assepsia, em câmara de fluxo laminar, colocadas em frascos de vidro previamente autoclavados e imersas em solução comercial de hipoclorito de sódio (2,0-2,5% de cloro ativo), por 30 minutos sob agitação. Em seguida, as folhas foram enxaguadas por quatro vezes com água destilada esterilizada, durante dois, três, quatro e cinco minutos cada enxágüe. Discos com 0,7 cm de diâmetro foram retirados com auxílio de instrumento perfurador. Cada disco era composto de limbo foliar e parte de nervura secundária. Os explantes foram inoculados com a face adaxial em contato com o meio de cultura (30 mL), em frascos com capacidade para 270 mL e 8 cm de diâmetro, fechados com filme plástico. O meio de indução de calo (meios M1) consistiu do meio basal MS (Murashig & Skoog, 1962) suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 0,037 g.L<sup>-1</sup> de cisteína, e gelificado com 2,4 g.L<sup>-1</sup> de Phytigel. Os tratamentos consistiram de combinações entre 6-benzilaminopurina (BAP: 0,5; 1,0 e 1,5 µM) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D: 2,0 e 4,0 µM), num fatorial 3x2 (B0,5D2; B1D2; B1,5D2; B0,5D4; B1D4; B1,5D4) e 10 repetições, com cinco explantes por frasco. Avaliaram-se os índices de

formação de calos e de oxidação dos explantes. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento, à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  em ausência de luz. Após quatro semanas nos meios M1, os calos formados nos tratamentos com  $2,0 \mu\text{M}$  de 2,4-D foram separados dos explantes e transferidos para meios de indução de embriões somáticos (meios M2). Os calos dos tratamentos com  $4,0 \mu\text{M}$  de 2,4-D foram transferidos juntamente com o explante, uma vez que durante a manipulação os calos se desestruturavam. Os meios M2 consistiram do meio M1, com modificações nas combinações de BAP e 2,4-D. Ao acaso, metade dos frascos de cada tratamento teve os calos transferidos para meios com as concentrações de BAP quadruplicadas e as de 2,4-D reduzidas a  $\frac{1}{4}$  da original (B2D0,5; B4D0,5; B6D0,5; B2D1; B4D1; B6D1). A outra metade dos calos foi transferida para meios sem alteração na concentração de BAP e com supressão do 2,4-D (B0,5D0; B1D0; B1,5D0; B0,5D0; B1D0; B1,5D0). Após a transferência, os calos foram mantidos nas condições descritas anteriormente. Foi avaliada a formação de calo secundário embriogênico e de regiões embriogênicas. A partir do surgimento dos embriões somáticos, os calos foram transferidos para meio de conversão de embriões, que consistiu do meio MS completo sem reguladores de crescimento e transferidos para luz branca fria a  $47,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , com fotoperíodo de 16 horas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos seis tratamentos utilizados para indução de calogênese (meios M1), todos proporcionaram a formação de calo em todos os explantes (Figura 1), por volta da primeira semana após a inoculação, não havendo oxidação em nenhum explante.



**Figura1:** Calos formados em explantes foliares de *C. canephora*. (A) A calogênese ocorreu nas bordas do explante, com destaque para a região da nervura (setas), a partir do 7<sup>o</sup> dia após a inoculação nos meios de indução de calo. (B) Explantes após quatro semanas de incubação em meios de indução de calos: tratamentos com  $2,0 \mu\text{M}$  de 2,4-D, destacando formações globulares na superfície dos calos; (C) tratamentos com  $4,0 \mu\text{M}$  de 2,4-D, calos com aspecto aquoso característico de hiperhidricidade.

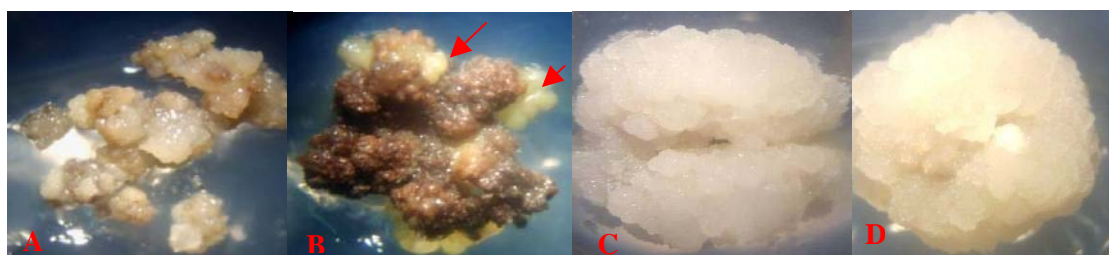
O aspecto dos calos variou em função da concentração de 2,4-D. Observaram-se calos de textura mais densa e coloração mais amarelada, com formações globulares na superfície, nos tratamentos com  $2,0 \mu\text{M}$  de 2,4-D, independente da concentração de BAP. Resposta semelhante foi observada por Sanson (2006), que obteve calos amarelos friáveis em *C. canephora* e *C. arabica* em meio de cultura primário contendo  $2,25 \mu\text{M}$  de 2,4-D.

Os calos formados nos tratamentos com  $4,0 \mu\text{M}$  de 2,4-D apresentavam aspecto aquoso e translúcido característico de hiperhidricidade (Figura 1C). Esse aspecto reflete a deficiência de clorofila e o elevado conteúdo de água, localizado principalmente no apoplasto (Franck *et al.*, 2001). A hiperhidricidade é uma anomalia típica do cultivo *in vitro* de tecidos vegetais e que embora possa ocorrer reversão do estado de hiperhidratação, após transferência para meio ou ambiente não vitrificante (Kevers *et al.*, 2004), também pode evoluir e levar à perda de competência dos tecidos (Camara & Willadino, 2005). A hiperhidricidade se constitui numa síndrome desencadeada pelo desequilíbrio dos componentes do meio de cultura, em especial dos reguladores de crescimento (Joyce *et al.*, 2003). O aumento da concentração do 2,4-D de  $2,0$  para  $4,0 \mu\text{M}$  pode ter disparado o

processo de hiperidratação nesses calos. A hiperidricidade dos calos não reverteu com a redução da concentração da auxina, mesmo após 10 semanas de cultivo (Figura 2C e 2D).

Na oitava semana após a inoculação nos meios M2, ocorreu oxidação generalizada dos calos primários provenientes dos meios com 2,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D. Observou-se a formação de calo secundário sobre o tecido oxidado dos calos subcultivados nos tratamentos B2D0,5; B4D0,5 e B6D0,5 (Figura 2B). Essa formação de calos secundários também foi constatada por Brito (2004), que observou que os primeiros calos surgidos dos explantes de *C. canephora* adquiriam coloração marron-escura e produziam calos secundários embriogênicos. A oxidação pode ter sido resultante de uma condição estressante capaz de provocar a rediferenciação celular necessária à formação de um calo secundário e desenvolvimento de embriões somáticos. No entanto, essas regiões oxidaram sem qualquer desenvolvimento posterior, talvez por não ter sido suprimido completamente o 2,4-D.

Nos tratamentos B0,5D0; B1,0D0 e B1,5D0 vindos dos meios com 2,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D, a oxidação permaneceu até a 19ª semana após a inoculação, quando surgiram regiões embriogênicas brancas e embriões somáticos. Embriões de formato globular, torpedo, cordiforme e cotiledonar, formaram-se tanto nas extremidades como acima dos calos primários, formados em meio M1 com 1,5  $\mu\text{M}$  de BAP e 2,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D. Essa diferenciação se deu 15 semanas após o subcultivo para meio M2 com 1,5  $\mu\text{M}$  de BAP. Os calos adquiriram um aspecto friável e as estruturas eram facilmente destacáveis (Figura 2E e 2F). Baixas concentrações de citocininas são necessárias para embriogênese somática na maioria das culturas de células de dicotiledôneas e após a iniciação, a auxina, em particular o 2,4-D, inibe o desenvolvimento subsequente dos embriões (Guerra et al. 1999). A transferência para meio MS sem fitorreguladores promoveu o desenvolvimento de embriões e a conversão em plantas (Figura 4), como sugerido por Brito (2004).



**Figura 2:** Calos formados em discos foliares de *C. canephora*. (A) Calo após a 4ª semana, em meio MS com 1,0  $\mu\text{M}$  de BAP e 2,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D (B1D2,); (B) Calos secundários (setas) formados sobre calos primários oxidados, provenientes do meio B1D2, na 10ª semana em meio MS com 4,0  $\mu\text{M}$  de BAP e 0,5  $\mu\text{M}$  de 2,4-D; (C) Calos formados em explantes incubados por quatro semanas em meio MS com 1,0  $\mu\text{M}$  de BAP e 4,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D; (D) Calos do tratamento B1D4, na 10ª semana em meio MS com 4,0  $\mu\text{M}$  de BAP e 1,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D (figuras com aumento de 30x).



**Figura 4:** (A) Embriões formados após 15 semanas no meio MS com 1,5  $\mu\text{M}$  de BAP sobre calos primários provenientes do meio MS com 1,5  $\mu\text{M}$  de BAP e 2,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D (aumento de 40x). (B) Conversão de embriões somáticos de *C. canephora* em meio MS sem reguladores de crescimento (aumento de 30x).



## CONCLUSÃO

A concentração de 4,0  $\mu\text{M}$  de 2,4-D em meio MS inibe a formação de calos com regiões embriogênicas e favorece a hiperhidricidade em discos foliares de *C. canephora* incubados no escuro. O meio mais promissor para indução de calo secundário e de embriões somáticos é o meio MS com 1,5  $\mu\text{M}$  de BAP isento de 2,4-D. A conversão dos embriões se dá com a supressão dos reguladores de crescimento e transferência para luz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, J. Z. **Indução e expressão da embriogênese somática em *Coffea canephora* Pierre Ex Fröhner: Aspectos histológicos do desenvolvimento**. 2004. 66p. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

CAMARA, T. R., WILLADINO L. Compreendendo o stresse abiótico *in vitro*. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**, Recife, v.1, n.29, p.325-335, 2005.

EMBRAPA CAFÉ. **Histórico**. Disponível em <http://www22.sede.embrapa.br/cafe/unidade/historico.htm>. Acesso em 05/01/2007.

FRANCK T., GASPAR T., KEVERS C., PENEL C., DOMMES J., HAUSMAN J. F. Are hyperhydric shoots of *Prunus avium* L. Energy deficient? **Plant Science**, n. 160, p.1145-1151, 2001.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. T.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. V2. Brasília/DF. Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq. 1999. p. 533-568.

JOICE S. M., CASSELLS A. C., JAIN S. M. Stress and aberrant phenotypes in *in vitro* culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, n.74, p.103-121, 2003.

KEVERS C., FRANCK T., STRASSER R. J., DOMMES J., GASPAR T. Hyperhydricity of micropropagated shoots: at typically stress-induced change of physiological state, **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, n.77, p.181-191, 2004.

MACIEL, A.L.R.; PASQUAL, M; PEREIRA, A.R.; REZENDE, J.C.; SILVA, A.B.; DUTRA, L.F. Embriogênese somática indireta em explantes foliares de *Coffea arabica* L. cv. Oboatã. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, 27(1):107-116. 2003.

MONTAGNON, C., LEROY, T.; ESKEs, A B. Amélioration Variétale de *Coffea canephora* I. Critères Et Méthodes de Sélection. **Plantations, Recherche, Développement**, 5(1):18-33. 1998a.

MONTAGNON, C., LEROY, T.; ESKEs, A.B. Amélioration Variétale de *Coffea canephora* li. Les Programmes de Sélection et Leurs Résultats. **Plantations, Recherche, Développement**, 5(2):89-98. 1998b.

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

SANSON, N. P.; et al,. Effect of primary medium composition on high frequency somatic embryogenesis in different *Coffea* species. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, n.86, p. 37-45, 2006.

PALAVAS CHAVE: *Coffea canephora*; 2,4-D; BAP; Cultivo *in vitro*; Biotecnologia.<sup>1</sup>

Grato ao BNB pelo financiamento do projeto e ao PIBIC/CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa.

## **Avaliação de diferentes meios nutritivos para a germinação assimbiótica de *Cattleya labiata*.**

Melo, Gemima Manço de<sup>1</sup>; Paulino, Patrícia Maria de Souza<sup>1</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>2</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>3</sup>; Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de<sup>4</sup>; Willadino, Lilia<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6364, email: [gemimamelo81@yahoo.com.br](mailto:gemimamelo81@yahoo.com.br); [patriciaaaso\\_1@hotmail.com](mailto:patriciaaaso_1@hotmail.com); <sup>2</sup>Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE), Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, Pernambuco, fone (87) 3761-0969, email: [claudia@nlink.com.br](mailto:claudia@nlink.com.br); <sup>3</sup>Professora do Departamento de Química – Área Química Agrícola (UFRPE), email: [tkrcamara@bol.com.br](mailto:tkrcamara@bol.com.br); <sup>4</sup>Professora do Departamento de Ciências Biológicas (UERN), Rua Professor Antonio Campos, s/n, BR 110 Km 46, CEP 59600-000, Mossoró, Rio Grande do Norte, fone (81) 3315-2231, email: [cynthiaca@uol.com.br](mailto:cynthiaca@uol.com.br); <sup>5</sup>Professora do Departamento de Biologia – Área de Botânica (UFRPE), email: [lilia@truenet.com.br](mailto:lilia@truenet.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

Pertencente a família Orchidaceae, as orquídeas apresentam flores belas com cores e formatos variados. O número total de espécies oscila em torno de 35.000, espalhadas pelos quatro cantos do mundo (Watanab, 2002).

As orquídeas apresentam um grande potencial para utilização na floricultura tanto como plantas de vaso como flores de corte, na composição de arranjos florais e buquês de noivas (Lorenzi & Souza, 1996). O gênero *Cattleya* possui cerca de 70 espécies, sendo uma das orquídeas mais populares (Watanab, 2002).

Em seu hábitat natural, as sementes de orquídea germinam através de uma relação simbiótica com fungos micorrizicos, os quais fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimento da plântula, até que ela possa fotossintetizar (Stancanto *et al*, 2001). Já na cultura assimbiótica, as sementes são cultivadas *in vitro*, em meio nutritivo que também fornece os nutrientes essenciais para que ocorra o desenvolvimento da plântula.

De acordo com Knudson (1922), é possível germinar sementes de orquídeas, em um meio simples com minerais e açúcares, sem necessitar da presença do fungo, porém nem sempre é possível fazer um meio em que uma determinada espécie de orquídea germine e se desenvolva (Pierik, 1990). Considerando-se as diferentes exigências de cada espécie, estão sendo testados nesse trabalho, os meios MS (Murashige & Skoog, 1962), e o meio Knudson “C” modificado (Arditti & Ernst, 1993).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a germinação *in vitro* de *Cattleya labiata*, cultivada em diferentes meios nutritivos, a fim de determinar o meio mais adequado para o desenvolvimento da espécie.

### **METODOLOGIA**

No Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE, uma cápsula de *Cattleya labiata* proveniente do assentamento Mochila no município de Garanhuns – PE foi lavada com detergente comercial neutro e água corrente. Em câmara de fluxo laminar, a cápsula ficou imersa durante 1 minuto em álcool 70% e 30 minutos em solução de hipoclorito de cálcio 3% contendo 3 gotas de tween 20%, posteriormente foram realizadas três lavagens com água destilada esterilizada, com o intuito de retirar o excesso de agentes desinfestantes. Após a assepsia, a cápsula foi aberta, sendo as sementes retiradas com auxílio de pinça e bisturi e colocadas em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, contendo uma pastilha de formol (formaldeído 99,9%), onde receberam desinfestação gasosa durante 60 minutos. Em seguida foram pesadas e inoculadas em frascos de vidro de 250 mL, contendo 40 mL de meio nutritivo, recebendo os seguintes tratamentos: T0 – Meio MS com metade da força iônica (½ MS); T1 – Meio MS; T2 – Meio ½ Knudson; T3 – Meio Knudson. Antes da desinfestação gasosa, algumas sementes foram separadas para realização do teste com cloreto de tetrazólio, para verificação da viabilidade das sementes. Nele as sementes foram embebidas durante 24 horas em água e colocadas em cloreto de tetrazólio 1% durante 24

horas em temperatura ambiente. O pH do meio foi ajustado a 5,8 antes da adição de 6,5 g.L<sup>-1</sup> de agar e da autoclavagem a 121° C, por 20 minutos. Os explantes permaneceram em sala de crescimento com temperatura de 25± 2°C, sob fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 50µmol. m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizado-se quatro tratamentos com dez repetições. A unidade experimental constou de 8 mg de sementes de orquídea por frasco.

Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação, porcentagem de contaminação e formação de plântulas.

Os resultados obtidos da porcentagem de germinação foram normatizados pela transformação  $\arcsen \sqrt{\frac{x}{100}}$  e submetidos à análise de variância, sendo as médias

comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

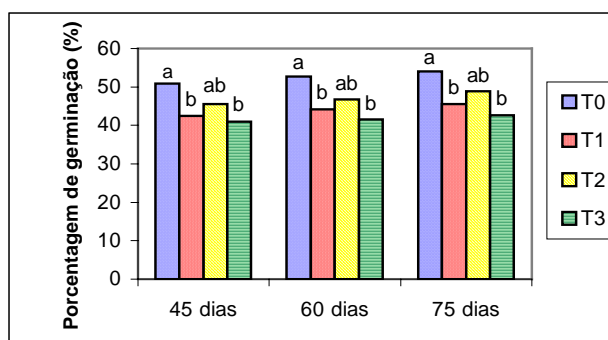
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 15 dias notou-se que todas as repetições de todos os tratamentos apresentavam uma discreta coloração esverdeada, demonstrando intumescimento do embrião, isto é, o embrião iniciava o seu primeiro estágio de desenvolvimento.

Aos 30 dias observou-se em todos os tratamentos a formação de esférulas e algumas sementes também já formavam corpos de protocormos, o que demonstra a saída do embrião da testa.

Durante 75 dias de cultivo o meio MS com metade da força iônica (½ MS) estimulou a germinação das sementes de *Cattleya labiata*, apresentando este uma maior taxa de germinação, quando comparado aos outros meios. Isso pôde ser observado durante o período de avaliação da porcentagem de germinação que decorreu aos 45, 60 e 75 dias de cultivo (Figura 1).

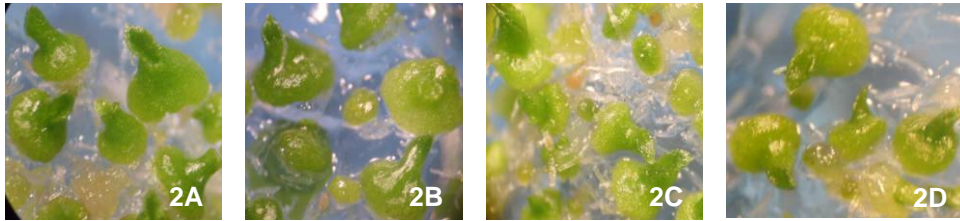
Martini (1999) relatou que sementes de *Gongora quinquenervis* Ruiz & Pavón com até 15 dias de cultivo em meio Knudson apresentaram desenvolvimento similar àquelas cultivadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), porém deste período em diante, seguiu-se um rápido declínio da cultura em meio Knudson, caracterizado pela total necrose dos embriões aos 22 dias de cultivo.



Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

**Figura 1** – Porcentagem de germinação de sementes de *Cattleya labiata*, durante 75 dias nos seguintes tratamentos: T0 – Meio ½ MS; T1 – Meio MS; T2 – Meio ½ Knudson; T3 – Meio Knudson.

Devido à boa germinação que o meio ½ MS proporcionou as sementes de *Cattleya labiata*, observou-se que estas apresentaram protocormos mais desenvolvidos que os cultivados nos outros meios (Figura 2). Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), juntamente com suas modificações e diluições têm apresentado bons resultados para diversas espécies.



**Figura 2** – Protocormos de *Cattleya labiata* aos 60 dias de cultivo: (2A) Meio  $\frac{1}{2}$  MS; (2B) Meio MS; (2C) Meio  $\frac{1}{2}$  Knudson; (2D) Meio Knudson. Aumento 45x.

Foi observado aos 90 dias de cultivo o início da conversão dos protocormos em plântulas, apresentando parte aérea e formação das primeiras raízes no meio  $\frac{1}{2}$  MS. Aos 105 dias notou-se que os protocormos cultivados em meio MS apresentavam-se intumescidos já no meio  $\frac{1}{2}$  MS, estes apresentavam parte aérea e suas primeiras raízes (Figura 3). Provavelmente isso ocorreu devido à menor concentração de nutrientes do meio  $\frac{1}{2}$  MS o qual favoreceu, ou induziu o desenvolvimento das raízes, que por sua vez aumentam a superfície de absorção de nutrientes do meio de cultivo.



**Figura 3** – Plântulas de *Cattleya labiata* aos 105 dias de cultivo: (3A) Meio  $\frac{1}{2}$  MS (Aumento 10x); (3B) Meio MS (Aumento 15x); (3C) Meio  $\frac{1}{2}$  Knudson (Aumento 10x); (3D) Meio Knudson (Aumento 15x).

As sementes de *Cattleya labiata* cultivadas em meio  $\frac{1}{2}$  Knudson e Knudson apresentaram formação de protocormos após 30 dias de cultivo *in vitro*, porém estes se mostraram menores que os desenvolvidos no meio  $\frac{1}{2}$  MS. De acordo com Faria & Stancato (1998), sementes de orquídea cultivadas em meio Knudson apresentam formação de protocormos e desenvolvimento de plantas após um período de dois a três meses de cultivo.

A taxa de contaminação foi de 7,5%, essa taxa relativamente baixa se deve ao fato de que as sementes foram provenientes de uma cápsula fechada, e, portanto encontravam-se em local geralmente estéril, segundo Pierik (1990).

Quanto ao teste com cloreto de tetrazólio, este mostrou que aproximadamente 30 % das sementes eram inviáveis, apesar de serem novas e estarem bem condicionadas dentro da cápsula.

## CONCLUSÃO

O meio MS com metade da força iônica ( $\frac{1}{2}$  MS) mostrou-se superior ao meio Knudson durante a germinação das sementes de *Cattleya labiata*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley e Sons, 1993. 682p.



FARIA, R. T. de; STANCATO, G. C.; Orquídea – sementeira. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. 72p. (Boletim técnico, 174).

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.

KNUDSON, L. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. **Bot. Gaz**, v. 73, n.1, p. 01-25, 1922.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. 2001. v. 3. 1088p.

MARTINI, P. C. **Germinação e organogênese indireta em sementes maduras de *Gongora quinquenervis* Ruiz e Pavón – ORCHIDACEAE, sob a influência de distintas concentrações de 6-Benzilaminopurina (BAP) e diferentes meios nutritivos**. 1999. 60f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

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

PIERIK, R. L. M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores**. Madrid: Mundi-prensa, 1990, p. 149-167.

STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7 n. 1, p. 25-33, 2001.

WATANABE, D. **Orquídeas: manual de cultivo**: 506 fotos de espécies. 2. ed. São Paulo: AOSP, 2002. 296p.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Cattleya labiata*; Orchidaceae; Knudson; cultivo *in vitro*.

#### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela Bolsa de Iniciação Científica.

## **Estudos do controle da oxidação e da contaminação visando o estabelecimento da cultura *in vitro* de *Mezilaurus navalium* (Allemão) Taub. ex Mez (Lauraceae).**

De Castro, Carlos Renato Nogueira<sup>1</sup>; Ribeiro, Ivan Gonçalves<sup>2</sup>; Callado, Cátia Henriques<sup>3</sup>; Albarello, Norma<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Aluno de Graduação, <sup>2</sup>Aluno de Mestrado, <sup>3</sup>Professor Adjunto - Departamento de Biologia Vegetal - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rua São Francisco Xavier, 524, CEP.20.550-013, Rio de Janeiro, RJ, (21) 2587-7361, email: [labplan\\_uerj@yahoo.com.br](mailto:labplan_uerj@yahoo.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

*Mezilaurus navalium*, conhecida como “tapinhoã”, é uma espécie da família Lauraceae, endêmica da costa brasileira e seriamente ameaçada de extinção. Nas décadas passadas, sofreu intensa exploração, sobretudo pela madeira resistente que confere à espécie grande importância econômica. Além da indústria naval, foi muito utilizada em construções pesadas e móveis, substituindo o carvalho europeu (Rizzini & Mors, 1976; Werff, 1978; Corrêa, 1984).

Atualmente, poucos exemplares de *M. navalium* são encontrados e, freqüentemente, são atacados por insetos, principalmente os frutos que apresentam grande quantidade de óleo e facilmente se oxidam. Além disso, as sementes apresentam baixa viabilidade devido a dificuldades fisiológicas, o que compromete as taxas de germinação, agravando a situação dessa espécie, considerada em processo de extinção (Secretaria Municipal do Meio Ambiente, 2000).

Tendo em vista as dificuldades de propagação e a restrita ocorrência de *M. navalium*, os métodos de cultura de tecidos vegetais constituem uma importante alternativa para a sua conservação. Entretanto, o estabelecimento da cultura *in vitro* de espécies arbóreas apresenta inúmeras dificuldades, dentre as quais, a intensa contaminação dos tecidos por fungos e bactérias, sobretudo quando as plantas sob condições de campo representam a única fonte de obtenção do material botânico (Grattapaglia & Machado, 1998; Sato et al., 2001). Adicionalmente, a propagação *in vitro* em espécies de Lauraceae tem apresentado dificuldades com relação ao potencial morfogênico devido ao alto índice de oxidação dos tecidos (Fior et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo definir protocolos de desinfestação e controle da oxidação de explantes de um exemplar arbóreo de *M. navalium*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O material botânico (galhos com folhas) foi coletado na Reserva Biológica do Tinguá (Nova Iguaçu - RJ), a partir de um exemplar arbóreo (planta matriz) com aproximadamente 30 metros de altura. Folhas e caules foram utilizados como explantes iniciais e submetidos aos tratamentos de descontaminação e controle da oxidação no Laboratório de Biotecnologia de Plantas (LABPLAN), da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Diferentes tratamentos de descontaminação foram aplicados a cada tipo de explante. As folhas foram expostas ao detergente Fisiohex II<sup>®</sup> e lavadas com água destilada esterilizada. A seguir, grupos de 15 explantes foliares foram submetidos a 25 tratamentos com as seguintes substâncias: hipoclorito de sódio comercial; álcool 70%; peróxido de hidrogênio; Hidroazul<sup>®</sup> (tricloro-S-triazina triona); Benlate 500<sup>®</sup> (2- benzimidazolecarbamato).

Após os tratamentos, as folhas foram lavadas e seccionadas com separação parcial do pecíolo e da lâmina foliar. Os explantes foliares (pecíolo isolado ou com a base foliar) foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio MS (Murashinge & Skoog, 1962) sem reguladores de crescimento e solidificado com agar a 0,8% (Merck).

Os caules foram seccionados em segmentos de 15 cm e lavados com detergente Fisiohex II<sup>®</sup>, com posterior imersão em hipoclorito a 2% acrescido de Tween 80 (0,05% v/v),

durante 40 minutos. A seguir, os segmentos caulinares foram lavados com água estéril por três vezes, durante cinco minutos cada.

Após a lavagem, os segmentos caulinares foram flambados até o escurecimento da parte externa, sendo então utilizados para obtenção de fragmentos internos ao órgão (0,7-1,0cm), excluindo o tecido de revestimento. Estes fragmentos foram utilizados como explantes para iniciar as culturas em meios sólido e líquido. Antes da inoculação, os explantes foram imersos em uma solução antioxidante (Kowalski & van Staden, 2001) contendo ácido ascórbico ( $500\text{mg.L}^{-1}$ ) e ácido cítrico ( $250\text{mg.L}^{-1}$ ), durante 10 minutos.

Para o controle da oxidação em meio sólido, foram utilizados os meios básicos MS  $\frac{1}{4}$  e WPM (Lloyd & McCown, 1980) destituído de ferro e cobre (Kowalski & van Staden, 2001). Ambos os meios foram suplementados com PVP (polivinilpirrolidona), ácido cítrico, ácido ascórbico ou L-cisteína. Os explantes foram inoculados em frascos de 4,5 cm x 4,5 cm contendo 10 mL de meio.

Na cultura líquida, foi utilizado o meio WPM destituído de ferro e cobre suplementado com  $750\text{mg.L}^{-1}$  ou  $1000\text{mg.L}^{-1}$  de ácido ascórbico. Os explantes foram pré-tratados em solução antioxidante (Kowalski & van Staden, 2001) contendo ácido ascórbico ( $500\text{mg.L}^{-1}$ ) e ácido cítrico ( $250\text{mg.L}^{-1}$ ), durante 10 minutos e inoculados em frascos do tipo erlenmeyer (125 mL) sob agitação (100 rpm). Todas as culturas foram incubadas a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , em ausência de luz e avaliadas sob luz verde.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A descontaminação de explantes foliares não apresentou resultados satisfatórios (Tabela 1), provavelmente devido ao fato da única fonte de material botânico serem indivíduos adultos crescidos e mantidos sob condições de campo, em área florestal fechada. Espécies florestais nativas usualmente apresentam elevada concentração de microorganismos (Sato et al., 2001). Apesar da contaminação não ter sido controlada, os melhores resultados foram obtidos com o pré-tratamento utilizando Benlate por 24h, sobretudo quando a substância foi associada ao hipoclorito e álcool 70, nos maiores tempos (T21-T25). A partir desses resultados, novos experimentos deverão ser conduzidos testando a inclusão do Benlate no meio de cultura. Sato et al. (2001) encontraram efeitos antioxidante e fungicida com a suplementação de Benlate ao meio de cultura visando à micropropagação de *Celtis* sp.. Os autores verificaram que na concentração de  $200\text{mg.L}^{-1}$ , o uso de Benlate inibiu o crescimento de fungos não causando toxidez aos tecidos.

Para os explantes caulinares, o tratamento empregado mostrou-se eficiente apresentando 80-90% dos explantes livres de contaminação, tanto na cultura em meio sólido quanto em meio líquido. A técnica utilizada da flambagem tem sido recomendada em casos de materiais resistentes ou explantes que se encontram protegidos, após a imersão na solução desinfestante (Gratapaglia & Machado, 1998).

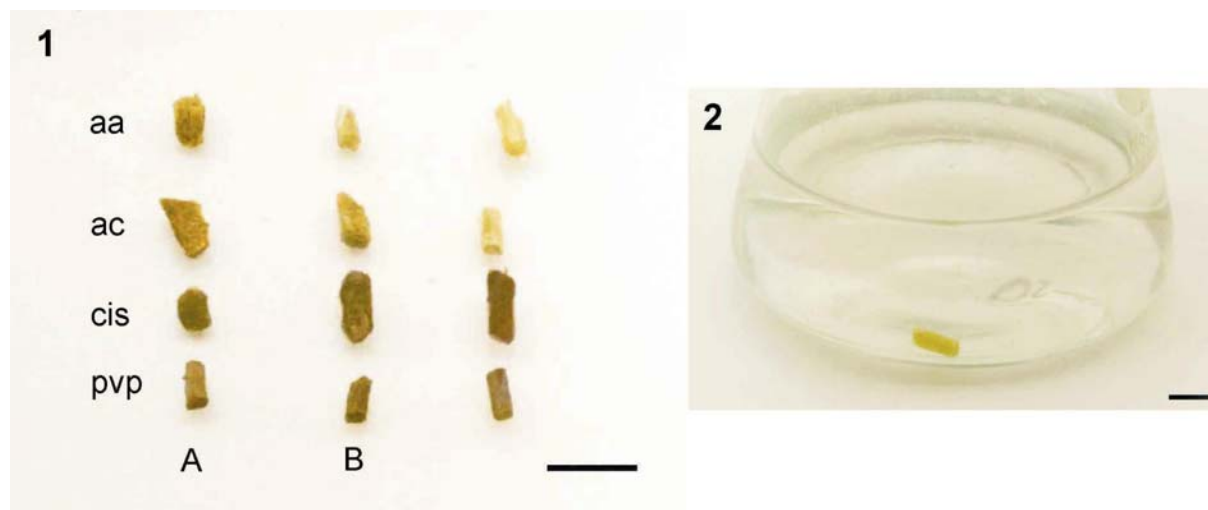
Em relação à oxidação, o melhor tratamento em meio sólido consistiu da adição de ácido cítrico ou ácido ascórbico (Figura 1) nas mais altas concentrações (Tabela 2). Porém, as culturas mantidas em meio líquido WPM sem adição de ferro e cobre apresentaram os melhores resultados, indicando a maior eficiência desse sistema pela associação de fatores com ação antioxidante, tais como a maior exposição dos tecidos à alta concentração da substância antioxidante, o reduzido contato dos explantes com o oxigênio e a ausência de ferro e cobre na composição do meio (Figura 2). O uso do meio WPM destituído de ferro e cobre mostrou resultados positivos no controle da oxidação no cultivo *in vitro* das espécies arbóreas *Ocotea bullata* e *Warburgia salutaris* (Kowalski & van Staden, 2001), principalmente com a adição de ácido cítrico. O tratamento com carvão ativado, usualmente recomendado para trabalhos desta natureza, não propiciou resultados satisfatórios para estas espécies. No estudo em pauta, a adição de carvão ativado também não foi eficaz no controle da oxidação *in vitro* de *M. navalium* (Ribeiro, I. G., comunicação pessoal), além de comprometer a visualização do material contaminado. A ausência dos metais foi outro fator positivo nos protocolos utilizados no presente trabalho, considerando a possível atuação do ferro e do cobre na liberação e oxidação de compostos fenólicos, conforme mencionado por Kowalski & van Staden (2001).

A descontaminação e o controle da oxidação são etapas imprescindíveis e limitantes na iniciação das culturas vegetais sob condições *in vitro*. Espécies lenhosas, em particular, apresentam muitas dificuldades no estabelecimento destas etapas, sobretudo quando ocorrem em regiões com alta umidade, que favorecem a multiplicação de fungos. Além disso, estas plantas apresentam altas taxas de oxidação, particularmente as espécies tropicais que possuem concentrações elevadas de compostos fenólicos. Quando as células são lesadas, essas substâncias são oxidadas, causando escurecimento e comprometimento no crescimento do tecido (George, 1993). Outro fator que contribui para dificultar o estabelecimento da cultura é a idade das plantas utilizadas como doadoras de explantes, devido ao alto nível de diferenciação de seus tecidos. Fior *et al.* (2007) reportam o maior potencial morfogênico encontrado nos tecidos juvenis de *Persea wildenovii*, uma espécie da família Lauraceae, quando comparado aos experimentos onde tecidos maduros foram testados, além destes também apresentarem altas taxas de contaminação e oxidação.

Tabela 1. Explantes foliares de *Mezilaurus navalium* submetidos a diferentes tratamentos de descontaminação.

Tratamento	Tempo de exposição (min)					Contaminação (%)		
	Hidroazul 2%	NaOCl 2%	Etanol 70%	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Benlate	CF	CB	TC
T1	10	-	-	-	-	86,7	6,7	93,4
T2	20	-	-	-	-	86,7	0	86,7
T3	30	-	-	-	-	60	0	60,0
T4	-	15	-	-	-	100	0	100,0
T5	-	30	-	-	-	100	0	100,0
T6	-	45	-	-	-	100	0	100,0
T7	-	30	1	-	-	86,7	6,7	93,4
T8	-	30	2	-	-	73,3	6,7	80,0
T9	-	30	3	-	-	86,7	0	86,7
T10	-	30	4	-	-	93,4	0	93,4
T11	-	30	5	-	-	93,4	0	93,4
T12	-	40	10	-	-	86,7	6,7	93,4
T13	-	40	-	5	-	93,4	0	93,4
T14	-	40	-	10	-	80,0	13,3	93,3
T15	-	-	10	10	-	86,7	13,3	100
T16	-	40	10	5	-	100	0	100
T17	-	-	10	-	10	86,7	13,3	100
T18	-	-	-	10	10	80	13,3	93,3
T19	-	30	-	-	10	86,7	6,7	93,4
T20	-	30	10	10	10	93,4	0	93,4
T21	-	40	5	-	*	40	46,7	86,7
T22	-	40	10	-	*	53,3	26,7	80,0
T23	-	30	5	-	*	66,7	26,7	93,4
T24	-	30	10	-	*	33,4	33,4	66,8
T25	-	50	10	-	*	73,4	0	73,4

CF = contaminação por fungo; CB = contaminação por bactéria; TC = total de explantes contaminados; \* Explante mantido por 24 h.



Explantes caulinares de *Mezilaurus navalium* submetidos a diferentes tratamentos visando o controle da oxidação: Figura 1 - Segmentos inoculados em meio MS 1/4 suplementado com ácido ascórbico (aa), ácido cítrico (ac), L-cisteína (cis) e PVP nas concentrações de 250 (A), 500 (B) e 750 (C) mg.L<sup>-1</sup>. Barra: 1,1 cm. Figura 2 - Explante em meio líquido WPM sem ferro e cobre, suplementado com 1000 mg.L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico. Barra: 0,6 cm.

Tabela 2. Avaliação do grau de oxidação dos explantes caulinares de *Mezilaurus navalium* em meio sólido suplementado com diferentes substâncias (mg.L<sup>-1</sup>) com efeito antioxidante.

Tratamento	Meio	PVP	Ácido Cítrico	Ácido Ascórbico	L-Cisteína	G.O.
T1	MS0	-	200	-	-	4
T2	MS 1/4	250	-	-	-	4
T3	MS 1/4	500	-	-	-	4
T4	MS 1/4	750	-	-	-	4
T5	MS 1/4	1000	-	-	-	3
T6	MS 1/4	-	-	250	-	3
T7	MS 1/4	-	-	500	-	2
T8	MS 1/4	-	-	750	-	2
T9	MS 1/4	-	250	-	-	3
T10	MS 1/4	-	500	-	-	3
T11	MS 1/4	-	750	-	-	2
T12	MS 1/4	-	-	-	250	4
T13	MS 1/4	-	-	-	500	4
T14	MS 1/4	-	-	-	750	4
T15	MS 1/4	-	500	250	-	2
T16	MS 1/4	-	250	500	-	2
T17	MS 1/4	-	500	500	-	2
T18	MS 1/4	-	250	750	-	2
T19	WPM*	-	-	100	-	2
T20	WPM*	-	-	250	-	1
T21	WPM*	-	-	500	-	1

G.O.= grau de oxidação: 1- leve; 2- moderado; 3- intenso; 4- muito intenso.

WPM\* = meio básico WPM destituído de ferro e cobre.

## CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram-se promissores no estabelecimento de um protocolo de descontaminação e controle da oxidação de explantes caulinares de um exemplar adulto de *M. navalium*. Novos experimentos estão sendo conduzidos com o objetivo de otimizar os protocolos utilizados e avaliar o potencial morfogênico deste material visando à multiplicação e conservação *in vitro* de *M. navalium*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. 1984.

FIOR, C. S.; Rodrigues, L. R.; Nilson, A. D.; Leonhardt, C. Aspectos da Propagação de *Persea Willdenovii* Kosterm. **Rodriguésia**, v.58, n.1, p.27-44, 2007.

GEORGE, E.F. **Plant Propagation by Tissue Culture**. 2 ed. England: Exergetic Ltda. 690p, 1993.

GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. (Org). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. 1.ed. Brasília: SPI, v.1, p. 183-260, 1998.

KOWALSKI, B. & van STADEN, J. *In vitro* culture of two threatened South African medicinal trees - *Ocotea bullata* and *Warburgia salutaris*. **Plant Growth Regul.** v. 34, p. 223-228, 2001.

LLOYD, G., MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Comb. Proc. Intern. Plant Propag. Soc.**, v.30, p.421-427, 1981.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** n.1, p.437-496, 1962.

RIZZINI, C.T.; MORS, W.D. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo. EPU, Ed. da Universidade de São Paulo. 207p. 1976.

SATO, A. Y., DIAS, H. C. T., ANDRADE, L. A., SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v.7, n.2, p.117-123, 2001.

SECRETARIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE. **Espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro: Flora e Fauna**, p.65, 2000.

WERFF, H. A. Revision of *Mezilaurus* (Lauraceae). **Ann. Missouri Bot. Gard.** v.74, p.153-182, 1987.

## PALAVRAS-CHAVES

*Mezilaurus navalium*; descontaminação; antioxidantes; lenhosas; cultura *in vitro*.

## **Avaliação do potencial para a produção de brotos de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae) a partir de plantas germinadas e propagadas *in vitro*.**

Sá, Analu Fonseca<sup>1</sup>; Castro, Tatiana Carvalho<sup>2</sup>; Simões, Claudia<sup>3</sup>; De Castro, Carlos Nogueira<sup>1</sup>; Albarello, Norma<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Aluno de Graduação, <sup>2</sup>Técnico em Biotecnologia, <sup>3</sup>Biólogo, <sup>4</sup>Professor Adjunto - Laboratório de Biotecnologia de Plantas (LABPLAN) - Departamento de Biologia Vegetal - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rua São Francisco Xavier, 524, CEP.20.550-013, RJ, (21) 2587-7361, email: [labplan\\_uerj@yahoo.com.br](mailto:labplan_uerj@yahoo.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

*Norantea brasiliensis* Choisy é uma espécie típica das regiões de restinga e de vegetação costeira, com ampla ocorrência desde o nordeste até o sul do Brasil, sendo bastante representativa no estado do Rio de Janeiro. É conhecida popularmente como rabo-de-arara, chinelo-de-anjo, pente-de-macaco e agarrapé. Suas flores possuem coloração vinácea e nectários são encontrados na base do pedúnculo floral, constituindo uma unidade de atração para polinizadores. A floração é anual e intensa, com frutificação de setembro a maio. O fruto é globoso, contendo sementes de forma semilunar e coloração negra (Ferreira, 1995; Pinheiro *et al.*, 1995; Zamith e Scarano, 2004).

Por apresentar inflorescências vistosas e coloridas, a espécie vem sofrendo extrativismo, principalmente com propósito paisagístico, encontrando-se na lista de espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro (Secretaria Municipal do Meio Ambiente, 2000). Além disto, alguns aspectos de sua fenologia como floração anual e a baixa produção de sementes por fruto, nem sempre viáveis (Pinheiro *et al.*, 1995; Ferreira, 1995), também comprometem a manutenção da espécie em seu ambiente natural.

A cultura de tecidos vegetais tem sido amplamente utilizada como importante estratégia de conservação. Dessa forma, estudos sobre a micropropagação de *N. brasiliensis* são relevantes, viabilizando a produção de mudas homogêneas e de qualidade. Adicionalmente, estudos *in vitro* da espécie podem ser de interesse para investigar a produção de metabólitos secundários que tenham importância econômica e/ou terapêutica.

O presente trabalho objetivou avaliar o potencial para a produção de brotos *in vitro* de *N. brasiliensis* considerando duas diferentes fontes de explantes, o balanço hormonal endógeno de cada material e a ausência de agentes gelificantes no meio de cultura.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia de Plantas (LABPLAN/UERJ).

Foram utilizadas plantas oriundas de propagação e germinação sob condições *in vitro*, mantidas como estoque há cerca de dois anos em meio básico B5 (Gamborg *et al.*, 1968), isento de reguladores de crescimento (B50) e solidificado com agar 0,8% (Merck). O material foi subcultivado a cada 60 dias para meio fresco de mesma composição e mantido em sala de crescimento a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16h.

As plantas subcultivadas tiveram suas raízes excisadas e apresentavam cerca de 2 cm de altura, 4-5 nós e até 2 folhas. A inoculação foi feita em 30 mL de meio líquido B50, sem agitação ou suportes para sustentação.

Após dois meses de cultura, foram selecionadas aleatoriamente 40 plantas de cada origem para análise da frequência de formação, número médio e o tamanho médio dos brotos neoformados. Foram utilizadas 20 repetições com 2 plantas para cada origem avaliada.

Raízes pigmentadas desenvolvidas a partir das plantas produtoras de brotos foram maceradas em metanol acidificado (HCl 1%) e deixadas a  $4^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após 24 horas, o



sobrenadante foi recolhido, centrifugado a 1000 rpm (10 minutos) e submetido à varredura em espectrofotômetro (200-800 nm).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, sendo cada bloco representado por uma repetição. Foram considerados como tratamentos as diferentes origens (plantas germinadas e plantas propagadas *in vitro*). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ). Utilizou-se o programa estatístico MSTATC.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas obtidas por germinação apresentaram desenvolvimento das gemas axilares em brotos (Figura 1) a partir do 15º dia de cultura. Eventualmente, estes brotos foram capazes de desenvolver novos brotos. Nas plantas micropropagadas, só foi observado o desenvolvimento de brotos axilares após 30 dias de cultivo.

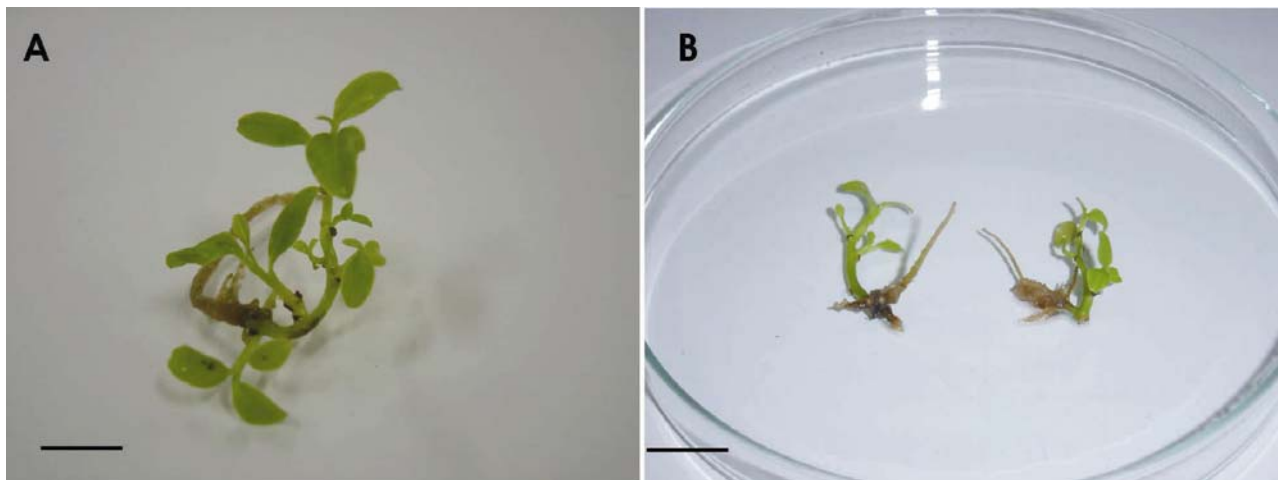


Figura 1. Brotos desenvolvidos em meio líquido B50 a partir de plantas oriundas de germinação *in vitro* (A) e micropropagação (B), após 60 dias. Barra: A = 2,0cm; B = 1,5cm.

Com relação à frequência de desenvolvimento dos brotos axilares, as plantas oriundas de germinação *in vitro* apresentaram valores numericamente maiores, apesar de não ter havido diferença significativa entre as médias das duas origens (Tabela 1). Estas plantas, além de produzirem maior número de brotos, apresentaram taxa de alongamento e rizogênese na metade do tempo (15 dias) quando comparadas àquelas propagadas *in vitro*. As melhores respostas para produção de brotos encontradas nas plantas germinadas podem ser decorrentes de características mantidas no material, devido à manutenção da integridade de mecanismos genéticos e fisiológicos, com reflexos no balanço hormonal endógeno dessas plantas. As plantas provenientes de cultivo *in vitro*, devido à via de regeneração que envolve a desdiferenciação, são mais suscetíveis a variações (Scowcroft, 1984). Tais resultados sugerem que o desenvolvimento de brotos a partir de plantas germinadas é um processo dependente das características genéticas preservadas e que também está relacionado à concentração dos hormônios endógenos. Estudos preliminares sobre a propagação *in vitro* da espécie (Borges *et al.*, 2005) mostraram a regeneração a partir de segmentos nodais de plantas micropropagadas com média de 1,0 broto por explante, após 60 dias de cultivo em meio B5 sólido suplementado com  $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP. Os autores obtiveram média de 3,5 brotos por explante após 210 dias de cultivo. No presente estudo, este valor foi alcançado a partir de plantas germinadas em meio livre de reguladores de crescimento e de agentes gelificantes, após 60 dias de cultivo, confirmando a hipótese de que as plantas micropropagadas não são a fonte com o melhor potencial para a produção de brotos da espécie.



Tabela 1. Freqüência de formação, número e tamanho médio dos brotos de *Norantea brasiliensis* produzidos a partir de plantas oriundas de germinação e de propagação *in vitro*.

Origem	Freqüência de formação (%)	Número médio de brotos	Tamanho médio dos brotos (cm)
Germinada	37,50 a	3,52±2,00 a	0,71±0,36
Micropropagada	27,50 a	2,45±0,93 b	1,02±0,66

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey.

O cultivo de plantas de *N. brasiliensis* em meio líquido para avaliação do potencial de produção *in vitro* mostrou-se promissor. Segundo Torres *et al.* (1998), meios sem a adição de agentes gelificantes possuem vantagens em relação aos meios sólidos, como permitir uma maior homogeneidade dos nutrientes facilitando a absorção dos mesmos e preparo mais rápido e mais econômico. Contudo, para a utilização de meios líquidos, a presença de suportes e a agitação para oxigenação dos explantes são necessárias (Domingues *et al.*, 1995; Torres *et al.*, 1998). No presente estudo, a produção de brotos *in vitro* em meio líquido foi possível sem a necessidade de suportes ou de agitação.

Uma pequena porcentagem de plantas de ambas as origens não desenvolveu suas raízes rapidamente, ficando imersas no meio líquido e apresentando aspecto hiperhídrico. Tal característica pode estar relacionada a respostas fisiológicas alteradas que têm sido reportadas em culturas líquidas (Joyce *et al.*, 2003).

Raízes de plantas provenientes de germinação *in vitro* apresentaram pigmentação violácea nos órgãos de menor diâmetro, a partir de 60 dias de cultura (Figura 2). Os extratos deste material, analisados em espectrofotômetro, registraram pico em torno de 531 nm. Valores compreendidos na faixa de 475 e 560 nm são típicos das antocianinas (Hopkins, 1995), sugerindo ser esta a natureza do pigmento. O estímulo da síntese destas substâncias pode ter ocorrido em função dos estresses sofridos durante os subcultivos. A introdução de um tecido ou órgão vegetal no ambiente *in vitro* é acompanhada de uma série de situações que, em última análise, levam à formação e ao acúmulo de metabólitos secundários que auxiliam na superação da condição de estresse (Gaspar *et al.*, 2002; Sudha & Ravishankar, 2002).

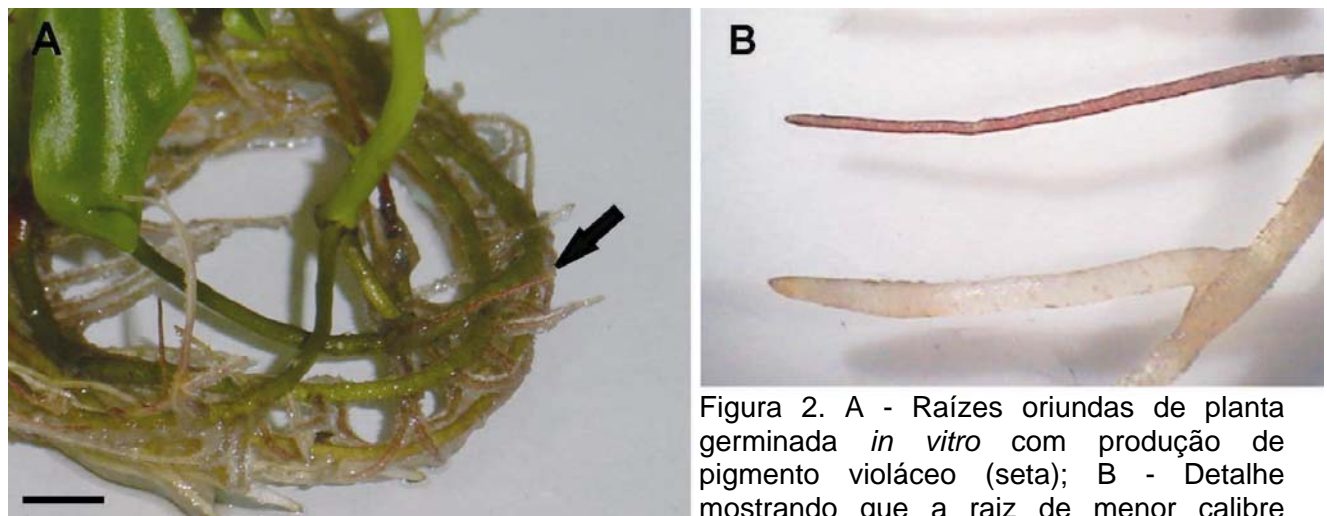


Figura 2. A - Raízes oriundas de planta germinada *in vitro* com produção de pigmento violáceo (seta); B - Detalhe mostrando que a raiz de menor calibre apresenta pigmentação. Barra: A - 0,5 cm; B - aumento 80X.

## CONCLUSÃO

No presente trabalho plantas germinadas *in vitro* mostraram-se como a melhor fonte de explantes para propagação de *N. brasiliensis* em meio líquido B50. A partir destes resultados, novos protocolos serão delineados visando à produção de brotos em meios com suplementação hormonal, sem a adição de agentes gelificantes, além da otimização da produção de pigmentos sob condições *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, D. M. B.; GOMES, D. C. S.; CASTRO, T. C.; ALBARELLO, N.; MANSUR, E. Efeito de BA e ANA sobre a morfogênese *in vitro* de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae). In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2005, Fortaleza - CE. **Revista da Associação Brasileira de Horticultura**. 2005. v. 23, p. 627.
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN, A .N.; MENDES B.M.J. Cultura de ápices caulinares de *Musa* sp, var. maçã: estabelecimento, micropropagação enraizamento *in vitro*. **Revista da Sociedade de Agricultura**. Piracicaba. v. 52, n2, p.387-394, maio /agosto, 1995.
- FERREIRA, G.L. Estudo Taxonômico das Espécies Brasileiras do Gênero *Norantea* Aublet (Marcgraviaceae). **Arq. Jard. Bot. RJ**, v.33, no.2, p.9-53, 1995.
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Exp. Cell Res.**, v 50, p.151-158, 1968.
- GASPAR, T.; FRANCK, T.; BISBIS, B.; KEVERS, C.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J. G.; DOMMES, J. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. **Plant Growth Regul.**, v.37, p.263-285, 2002.
- GEORGE, E.F. **Plant Propagation by Tissue Culture**. 2 ed. England: Exergetic Ltda. 690p, 1993.
- HOPKINS, W. G. Light and pigments: an introduction to photobiology. In: **Introduction to plant physiology**. New York, John Wiley & Sons. P. 125- 144, 1995.
- JOYCE, S.M.; CASSELLS, A.C.; JAIN, S.M. Stress and aberrant phenotypes in *in vitro* culture. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**, v.74, p.103-121. 2003.
- PINHEIRO, M.C.B.; ORMOND, W.T.; LIMA, H.A.; CORREIA, M.C.R. Biologia da Reprodução de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae). **Rev. Brasil. Biol.**, v.55, Supl.1, p.79-88,1995.
- ROCHA, M.E.N. Potencialidades biodinâmicas de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae). Tese Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2002.
- Scowcroft, W. E. **Genetic variability in tissue culture: impact on germplasm conservation and utilization**. Technical Report. Roma: IBPGR, 1984. 41 p.
- Secretaria Municipal do Meio Ambiente. **Espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro: Flora e Fauna**, p.65, 2000.

SUDHA, G.; RAVISHANKAR, G. A. Involvement and interaction of various signaling compounds on the plant metabolic events during defense response, resistances to stress factors, formation of secondary metabolites and their molecular aspects. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**, v.71, n.3, p.181-212, 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; FERREIRA, A.T. **Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas**. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Org.). Cultura de tecidos e Transformação Genética de Plantas. Brasília: SPI, v.1, p.11-19,1998.

PALAVRAS-CHAVE: *Norantea brasiliensis*, micropropagação, cultura líquida, metabólitos secundários

## Efeito do BAP e do GA<sub>3</sub> no desenvolvimento *in vitro* do híbrido *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*.

Paulino, Patricia Maria de Souza<sup>1</sup>; Melo, Gemima Manço de<sup>1</sup>; Souto, Nise de Fátima Coutinho<sup>2</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>3</sup>; Willadino, Lilia<sup>4</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Aluna de Licenciatura em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq; Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Bairro de Dois Irmãos, CEP 55296-190 Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6364, email: [patriciaso\\_1@hotmail.com](mailto:patriciaso_1@hotmail.com); [gemimamelo81@yahoo.com.br](mailto:gemimamelo81@yahoo.com.br). <sup>2</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE), email: [nise\\_souto@hotmail.com](mailto:nise_souto@hotmail.com); <sup>3</sup> Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE), Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, Pernambuco, fone (87) 3761-0969, email: [claudia@nlink.com.br](mailto:claudia@nlink.com.br); <sup>4</sup> Professora do Departamento de Biologia – Área de Botânica (UFRPE), email: [lilia@truenet.com.br](mailto:lilia@truenet.com.br); <sup>5</sup> Professora do Departamento de Química – Área de Química Agrícola (UFRPE), email: [tkrcamara@bol.com.br](mailto:tkrcamara@bol.com.br).

### INTRODUÇÃO

O gênero *Cattleya* é o que mais se destaca no Brasil, na maioria das espécies, tanto pela coloração exuberante como pelo grande tamanho das flores (Palazzo Jr. e Both, 1993). No Brasil cultiva-se *Cattleya* híbridas, porque possuem flores já bem maiores que as das espécies nativas, e com as quais podemos ter flores escalonadas durante todo o ano (Silva, 1986).

As orquídeas são consideradas as mais antigas espécies ornamentais, sendo cultivadas tanto para produção de plantas de corte como de vaso (Sheehn, 1983; Farias & Illg, 1998; Fráguas *et al.*, 2003). No entanto, as plantas dessa família apresentam desenvolvimento muito lento, requerendo um maior período de cultivo antes de serem comercializadas. Isso tem contribuído para o elevado valor unitário de suas plantas no mercado. Assim sendo, existe grande interesse na diminuição do tempo de formação da muda de orquídea, principalmente, para a diminuição dos custos de produção.

A propagação dessa espécie pelo cultivo *in vitro* é uma alternativa para obtenção de um grande número de plantas, em curto espaço de tempo, garantindo uniformidade genética (Dublin, 1984) e qualidade fitossanitária do material. Esse tipo de propagação vem sendo utilizado, principalmente, para espécies de grande valor ornamental (Grattapaglia & Machado, 1998).

Um dos aspectos importantes na multiplicação *in vitro* é o tipo e a concentração do regulador de crescimento, ambos determinantes no sucesso da micropropagação (Grattapaglia & Machado, 1998).

Reguladores de crescimento em diferentes concentrações têm sido usados conforme a espécie. Podem ser necessários para a germinação de sementes, formação de calos, brotações adventícias, enraizamento, entre outros (Grattapaglia & Machado, 1998; Pasqual, 2001).

O regulador de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) é uma citocinina largamente utilizada para estimular a indução de brotos em plantas cultivadas *in vitro*. Para a multiplicação *in vitro* do gênero *Cattleya*, a citocinina BAP, geralmente é utilizada nas concentrações que variam entre 0,05 e 10 mg L<sup>-1</sup> (Carvalho, 2002).

Enquanto que as giberelinas, dentre elas o ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) é um regulador de crescimento que atua nas plantas como estimulante de crescimento, promovendo um aumento de tamanho em consequência de sua ação na divisão e expansão celular. Em muitas espécies, a dominância apical das plantas acentua-se após as aplicações com o ácido giberélico (Cordeiro, 1979; Rossell, 1971; Taiz & Zeiger, 1998).

Um dos maiores entraves no processo de micropropagação de orquídeas está relacionado ao tempo necessário para a produção de mudas a partir de plantas híbridas selecionadas e a utilização do meio adequado para cada espécie. Diante disso, o presente trabalho, objetivou verificar a influência do BAP e do GA<sub>3</sub> no desenvolvimento *in vitro* do híbrido de orquídea *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*.

## METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE. Foi utilizado no experimento, híbrido de orquídeas (*Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*). As plantas, que já se encontravam estabelecidas *in vitro*, foram selecionadas com  $1\text{cm} \pm 0,5$  de comprimento e retiradas as raízes e posteriormente inoculadas. O meio utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de  $0,1\text{ g.L}^{-1}$  de mio-inositol,  $30\text{ g.L}^{-1}$  de sacarose e  $5,8\text{ g.L}^{-1}$  de ágar. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar e, posteriormente, autoclavado a  $120^{\circ}\text{C}$  e  $1,5\text{atm}$  por 20 minutos. Foi adicionado ao meio diferentes concentrações de BAP (0, 1 e  $2\text{ mg.L}^{-1}$ ) combinados com diferentes concentrações  $\text{GA}_3$  (0, 1 e  $2\text{ mg.L}^{-1}$ ) (Tabela 1). Foi distribuído em cada tubo de ensaio 10 mL de meio nutritivo. O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de  $50\text{ }\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com o fatorial de  $3 \times 3$ , num total de nove tratamentos com cinco repetições por tratamento. A cada 20 dias, após a inoculação, foram realizadas as avaliações com relação à contaminação, oxidação, número de brotos e de raízes.

Tabela 1- Tratamentos relacionados com as combinações de BAP e  $\text{GA}_3$  nas respectivas concentrações.

BAP ( $\text{mg.L}^{-1}$ )			
$\text{GA}_3$ ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0	1	2
0	T0	T1	T2
1	T3	T4	T5
2	T6	T7	T8

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

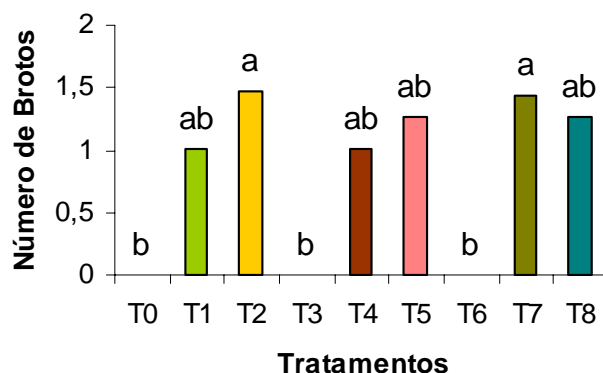
Aos 20 dias após a inoculação, todos os tratamentos apresentavam raízes e os tratamentos acrescidos de  $2,0\text{ mg.L}^{-1}$  de BAP (T2, T5 e T8), independente da concentração de  $\text{GA}_3$ , foram os que apresentavam brotos, entretanto o tratamento T2 se destacou com relação ao número de brotos, comparado com os tratamentos T5 e T8. Aos 40 dias os tratamentos T1, T4 e T7 acrescidos de  $1,0\text{ mg.L}^{-1}$  de BAP mostravam a formação de alguns brotos. Nos tratamentos com ausência de BAP (T0, T3 e T6), independente da combinação com  $\text{GA}_3$  (Figura 1) não formaram brotos, mostrando o efeito do BAP em proporcionar a brotação.

Em relação à altura das plantas foi observado aos 60 dias que as plantas cultivadas nos tratamentos com  $2,0\text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  (T6, T7 e T8), apresentou maior comprimento, independente da presença de BAP. Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o efeito mais conhecido das giberelinas *in vitro* é o alongamento das partes aéreas, esse efeito facilitará a individualização das plantas no transplântio para a aclimatização.

Nos tratamentos que combinavam  $\text{GA}_3$  com BAP (T7 e T8) as plantas além de apresentarem um alongamento da parte aérea, também exibiam brotações. Pasqual *et al*, (1991) também observaram que a adição do  $\text{GA}_3$  ao meio de cultivo, em combinação com

BAP e ANA, resultou num aumento significativo do número de brotos por gema na propagação de amoreira-preta.

As plantas do tratamento T4, aos 60 dias após a inoculação, apresentavam oxidação, necrose foliar e radicular. Decchetti (2000) relatou a ausência de brotações de *Annona glabra* quando cultivadas com GA<sub>3</sub>, além da ocorrência de necrose apical e abscisão foliar.



Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 1: Número de brotos obtidos do híbrido *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*, aos 40 dias de cultivo *in vitro* e submetidos aos seguintes tratamentos: T0= 0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+0 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T1= ; 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+0 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T2= 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+0 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T3= 0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+1 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T4= 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+1 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T5= 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+1 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T6= 0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+2 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T7= 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+2 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>; T8= 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP+2 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>.

## CONCLUSÃO

O Meio MS suplementado com 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP proporcionou maior índice de formação de brotos, enquanto que o maior tamanho foi promovido pela adição de 2 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> no meio em plantas do híbrido *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, V. S. **Morfogêneses in vitro de orquídeas do grupo *Cattleya***. 2002. 179f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CORDEIRO, J. A. D. **Crescimento, diferenciação e produção em plantas de sorgo granífero *Sorghum bicolor* (L.) Moench, tratadas com os ácidos giberélico-3 e a-naftalenoacético**. 1979. 50f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DECCHETTI, S. F. C. **Propagação in vitro de *Annona glabra* L.** 2000. 101f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FARIA, R. T.; ILLG, R. D. Orquídea: *Dendrobium nobile*. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 34-36. (boletim técnico, 174).

FRÁGUAS, C. B.; VILLA, F.; SOUZA, A. V.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, n. 292, p. 719-726, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MARCHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C. *et al.* **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised médium for rapid growth and bio assays with tabaco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PALAZZO JR, J. T.; BOTH, M. C. **Flora ornamental brasileira**: Um guia para o paisagismo ecológico. Porto Alegre: Sacra, 1993, 183p.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais**: meios de cultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 74p.

ROSSELL, C. E. V. Obtenção **de ácido giberélico por fermentação com *Gibberella fujikoro***. 1971. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Tecnologia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1971.

SHEEHAN, T. J. Recent advances in botany, propagation and physiology of orchids. **Horticultural Reviews**, New York, v. 5 n.1, p. 279-315, 1983.

SILVA, W. **Cultivo de orquídeas no Brasil**. São Paulo: Nobel, 1986.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 792p.

#### PALAVRAS-CHAVES

Orchidaceae, regulador de crescimento, cultivo *in vitro*.

## Análise Ultra-estrutural de Calos de Anteras de Ingazeiro

Stein, Vanessa Cristina<sup>1</sup>, Paiva, Renato<sup>2</sup>, Ferreira, Gabriela Nogueira<sup>3</sup>, Emrich, Eduardo Bucsan<sup>4</sup>, Alves, Eduardo<sup>5</sup>, Oliveira, Lenaldo Muniz de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Graduando em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>4</sup>Graduando em Agronomia (UFLA), bolsista CNPQ, e-mail: [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professor adjunto (UFLA), e-mail [ealves@ufla.br](mailto:ealves@ufla.br); <sup>6</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Biológica, Laboratório de Ecologia Evolutiva. Br 116 , Km 03 - Campus Universitário, e-mail: [lenaldo@ufla.br](mailto:lenaldo@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

*Inga vera* Willd., ou ingazeiro, pertencente à família Fabaceae e é uma espécie frutífera e medicinal nativa do cerrado. Seus frutos apresentam polpa branca, levemente fibrosa e rica em sais minerais (Lope, 2006). No entanto, alguns autores afirmam que a viabilidade das suas sementes é extremamente curta, não ultrapassando 15 dias, em condições naturais (Barbedo, 1998).

Neste contexto, o melhoramento genético tem contribuído com a produção de indivíduos superiores e novas variedades, através da recombinação de caracteres selecionados, principalmente para áreas com baixo potencial para reflorestamento (Menck et al., 1990). Portanto, a cultura de anteras e/ou micrósporos tem sido extensivamente empregada na produção de linhagens homocigóticas. Essa técnica envolve o cultivo de anteras, ovários e micrósporos para estimular o desenvolvimento de células gametofíticas haplóides, permitindo a formação de calos ou embriões regeneráveis (Santos, 2003).

Uma série de fatores químicos, físicos e genéticos interagem de forma complexa, influenciando tanto na indução do embrião haplóide como sua diferenciação em plântula (Santos, 2003). Dentre os dos fatores críticos para a indução da androgênese temos o genótipo e as condições fisiológicas da planta doadora, o estágio de desenvolvimento dos micrósporos, o tipo de pré-tratamento aplicado nos botões florais e a composição do meio de cultura (Peters et al., 1998).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar as diferenças ultra-estruturais relacionadas à calogênese de anteras de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a calogênese de anteras, botões florais de ingazeiro foram lavados em água corrente por 20 minutos e, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70%, por 60 segundos e hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo por 15 minutos. Posteriormente, foi realizada a tríplice lavagem em água destilada e autoclavada. As anteras foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com 3% de sacarose, 4,5µM de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético); 0,25% de carvão ativado e 0,9mM de polivinilpirrolidona (PVP).

Todos os meios de cultura utilizados foram solidificados com ágar 0,7% e o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, por 20 minutos. Os explantes foram mantidos no escuro à temperatura de 27 ± 2°C por 45 dias.

Após 45 dias em meio de cultura, os calos de anteras, ovários, folhas e segmentos nodais foram fixados em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%) em tampão cacodilato, pH 7,0] por um período de 2 a 24 horas à temperatura ambiente.

Posteriormente, os calos foram lavados em tampão cacodilato 0,05M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato



0,05M, por 4 horas. Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30, 50, 70 e 90 por 10 minutos). Posteriormente, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30%, por 8 horas, a 70% por 12 horas e duas vezes a 100%, em intervalos de 24 horas. Os tecidos emblocados em resina pura e colocados em estufa a 70°C, por 48 horas, para a polimerização.

Em seguida, foram realizados os cortes em seções semifinas (1µm) e ultrafinas (<100nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung. Os cortes semifinos foram corados com azul de toluidina (1g azul de toluidina, 1g borato de sódio e 100 mL de água purificados por meio de filtro Millipore 0,2µm) e montados permanentemente em meio Permount.

Os cortes ultrafinos foram coletados em uma gota de água com grades Slots e colocados em raques, cobertos com uma película de formvar (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, em seguida por acetato de chumbo, por 3 minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 109 a 80Kv.

Para microscopia eletrônica de varredura as amostras foram também fixadas em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%)] em tampão cacodilato, pH 7,0, por, no mínimo, uma hora, em temperatura ambiente. Posteriormente, os calos foram cortados com bisturi em nitrogênio líquido e os fragmentos lavados três vezes (10 minutos) em tampão cacodilato 0,05M e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M por 1-2 horas. Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30%, 50%, 70% e 90%) por 10 minutos.

Após a desidratação, foi realizada secagem ao ponto crítico, por meio de CO<sub>2</sub> líquido e as amostras metalizadas com ouro. As observações foram realizadas em microscópio eletrônico (LEO Evo 40), operando entre 10 e 20 kV.

## RESULTADOS DE DISCUSSÃO

Na MEV foi verificada a proliferação de células, com formato isodiamétrico (Figura 1c e 1d) em toda a superfície da antera, inclusive na região do conectivo (Figura 1b) e no grão de pólen (Figura 1f).

As células dos calos de anteras, quando observadas em MET, apresentaram núcleos centrais com contorno irregular e formas diversas (Figura 2a). Essa conformação de núcleo também foi observada por Gloria & Machado (2004), em células organogênicas de *Glycine max* (L.) Merr.

Quanto ao citoplasma das células, esse é denso e abundante em retículo endoplasmático (Figura 2b) e mitocôndrias (Figura 2d). Segundo Tomes (1985), os calos embriogênicos, são compostos por células com características meristemáticas, apresentando dimensões relativamente pequenas e citoplasma denso. Foi observada também a presença de complexo de Golgi (Figura 2c), vacúolos com citoplasma denso (Figura 2e) e grande quantidade de grãos de amido (Figura 2f). A presença de grão de amido tem sido reportada como uma mudança ultra-estrutural, comum em células organogênicas e também relacionada com a aquisição do potencial organogênico (Villalobos et al. 1985, Pihakashi-Maunsbach, et al 1993).

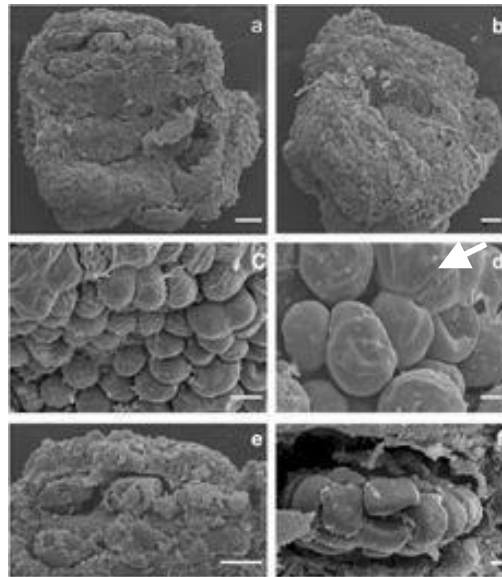


FIGURA 1. Eletromicrografias de varredura de calos de anteras de ingazeiro (a-d). Visão geral dos calos(a); visão geral dos calos na região do conectivo (b); células isodiamétricas dos calos (c,d); calos nos pólenis (e,f). Br = 100 $\mu$ m (a, b, e); 20  $\mu$ m (c); 10  $\mu$ m (d, f). UFLA, Lavras, MG, 2006.

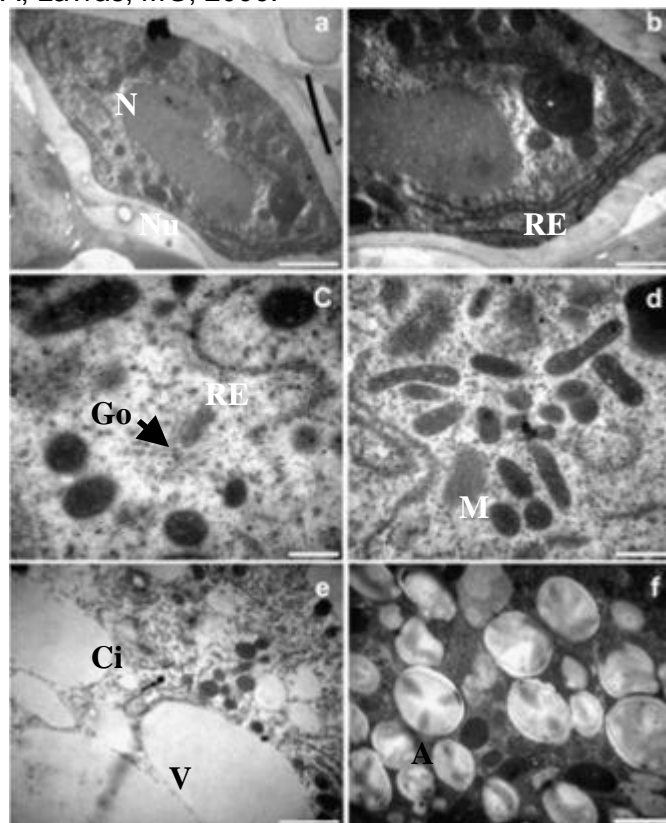


FIGURA 2. Eletromicrografias de transmissão de células dos calos em anteras. Célula do calo de anteras (a); retículo endoplasmático (b); complexo de golgi (c); mitocôndrias (d); vacúolos (e) e grãos de amido (f). Br= 2  $\mu$ m (a, d, e, f); 1  $\mu$ m (b); 500 $\eta$ m (c). UFLA, Lavras, MG, 2006.

#### CONCLUSÃO

Os calos de anteras não apresentaram evidências de formação de embriões somáticos, apesar de suas células apresentarem algumas características embriogênicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LOPE, K. P.; BRUNO, R. DE L. A.; BRUNO, G. B.; MOURA, M. F. **Comportamento de sementes de *Inga sp.* durante o armazenamento.** Disponível em: <[http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvii\\_cbf/fitotecnia/355.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/fitotecnia/355.htm)>. Acesso em: 5 fev. 2006.
- BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingazeiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 249-259, maio/ago. 1998.
- MENCK, A.L.M.; ODA, S.; MARCHI, E.L.; KOVALKI, M.E. Influência de Sistema de Colheita de Botões Florais na Viabilidade de Pólen de *Eucalyptus spp.* **IPEF**, n°43/44, p.20-23, 1999
- MORAES-FERNANDES, M.I.B. Obtenção de plantas haplóides através de cultura de anteras. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: EMBRAPA/ABCTP, 1990. p.311-332.
- SANTOS, E.K. dos. Totipotência Celular e Cultura de Tecidos Vegetais. In: *Genética & Evolução Vegetal*. /organizado por Loreta Brandão de Freitas e Fernanda Bered – Porto Alegre; Editora da UFRGS, 2003.
- PETERS, J. A.; BOBROWSKI, V. L.; ROSINHA, G. M. S. Produção de haplóides e duplo haplóides. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSCO, J. A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. [S.l.: s.n.], 1998. v. 2, p. 569-612.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and biomass with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-92, 1962.
- GLORIA, A. da B.; MACHADO, Silvia R. Ultrastructural analysis of in vitro direct and indirect organogenesis. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 429-437, jul./sept. 2004.
- TOMES, D. T. Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in maize, rice, sorghum and millets. In: BRIGHT, S. W.; JONES, M. G. K. (Ed.) **Advances in agricultural biotechnology, cereal tissue and cell culture**. Boston: Nijhoff/Junk, 1985. p. 175-203.
- CANHOTO, J. M.; LOPES, M. L.; CRUZ, G. S. Somatic embryogenesis in Bay Laurel (*Laurus nobilis*). In: JANI, S. M.; GUPTA, P. K.; NEWTON, R. J. (Ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. v. 4, p. 341-367.
- VILLALOBOS, V. M.; YEUNG, E. C.; THORPE, T. A. . Origin of adventitious shoots in excised radiata pine cotyledons cultured *in vitro*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 63, n. 12, p. 2172-2176, Dec. 1985.
- PIHAKASHI-MAUNSBACH, K.; NYGAARD, K. B.; JENSEN, K. H.; RASMUSSEN, O. Cellular changes in early development of regenerating thin cell layer-explants of rapeseed analysed by light and electron microscopy. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 87, n. 2, p. 167-176, Feb. 1993.
- PALAVRAS-CHAVE: *Inga vera*, anteras, ingá, 2,4-D, calos, microscopia.

## Calogênese em segmentos nodais de ingazeiro – aspectos ultra-estruturais

Vanessa C. Stein<sup>1</sup>, Renato Paiva<sup>2</sup>; Emrich, Eduardo Bucsán<sup>3</sup>; Alves, Eduardo<sup>4</sup>; Oliveira, Lenaldo Muniz de<sup>5</sup>; Lopes, Eloísa Aparecida das Graças Leite<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, bolsista CNPq, e-mail: [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Professor Adjunto (UFLA), Departamento de Fitopatologia, e-mail: [ealves@ufla.br](mailto:ealves@ufla.br); <sup>5</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Ecologia Evolutiva, Br 116, Km 03, Campus Universitário, e-mail: [lenaldo@ufla.br](mailto:lenaldo@ufla.br); <sup>6</sup>Laboratorista do Departamento de Fitopatologia (UFLA).

### INTRODUÇÃO

O ingazeiro (*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.) é uma árvore frutífera adaptada a terrenos úmidos, considerada uma espécie importante para a recomposição de áreas ciliares degradadas. No entanto, o potencial desta espécie para programas de preservação ambiental e sua utilização comercial são prejudicados pela impossibilidade de armazenamento de suas sementes. Assim, as técnicas alternativas de propagação assexuada, como a cultura de tecidos, são ferramentas que possibilitam a obtenção de um número expressivo de mudas de espécies ecológica e comercialmente importantes (Santos *et al.*, 2005).

Devido à totipotência, protocolos para a obtenção de plantas com base em tecidos vegetais têm sido obtidos. Os processos pelos quais os tecidos produzem órgãos vegetais adventícios *in vitro*, podem ocorrer direta (sem a formação de calos) e indiretamente, por meio da formação de calos (Moura *et al.*, 2001).

O calo é uma massa compacta de células desorganizadas e parcialmente indiferenciadas que variam quanto ao tipo, ao tamanho, ao conteúdo celular e à espessura da parede (Narayanaswamy, 1977). Assim, para que os processos de organogênese indireta *in vitro* ocorram, as células devem passar pelos processos de desdiferenciação, aquisição da competência, indução, determinação, diferenciação e formação do órgão.

Portanto o objetivo desse trabalho foi caracterizar as diferenças ultra-estruturais relacionadas à calogênese de segmentos nodais de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.

### MATERIAL E MÉTODOS

Na indução de calos de segmentos nodais, foram utilizadas plantas matrizes jovens de ingazeiro mantidas em sala de crescimento à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura, densidade de fluxo de fótons de  $43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas. Essas plantas foram obtidas do viveiro de mudas das Centrais Elétricas de Minas Gerais (CEMIG), localizado na represa de Camargos, município de Itutinga, MG ( $21^\circ29'15''\text{S} / 44^\circ38'33''\text{O}$ ).

Os segmentos nodais e folhas foram lavados em água corrente por 20 minutos e, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70%, por 60 segundos e hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo por 15 minutos. Posteriormente, foi realizada a tríplex lavagem em água destilada e autoclavada.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com 3% de sacarose e  $4,5 \mu\text{M}$  de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético). O meio de cultura foi solidificado com ágar 0,7% e o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a  $120^\circ\text{C}$ , por 20 minutos. Os explantes foram mantidos no escuro a temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  por 45 dias.

Para microscopia de transmissão, após 45 dias em meio de cultura, os calos foram fixados em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%) em tampão cacodilato, pH 7,0] por um período de 2 a 24 horas à temperatura ambiente.

Posteriormente, os calos foram lavados em tampão cacodilato 0,05M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05M, por 4 horas.

Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30, 50, 70 e 90 por 10 minutos). Posteriormente, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30%, por 8 horas, a 70% por 12 horas e duas vezes a 100%, em intervalos de 24 horas. Os tecidos emblocados em resina pura e colocados em estufa a 70°C, por 48 horas, para a polimerização.

Foram realizados então, cortes em seções semifinas (1µm) e ultrafinas (<100nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung. Os cortes semifinos foram corados com azul de toluidina (1 g de azul de toluidina, 1 g de borato de sódio e 100 mL de água purificada em filtro Millipore 0,2µm) e montados permanentemente em meio Permount.

Os cortes ultrafinos foram coletados em uma gota de água com grades Slots e colocados em raques, cobertos com uma película de formvar (Rowley & Moran, 1975).

As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo, por 3 minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 109 a 80Kv.

Para microscopia de varredura, após 45 dias em meio de cultura, os calos foram também fixados em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%)] em tampão cacodilato, pH 7,0, por, no mínimo, uma hora, em temperatura ambiente.

Posteriormente, os calos foram cortados com bisturi em nitrogênio líquido e os fragmentos lavados três vezes (10 minutos) em tampão cacodilato 0,05M e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M por 1-2 horas. Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30%, 50%, 70% e 90%) por 10 minutos.

Após a desidratação, foi realizada secagem ao ponto crítico, por meio de CO<sub>2</sub> líquido e as amostras metalizadas com ouro. As observações foram realizadas em microscópio eletrônico (LEO Evo 40), operando entre 10 e 20 kV.

## RESULTADOS DE DISCUSSÃO

As superfícies dos calos de segmentos nodais e folhas não apresentaram indícios de formação de embriões. As células na sua maioria apresentaram formato arredondado. No entanto pode-se observar algumas formas alongadas. Segundo Tomes (1985), nos calos embriogênicos, as células possuem características meristemáticas, apresentando dimensões relativamente pequenas e citoplasma denso. (Figura 5).

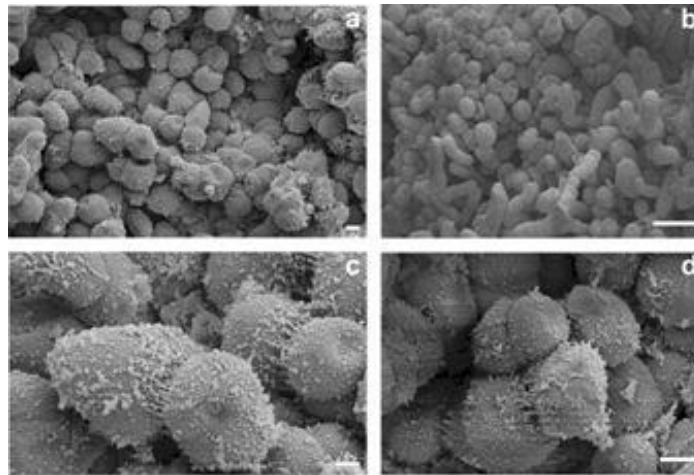


Figura 5. Eletromicrografias de varredura de calos e segmentos nodais de ingazeiro. Aspectos da superfície do calo (a,d); Células em divisão celular (b,c). Br=20μm (a, b), 10 μm (c), 100 μm (d). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Quanto à análise celular foram observadas células com muitos vacúolos (Figura 6d), núcleos com formatos variados (Figura 6a e b) e grande quantidade de mitocôndrias (Figura 6c), em sua maioria com formato alongado. Segundo Canhoto (1996), as células não embriogênicas apresentam mitocôndrias com formato alongado, enquanto que, em células embriogênicas, as mitocôndrias são arredondadas (Figura 6c). Além disso, nas células organogênicas de *Glicine max* (L.) Merr., as mitocôndrias são abundantes, com matriz eletrodensa e cristas bem desenvolvidas. Esse fator tem sido associado também a sistemas embriogênicos, estando relacionado a alta atividade metabólica, pelas altas taxas respiratórias.

No entanto, Skoog e Miller (1957) afirmam que as células não embriogênicas possuem potencial, para desenvolver células meristemáticas e quando em condições satisfatórias, podem dar origem a uma nova planta.

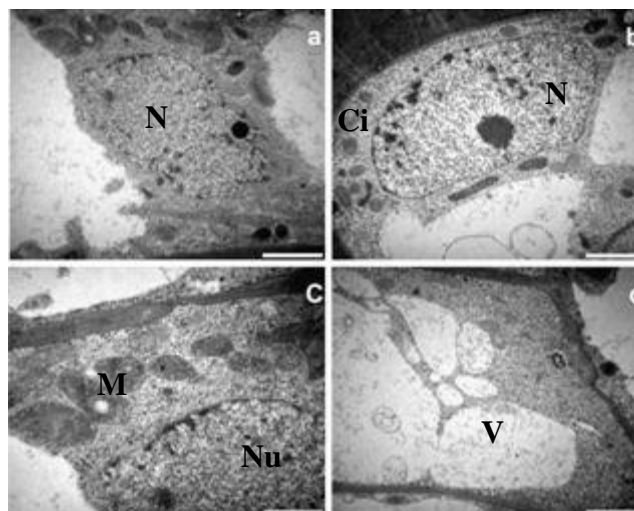


Figura 6. Eletromicrografias de transmissão de células dos calos de segmentos nodais de ingazeiro. Núcleo (a, b); mitocôndrias (c); vacúolo (d). Br= 2μm (a, b, c, d). UFLA, Lavras, MG, 2006.

## CONCLUSÃO

Os calos de folhas e segmentos nodais não apresentaram evidências de formação de embriões somáticos, apesar de suas células apresentarem algumas características embriogênicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CANHOTO, J. M.; LOPES, M. L.; CRUZ, G. S. Somatic embryogenesis in Bay Laurel (*Laurus nobilis*). In: JANI, S. M.; GUPTA, P. K.; NEWTON, R. J. (Ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. v. 4, p. 341-367.

MOURA, T. L. de A.; MENDES, W. A. B. de; JANUZZI, B. M. *et al.* Organogênese *in vitro* de citrus em função de concentrações de bap e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 240-245, ago. 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium from rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum** 15:437-497, 1962.

NARAYANASWAMY, S. Regeneration of plants from tissue cultures. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y. P. S. **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture**. Berlin: Springer-Verlag, 1977. Cap. 10. p. 179-206.

ROWLEY, J. C.; MORAN, D.T. A simple procedure for mounting wrinkle-free sections on formvar-coated slot grids. **Ultramicroscopy**; 1(2):151–155, 1975.

SANTOS, B., R.; PAIVA, R.; MARTINOTTO, C.; NOGUEIRA, R., C.; PAIVA, P., D., DE O. Indução de calos friáveis em explantes foliares de *Salix* (*Salix humboldtiana* Willd). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 510-514, maio/jun. 2005

SKOOG, F.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. **Symposia Society Experimental Biology**, Cambridge, v. 11, p. 118-131

TOMES, D. T. Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in maize, rice, sorghum and millets. In: BRIGHT, S. W.; JONES, M. G. K. (Ed.) **Advances in agricultural biotechnology, cereal tissue and cell culture**. Boston: Nijhoff/Junk, 1985. p. 175-203.

### PALAVRAS-CHAVE:

*Inga vera*, calos, 2,4-D, ingá, MS

## Observação ultra-estrutural de calos de ovários de Ingazeiro

Stein, Vanessa Cristina<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Rodrigues, Marcelo<sup>3</sup>; Emrich, Eduardo Bucsan<sup>4</sup>; Alves, Eduardo<sup>5</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, email: [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br); <sup>2</sup>Professor Adjunto da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Graduando em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista CNPq; <sup>4</sup>Graduando em Agronomia (UFLA), bolsista CNPQ, e-mail [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professor adjunto (UFLA), Departamento de Fitopatologia, e-mail [ealves@ufla.br](mailto:ealves@ufla.br); <sup>6</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológica, Laboratório de Ecologia Evolutiva. Br 116, Km 03 - Campus Universitário e-mail: [lenaldo@ufla.br](mailto:lenaldo@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

O *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn. é uma espécie pioneira, presente em matas ciliares sazonalmente inundadas, apresentando assim, algumas adaptações anatômicas e morfológicas que a fazem suportar a submersão do sistema radicular. No entanto, as sementes de ingazeiro são recalcitrantes e, pela impossibilidade de formação de mudas em épocas distintas das que são produzidas as sementes em seu hábitat, fica inviabilizada a sua inclusão nos programas voltados à recuperação de áreas nativas degradadas (Barbedo, 1997).

O melhoramento genético tem contribuído com a produção de indivíduos superiores e novas variedades, por meio da recombinação de caracteres selecionados, principalmente para áreas com baixo potencial para reflorestamento.

A cultura de ovários é uma técnica realizada com êxito em muitas espécies para a obtenção de embriões somáticos a partir do cultivo de óvulos (Moore, 1985; Gmitter Junior & Moore, 1986). Entretanto, a origem dos óvulos, o estado fisiológico desses e as condições em que eles são expostos são responsáveis por diferenças na resposta embriogênica. Além disso, o alongamento *in vitro* dos embriões e a subsequente aclimatização são processos longos e difíceis (Button & Kochba, 1977), existindo, ainda, expressão de características de juvenildade nas plantas originadas *in vitro*, constituindo importante limitação na propagação (Ollitrault, 1992).

O objetivo deste trabalho foi verificar as características ultra-estruturais de calos de ovários *Inga vera* Will subsp *Affinis* (DC). T.D. Penn..

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a calogênese de ovários os botões florais foram lavados em água corrente por 20 minutos e, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70%, por 60 segundos e hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo por 15 minutos. Posteriormente, foi realizada a tríplex lavagem em água destilada e autoclavada. As anteras foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com 3% de sacarose, 4,5µM de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético); 0,25% de carvão ativado e 0,9mM de polivinilpirrolidona (PVP).

Todos os meios de cultura utilizados foram solidificados com ágar 0,7% e o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, por 20 minutos. Os explantes foram mantidos no escuro à temperatura de 27 ± 2°C por 45 dias.

Após 45 dias em meio de cultura, os calos de anteras, ovários, folhas e segmentos nodais foram fixados em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%) em tampão cacodilato, pH 7,0] por um período de 2 a 24 horas à temperatura ambiente.

Posteriormente, os calos foram lavados em tampão cacodilato 0,05M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05M, por 4 horas. Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30, 50, 70 e 90 por 10 minutos). Posteriormente, o material foi incluído em gradiente



crescente de acetona e resina Spurr 30%, por 8 horas, a 70% por 12 horas e duas vezes a 100%, em intervalos de 24 horas. Os tecidos emblocados em resina pura e colocados em estufa a 70°C, por 48 horas, para a polimerização.

Em seguida, foram realizados os cortes em seções semifinas (1µm) e ultrafinas (<100nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung. Os cortes semifinos foram corados com azul de toluidina (1g azul de toluidina, 1g borato de sódio e 100 mL de água purificados por meio de filtro Millipore 0,2µm) e montados permanentemente em meio Permoult.

Os cortes ultrafinos foram coletados em uma gota de água com grades Slots e colocados em raques, cobertos com uma película de formvar (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, em seguida por acetato de chumbo, por 3 minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 109 a 80Kv.

Para microscopia eletrônica de varredura as amostras foram também fixadas em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%)] em tampão cacodilato, pH 7,0, por, no mínimo, uma hora, em temperatura ambiente. Posteriormente, os calos foram cortados com bisturi em nitrogênio líquido e os fragmentos lavados três vezes (10 minutos) em tampão cacodilato 0,05M e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M por 1 a 2 horas. Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30%, 50%, 70% e 90%) por 10 minutos. Após a desidratação, foi realizada secagem ao ponto crítico, por meio de CO<sub>2</sub> líquido e as amostras metalizadas com ouro. As observações foram realizadas em microscópio eletrônico (LEO Evo 40), operando entre 10 e 20 kV.

## RESULTADOS DE DISCUSSÃO

As superfícies dos calos de ovários apresentaram proliferações celulares bem organizadas, que indicam a formação de pró-embriões somáticos (Figura 1c), pois também observaram-se indícios de sistema vascular organizado (Figura 1d).

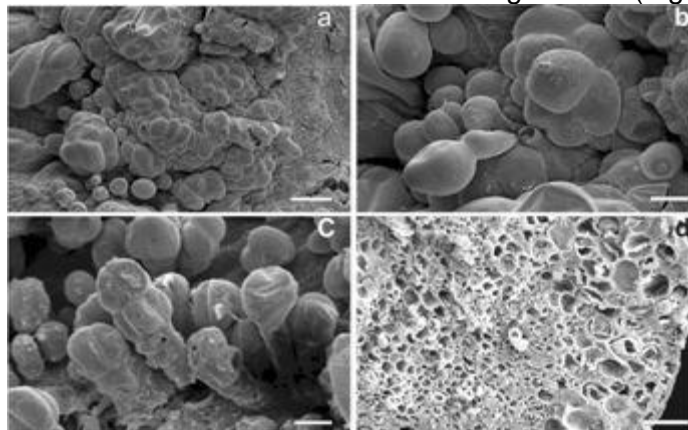


Figura 1. Eletromicrografias de varredura de calos em ovários. Proliferação de células (a); aspectos da superfície do calo (b); início da formação de embriões (c), organização vascular do calo (d). Br=10µm (a); 30µm (b); 20µm (c,d). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Além disso, observaram-se núcleos e organelas, como mitocôndrias e retículo endoplasmático em posição periférica (Figura 2a e b), pois a célula é praticamente toda ocupada por grandes vacúolos (Figura 2c). Como observado por Canhoto et al. (1996), usualmente, as células dos pró-embriões apresentam algumas características observadas em células meristemáticas. No entanto, podem ser tão vacuoladas que mostram apenas um fino citoplasma entre o tonoplasto e a membrana plasmática (Figura 2d).

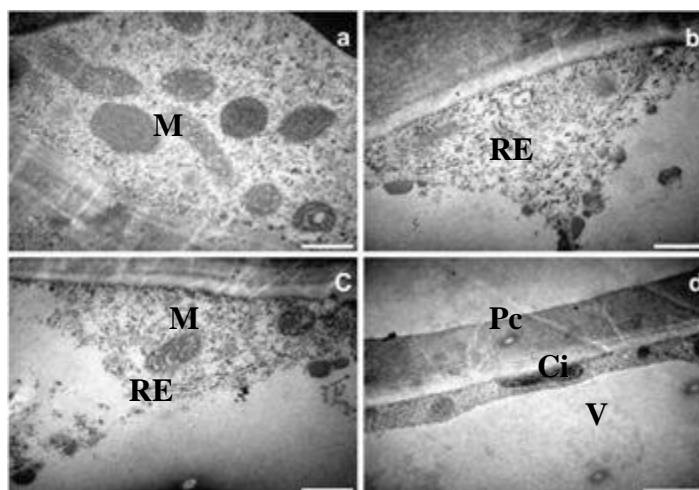


Figura 2. Eletromicrografias de transmissão de células dos calos de ovários. Mitocôndrias (a); retículo endoplasmático (b); mitocôndrias e retículo endoplasmático (c); citoplasma na periferia com mitocôndria. Br=500µm (a,b,c); 1 µm (d). UFLA, Lavras, MG, 2006.

### CONCLUSÃO

Os calos provenientes de culturas de ovários apresentam características ultra-estruturais embriogênicas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingazeiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 249-259, maio/ago. 1998.

MOORE, G. A. Factors affecting *in vitro* embryogenesis from undeveloped ovules of mature *Citrus* fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 1, p. 66-70, Jan. 1985.

GMITTER JUNIOR, F. G.; MOORE, G. A. Plant regeneration from undeveloped ovules and embryogenic calli of *Citrus*: embryo production, germination, and plant survival. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 6, n. 2, p. 139-147, 1986

BUTTON, J.; KOCHBA, J. Tissue culture in the *Citrus* industry. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture**. Berlin: Springer-Verlag, 1977. p. 70-92.

OLLITRAULT, P. Somatic embryo grafting: a promising technique for *Citrus* breeding and propagation. **Fruits**, Montpellier, v. 47, p. 213-218, 1992. Numero special Agrumes.

CANHOTO, J. M.; LOPES, M. L.; CRUZ, G. S. Somatic embryogenesis in Bay Laurel (*Laurus nobilis*). In: JANI, S. M.; GUPTA, P. K.; NEWTON, R. J. (Ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. v. 4, p. 341-367.

Palavras-chaves:

*Inga vera*, ovários, MS, 2,4-D

## **Comparação de fibras foliares de brotações de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Sm) propagadas pelo método convencional e pelo estiolamento *in vitro*.**

Flávia Dionísio Pereira<sup>1</sup>; José Eduardo Brasil P. Pinto<sup>2</sup>; Luciana Domiciano Silva Rosado<sup>3</sup>; Daniel Melo de Castro<sup>2</sup>; Helen Cristina de Arruda Rodrigues; <sup>3</sup>Roseane Rodrigues de Souza<sup>3</sup>; Renake Nogueira Teixeira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Doutora (UEFS), Laboratório de cultura de tecidos da Unidade Experimental Horto Florestal, Universidade Estadual de Feira de Santana, 44031-460, Feira de Santana, BA, fone (75) 3625-2300, email: [flavia1808@hotmail.com](mailto:flavia1808@hotmail.com); <sup>2</sup>Phd (UFLA), DAG, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1330, email: [jeduardo@ufla.br](mailto:jeduardo@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda (UFLA), DAG, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1322.

### **INTRODUÇÃO**

A crescente demanda de fibras do curauá por grupos empresariais o torna uma espécie estratégica, criando perspectivas socioambientais do seu uso. O grande problema é que não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender à indústria automobilística, que pretende substituir a fibra de vidro pelo curauá na fabricação de peças como pára-choque, painel e friso de carros de passeio e de transporte (Ramalho, 2005).

A anatomia interna e a ultra-estrutura das plantas regeneradas *in vitro* são, geralmente, diferentes daquelas crescidas em casa de vegetação ou em campo (Wetzstein & Sommer, 1981). Comparativamente às plantas desenvolvidas *in vivo*, em geral, apresentam-se pouco lignificadas, com células de paredes pouco espessadas, com abundância de espaços intercelulares, sistema vascular pouco desenvolvido e reduzida quantidade de tecidos de sustentação (esclerênquima e colênquima) (Donnelly et al., 1985), sujeitos a desordens morfológicas e fisiológicas (Ziv, 1986).

O objetivo deste trabalho foi comparar as fibras existentes em brotações de curauá cultivadas *in vitro*, pelo método convencional e pelo método de estiolamento.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Tratamento (1): Método convencional de micropropagação

As brotações foram obtidas de gemas axilares provenientes de plantas matrizes. As gemas axilares foram excisadas e inoculadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) líquido sem regulador de crescimento. As brotações permaneceram por 60 dias incubadas em sala de crescimento. Quando as brotações atingiram comprimento médio de aproximadamente 10cm, foram retiradas para as análises anatômicas.

Tratamento (2): Método de estiolamento

Utilizaram-se explantes de curauá preestabelecidas *in vitro* que estavam inoculadas em meio MS sem regulador de crescimento. Selecionaram-se os explantes e os brotos obtidos destas foram desfolhados completamente. Estes brotos foram cultivados em meio MS sólido, com 50mL de meio suplementado com 1,86mg/L de ANA. Mantidos em sala de crescimento as brotações foram incubados no escuro. Após 40 dias, removeram-se o ápice e o sistema radicular dos brotos estiolados, que foram colocados horizontalmente em frascos com meio MS líquido sob agitação de 85rpm em mesa agitadora orbital. Os brotos estiolados foram mantidos em sala de crescimento. Aos 60 dias, as brotações já estavam

bem formadas e, assim que atingiram comprimento médio de aproximadamente 10cm, foram também retiradas para as análises anatômicas.

Estudos anatômicos: Cortes transversais

Foram retiradas amostras da porção mediana do limbo de folhas provenientes dos tratamentos descritos anteriormente. As folhas foram, colocadas para fixação em F.A.A (50%) durante 120 horas sendo posteriormente conservadas em álcool etílico 70%. Os cortes transversais com espessura de 12 $\mu$ m, foram realizados em micrótomo rotativo automático e distendidos em lâminas de vidro.

As lâminas contendo os cortes de curauá foram coradas com azul de toluidina por 15 segundos. O excesso do corante foi retirado com água, sendo, depois, utilizado Permunt para montar as lâminas permanentes.

Determinação das variáveis

Foram realizadas as contagens dos feixes de fibras em toda a extensão da folha, sendo contados os feixes de fibras associadas às nervuras (FAN) e fibras não associadas às nervuras (FNAN). Também foi medido o diâmetro das (FAN) e das (FNAN), tomando-se como base os sete primeiros feixes ao lado da nervura mediana. Utilizando-se cinco cortes por repetição, sendo dois tratamentos com quatro repetições. Os valores foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade. O programa utilizado para análise dos dados foi o software SISVAR (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

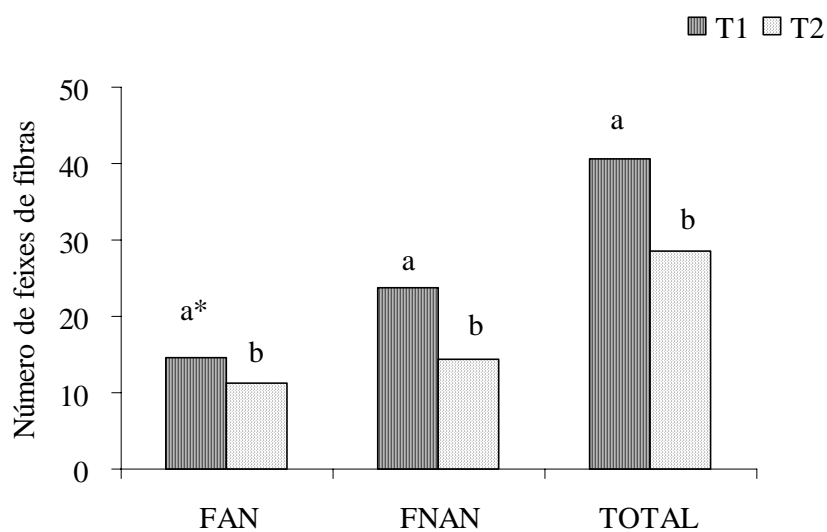
Houve diferença significativa nos feixes de fibras associadas às nervuras e não associadas às nervuras. O tratamento no qual as brotações foram obtidas pelo método convencional foi superior nas duas variáveis estudadas, o que era previsto, tendo em vista que, no processo de estiolamento, a regeneração das gemas axilares dos brotos estiolados em brotações é mais demorada e ocorre gradativamente, à medida em que é exposta à luz. O tratamento convencional produziu 23,7 feixes de fibras não associadas às nervuras e o tratamento no qual foi adotado o método de estiolamento produziu 14,3. Para a variável fibras associadas às nervuras, o método convencional produziu 14,6 feixes de fibras e o método de estiolamento produziu 11,3 (Figura 1).

Quanto ao diâmetro dos feixes de fibras associadas às nervuras também ocorreu diferença significativa e, assim como para a variável número de feixes de fibras o T1, que utilizou o método convencional, foi superior ao T2, que utilizou o método de estiolamento. O diâmetro obtido em T1 foi de 61,61 $\mu$ m e em T2 de 53,17 $\mu$ m. Já para o diâmetro dos feixes de fibras não associadas às nervuras não houve diferença significativa; em T1 obteve-se 35,89 $\mu$ m e em T2, 34,29 $\mu$ m (Figura 2).

Quando verificado os valores totais dos números de feixes de fibras e o diâmetro delas verificou-se que houve diferenças significativas. O método convencional, T1, foi superior ao método de estiolamento, T2, nas duas variáveis. O número total de feixes de fibras no T1 foi de 40,72 e no T2 de 28,50. Quanto ao diâmetro total o T1 obteve 171,66 $\mu$ m e o T2 139,71 $\mu$ m (Figura 1 e 2).

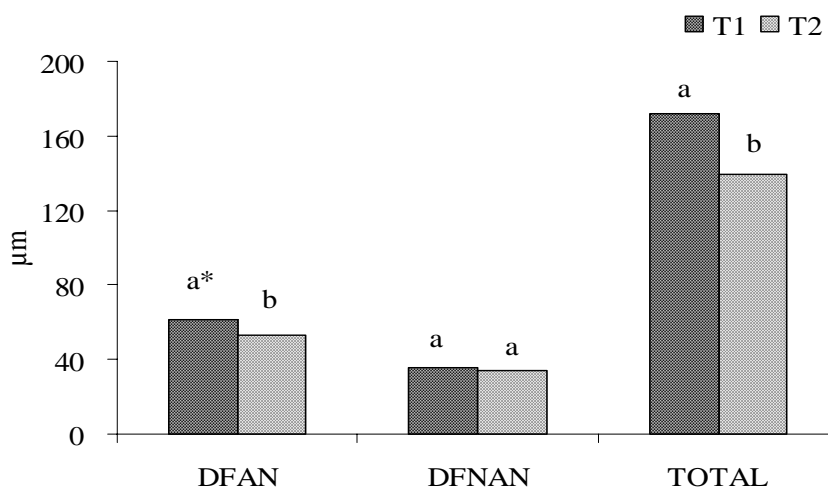
Conforme os resultados obtidos, o estiolamento causa redução nos feixes de fibras das mudas produzidas, tanto no número quanto no diâmetro dos feixes. Entretanto, não se pode afirmar que esta redução irá determinar também a redução das fibras nas plantas terminadas, sendo necessário que se realizem estudos semelhantes em plantas produtivas, no campo. Isto porque a capacidade de recuperação de plantas produzidas *in vitro* na fase de aclimatização e no campo é grande e é observada em diversas espécie, como, por

exemplo, *Lychnophora pinaster* (Souza, 2003), *Fragaria x ananassa* (Calvete et al, 2005), *Brosimum graudichaudii* (Fideles, 1998) e *Tridax procumbens* (Cerqueira, 1999).



\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 1- Número médio de fibras associadas às nervuras (FAN), não associadas às nervuras (FNAN) e número total de fibras (TOTAL). T1. Brotações obtidas pelo método convencional e T2. Brotações obtidas pelo método de estiolamento. Lavras, MG, 2006.



\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 2- Diâmetro médio de fibras associadas às nervuras (FAN), não associadas às nervuras (FNAN) e número total de fibras (TOTAL). T1. Brotações obtidas pelo método convencional e T2. Brotações obtidas pelo método de estiolamento. Lavras, MG, 2006.

## CONCLUSÕES

Brotações produzidas *in vitro* pelo método convencional produzem mais feixes de fibras e com diâmetro maior do que aquelas obtidas pelo método de estiolamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALVETE, E.O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M.H.; SUZIN, M. **Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro***. Disponível: <<http://www.scielo.br/>>. Acesso em: abr. 2005.

CERQUEIRA, E. S. **Propagação e calogênese *in vitro* em erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.), uma planta medicinal**. 1999. 81 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DONNELLY, D.J.; VIDAVER, W.E.; LEE, K.Y. The anatomy of tissue cultured raspberry prior to and after transfer to soil. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Dordrecht, v.4, n. 1, p.43-50, 1985.

FERREIRA, D. F. **SISVAR** - versão 4,3. DEX/UFLA - Lavras, MG, 2003.

FIDELIS, I. **Micropropagação de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. (Mamacadela), uma espécie medicinal**. 1998. 109 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n. 3, p 473-479, 1962.

RAMALHO, E. **A folha amazônica que virou arte**. Disponível em: <[http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article\\_124.asp](http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp)>. Acesso em: ago. 2005.

SOUZA, A.V. **Propagação *in vitro* e aspectos anatômicos de arnica (*Lychnophora pinaster*)**. 2003. 127 p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WETZSTEIN, H.Y.; SOMMER, H.E.; BROWN, C.L.; VINES, H.M. Anatomical changes in tissue cultured sweet gum leaves during hardening off period. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 290, June 1981.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 393, p. 25-38, 1986.

## PALAVRAS-CHAVES

Fibra vegetal, anatomia foliar, brotos estiolados

## Efeito do BAP e ANA na micropropagação de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.].\*

Silveira, Daniela Garcia<sup>1</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>2</sup>; Ledo, Carlos Alberto da Silva<sup>2</sup>; Morais Lino, Lucymeire Souza<sup>3</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Botânica (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Presidente Dutra, S/N, Santa Mônica, CEP 44055-000, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3625-2300, email: [danielags@ig.com.br](mailto:danielags@ig.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br); [ledo@cnpmf.embrapa.br](mailto:ledo@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS) e-mail: [ismorais@yahoo.com.br](mailto:ismorais@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Professor da Pós-Graduação da UEFS, Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, email: [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez. é uma espécie da família Bromeliaceae, nativa do estrato baixo da Caatinga Brasileira. Possui folhas listradas, flores protegidas por brácteas com coloração viva e frutos em bagas suculentas (Plantas do Nordeste, 2004). Essa espécie é conhecida na Região Nordeste do Brasil como caroá e constitui uma das matérias-primas mais utilizadas para o trabalho artesanal dessa região, gerando emprego e renda para diversas famílias. Suas folhas são utilizadas para extração de fibras, que são usadas na manufatura de barbantes, chapéus, bolsas, tapetes, redes de pesca e tecidos.

A planta do caroá, por sua vez, tem sido coletada diretamente na caatinga de forma extrativista, sem nenhuma sistematização de cultivo, já tendo praticamente desaparecido em algumas regiões. Isso pode ser explicado pelo sistema de corte das folhas adotado pelas artesãs e principalmente pela devastação da caatinga para desenvolvimento de atividade agropecuária na região, quando o caroá é considerado como uma planta invasora e sem valor comercial.

O estabelecimento de um sistema de produção para minimizar a atividade extrativista, depende prioritariamente do desenvolvimento de um sistema de propagação para produção de mudas. As técnicas de cultura de tecidos permite obter milhares de mudas a partir de uma única gema em pequeno período de tempo e totalmente livres de problemas fitossanitários (Barboza et al., 2004). Contudo, a utilização de sementes como explantes se constitui em uma estratégia interessante para propósitos de conservação, mantendo assim, a variabilidade das populações naturais, onde cada semente será uma planta matriz (Rech Filho et al., 2005). É importante, em espécies onde ainda não existe um sistema de cultivo, a manutenção da variabilidade genética natural, evitando dessa forma a intensificação da erosão genética causada pelo extrativismo acelerado ou pela seleção de poucos genótipos. Para tal, o desenvolvimento de protocolos de micropropagação partindo de sementes é uma alternativa de incentivo à conservação dessas espécies em bancos de germoplasma *in vitro*. Adicionalmente, é crucial para a produção ao nível comercial, contribuindo na produção de um número elevado de mudas com melhor desempenho agrônomo.

O desenvolvimento de um método de propagação eficiente, que permita a obtenção de mudas sadias a serem plantadas, se constitui no primeiro passo para o estabelecimento de um sistema de cultivo e produção, a fim de se evitar o extrativismo predatório. A utilização de auxina e citocinina têm sido testadas com sucesso na multiplicação *in vitro* em várias espécies de bromeliáceas (Arrabal et al., 2002; Barboza et al., 2004; Rech Filho et al., 2005). Diante do exposto, esse trabalho objetivou avaliar o efeito do BAP e ANA na micropropagação de plantas de caroá com a finalidade de estabelecer um protocolo de multiplicação *in vitro* para essa espécie.

### METODOLOGIA

---

\* Agradecimentos a CAPES pela concessão da bolsa de doutorado do primeiro autor e ao BNB e FAPESB pelo financiamento do projeto de pesquisa.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, em Cruz das Almas, BA.

Como explante de partida utilizou-se plântulas germinadas *in vitro* (Figura 1A) que foram distribuídas num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (concentrações de ANA) x 2 (concentrações de BAP) + 1 (tratamento adicional - testemunha), com 8 repetições por tratamento.

Foram analisadas todas as combinações entre concentrações de ANA (0,05  $\mu\text{M}$  e 0,5  $\mu\text{M}$ ) com 2,2 e 4,4  $\mu\text{M}$  de BAP em meio de cultura MS suplementado com 30 g/L de sacarose, solidificado com 2 g/L de Phytigel®, pH 5,8 e esterilizado a 120°C. O tratamento adicional serviu como controle, pois as plântulas foram cultivadas no mesmo meio sem a presença de reguladores de crescimento.

Foram realizados cinco subcultivos para meio fresco, com intervalos de 35 dias, onde se procedia a uma subdivisão longitudinal dos brotos (Figura 1B) sempre que possível. As plantas foram mantidas sob condições de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fóton de  $22 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Em cada subcultivo foi avaliado o número de brotos e de raízes dos cinco tratamentos. Para os dados obtidos das variáveis avaliadas nos cinco subcultivos, aplicou-se a transformação  $\log(x + 10)$  a fim de se corrigir desvios na distribuição normal dos mesmos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior taxa de multiplicação foi observada no tratamento ANA (0,5  $\mu\text{M}$ ) + BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ), com uma média de 60,58 brotos adventícios por explante após os cinco subcultivos (Tabela 1 e Figura 1C). Resultados semelhantes foram obtidos com a micropropagação de outras espécies; no abacaxizeiro, as maiores taxas de proliferação foram obtidas utilizando-se BAP em concentrações que variaram de 4,4 a 9,9  $\mu\text{M}$  em combinação com ANA (Hirimburegama & Wijesinghe, 1992; Macêdo et al., 2003) e em *Cryptanthus sinuosus* (L.B. Smith), uma bromélia ameaçada de extinção e endêmica do Brasil, os melhores resultados foram obtidos, em meio MS sem reguladores vegetais ou quando se adicionou 2,2  $\mu\text{M}$  de BAP e 0,05  $\mu\text{M}$  de ANA (Arrabal et al., 2002), tendo outras combinações exercido um efeito inibitório para o desenvolvimento de brotos. Ainda que a adição de ANA e BAP pareça favorecer a formação de brotos em bromélias (Mercier & Kerbauy, 1997), vale ressaltar que, a depender dos níveis endógenos desses reguladores nos explantes, as respostas obtidas podem ser indesejáveis (Hirimburegama & Wijesinghe 1992; Karp, 1995), indicando dessa forma a necessidade da otimização e ajustes de protocolos para cada espécie alvo. De qualquer forma, os resultados obtidos com a testemunha apontam para a necessidade do uso de reguladores de crescimento para a micropropagação dessa espécie.

Por outro lado, o uso desses reguladores, independente das combinações, afeta o processo da rizogênese de forma negativa, como pode ser observado também na Tabela 1. O meio utilizado como testemunha foi o que propiciou o maior número de raízes em relação aos outros tratamentos. Kukulczanka & Czastka (1989) propagando *in vitro* várias espécies da família Bromeliaceae no meio RM obtiveram brotos enraizados quando utilizaram ANA combinado com cinetina, enquanto a combinação ANA + BAP promoveu a formação de maior número de brotos adventícios, resultado similar ao que foi obtido nesse trabalho.

No que se refere à morfologia dos brotos produzidos, todos os tratamentos proporcionaram brotos normais, sem nenhuma anormalidade morfológica. No entanto, a presença de 4,4  $\mu\text{M}$  de BAP, apesar de ter proporcionado a maior taxa de multiplicação, induziu a formação de brotos pequenos e com poucas raízes, dificultando a individualização no momento da repicagem (Figura 1D). Em diversos trabalhos de micropropagação de bromeliaceas, constatou-se esse problema quando foram utilizadas combinações de BAP com doses acima ou igual a 4,4  $\mu\text{M}$  e ANA com doses superiores ou iguais a 2,5  $\mu\text{M}$  (Macedo et al., 2003; Barboza et al., 2004).





**Figura 1.** Etapas da micropropagação do caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.]: plântula após 60 dias de inoculação em meio de cultura (A); plântula subcultivada em meio de cultura (B); brotos adventícios provenientes de meios com ANA + BAP (C); brotos pequenos e sem raízes provenientes do meio de micropropagação com ANA (0,5  $\mu\text{M}$ ) + BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ) (D).

**Tabela 1.** Valores médios para números de brotos adventícios e de raízes na micropropagação de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.] após cinco subcultivos realizados a cada 35 dias.

ANA ( $\mu\text{M}$ )	Número de brotos		Número de raízes	
	BAP ( $\mu\text{M}$ )		BAP ( $\mu\text{M}$ )	
	2,2	4,4	2,2	4,4
0,05	15,825 aA*	18,975 bA	4,075 aA	1,400 bB
0,5	11,729 bB	60,575 aA	3,000 aA	4,200 aA
Testemunha	5,902		6,536	

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o tratamento ANA (0,5 µM) + BAP (4,4 µM) foi o mais eficiente para a obtenção de um maior número de brotos, apesar de não apresentarem raízes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRABAL, R.; AMANCIO, F.; CARNEIRO, L.A.; NEVES, L.J.; MANSUR, E. Micropropagation of endangered endemic Brazilian bromeliad *Cryptanthus sinuosus* (L.B. Smith) for *in vitro* preservation. **Biodiversity and Conservation**, v.11, p.1081-1089, 2002.

BARBOZA, S.B.S.C.; CALDAS, L.S.; SOUZA, L.A.C. Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.725-733, 2004.

HIRIMBUREGAMA, K.; WIJESINGHE, L.P.J. *In vitro* growth of *ananas comosus* L. Merr (pineapple) shoot apices on different media. **Acta Horticulturae**, v.319, p.203-208, 1992.

KARP, A. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. **Euphytica**, v.85, p.295-302, 1995.

KUKULCZANKA, K.; CZASTKA, B. Propagation of some species of the bromeliaceae family cultured *in vitro*. **Acta Horticulturae**, v.251, p.167-172, 1989.

MACÊDO, C.E.C. de; SILVA, M.G. da; NOBREGA, F.S. da ET AL.. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p. 501-504, 2003.

MERCIER, H; KERBAUY, G.B. Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae). In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry v. 40, High-Tech and Micropropagation VI**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 43–57.

Plantas do Nordeste (2004). Caroá. <http://plantasdonordeste.org>. Acesso em: 03 set. 2004.

RECH FILHO, A; DAL VESCO, L.L.; NODARI, R.O.; LISCHKA, R.W.; MULLER, C.V.; GUERRA, M.P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v.14, p.1799-1808, 2005.

## PALAVRAS-CHAVE

Bromeliaceae, cultura de tecidos, micropropagação, produção de mudas.

## **Influência do BAP na multiplicação *in vitro* e aclimatização de *Melissa officinalis* L.**

Reis, Érika Soares<sup>1</sup>; José Eduardo Brasil Pereira Pinto<sup>2</sup>; Luciana Domiciano Silva Rosado<sup>3</sup>; Ricardo Monteiro Corrêa<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Dep<sup>to</sup> de Agricultura, Cx.Postal: 3037. Campus UFLA. CEP: 37200-000. Lavras-MG. e-mail: erikasreis@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Professor – UFLA, e-mail: jeduardo@ufla.br. <sup>3</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, e-mail: lusrosado@yahoo.com.br. <sup>4</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia. e-mail: ricardomonc7@yahoo.com.br.

### **INTRODUÇÃO**

As Lamiaceae compreendem uma família pertencente à Ordem Tubiflorae (Lamiales), abrangendo cerca de 200 gêneros e, aproximadamente, 3.200 espécies, distribuídas em todo o mundo. Pertencente a esta família, *Melissa officinalis*, conhecida popularmente como melissa ou erva cidreira, é uma planta aromática, herbácea, perene, com caule quadrangular e folhas opostas. Possui aplicações na medicina, culinária (condimento) e perfumaria (constituintes aromáticos). A infusão das folhas é usada como sedativo e tem propriedades antiespasmódicas, antinevrálgica e carminativa. (Morelli, 1977).

A cultura de tecidos vem sendo uma técnica amplamente utilizada como ferramenta biotecnológica para o estudo do metabolismo, fisiologia, desenvolvimento e reprodução de plantas com propriedades medicinais, tais como resistência a pragas e acúmulo de substâncias ativas de interesse comercial.

Vários protocolos de micropropagação têm sido estudados para diversas espécies. No entanto, o sucesso deste processo depende de alguns fatores, como o genótipo, o regulador de crescimento e sua dosagem, o meio de cultivo, concentrações de sacarose e as condições de incubação, dentre outros.

Grataplaglia & Machado (1998) afirmam que o tipo e a concentração utilizados de citocinina são os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*, sendo a faixa mais empregada entre 2,22 e 22,2  $\mu\text{M}$ . O excesso pode ser tóxico e comprometer o desenvolvimento das culturas.

Assim o objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito dos meios de cultivo na multiplicação *in vitro* e aclimatização de plantas *Melissa officinalis* L..

### **METODOLOGIA**

Plantas provenientes de germinação *in vitro* foram doadoras de segmentos nodais, utilizados com explantes para o presente experimento. Os tratamentos consistiram do meio MS com presença ou ausência de regulador de crescimento (BAP-benzilaminopurina), ou seja, Tratamento1: MS sem BAP e Tratamento 2: MS suplementado com 4,44  $\mu\text{M}$  de BAP.

A inoculação dos explantes foi realizada em câmara de fluxo laminar, colocando-se 1 segmento nodal por tubo.

Em seguida, os tubos contendo os explantes foram levados para sala de crescimento e mantidos sob fotoperíodo de 16/8 horas de luz/escuro e intensidade luminosa de 25  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , à temperatura de  $26 \pm 1$  °C.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 11 repetições e cada parcela experimental composta por 4 tubos de ensaio.

O estudo da taxa de multiplicação *in vitro* de *M. officinalis* foi feito realizando-se 3 subcultivos das plantas com intervalos de 30 dias entre cada subcultivo para os tratamentos 1 e 2 separadamente. Para cada subcultivo, foi utilizado o mesmo delineamento experimental (DIC) contendo o mesmo número de repetições (11) e explantes por parcela (4). As avaliações foram feitas no final de cada subcultivo (30 dias), quando foram analisados número de brotos, número de nós, comprimento do maior broto e número de raízes principais.

Das brotações obtidas no primeiro subcultivo (Tratamento 1), após avaliadas, foram retirados explantes (segmentos nodais) para o segundo subcultivo. Após a avaliação deste, as brotações obtidas serviram como fonte de explante para o terceiro subcultivo.

Com a formação de múltiplos brotos no meio MS com 4,44  $\mu$ M BAP (Tratamento 2), as múltiplas brotações foram individualizadas e utilizadas como explantes para os subcultivos seguintes, tendo o meio MS com 4,44  $\mu$ M de BAP sido usado em todas as 3 multiplicações.

De posse das avaliações de crescimento dos Tratamentos 1 e 2, foi estimado, por inferência, o número de brotações obtidas a partir de um único explante ao final dos seis subcultivos.

Após isso 50 plantas micropropagadas e microestacas oriundas de subcultivos em meio MS sem BAP (Tratamento 1) e meio MS com BAP (Tratamento 2), respectivamente, foram transplantadas para bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial Plantmax®. As bandejas foram colocadas em casa de vegetação para o processo de aclimatização, sendo este processo feito reduzindo-se gradativamente a irrigação e aumentando-se a luminosidade.

Foram feitas observações diariamente, analisando-se a percentagem de sobrevivência das plantas.

Após 10 dias de aclimatização em bandejas, as mudas foram transplantadas para vasos de 3 litros contendo o mesmo substrato Plantmax®.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meio de cultura influenciou significativamente ( $p \leq 0,05$ ) na taxa de multiplicação de *Melissa officinalis*, para todas as variáveis analisadas.

Para a variável número de brotos, no primeiro subcultivo, não houve diferença no número médio de brotos para as plantas presentes no meio MS e no meio MS + 4,44  $\mu$ M de BAP. Já no segundo e terceiro subcultivos, as plantas presentes no meio com BAP apresentaram um número médio de brotos significativamente maior que as plantas presentes no meio MS sem a presença de BAP (Tabela 1).

**TABELA 1:** Número médio de brotos de *Melissa officinalis*, em função do meio de cultura nos três subcultivos.

Tratamentos	1º subcultivo	2º subcultivo	3º subcultivo
MS	1,91 a	1,59 b	2 b
MS + BAP	1,98 a	3,25 a	3,7 a

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de F ao nível de 5 % de probabilidade.

Hu & Wang (1983) afirmam que as citocininas são utilizadas para quebrar a dominância apical dos brotos e aumentar a taxa de multiplicação. Desse modo, ocorre um grande número de brotações por meio do crescimento de meristemas laterais. Esse relato corrobora com os resultados obtidos para a espécie em estudo.

Com relação ao número de nós, observou-se que, para os três subcultivos, as plantas presentes no meio MS sem a presença de BAP apresentaram um número de nós maior (média de 3,8 nós) que as plantas presentes no meio com a presença de 4,44  $\mu$ M de BAP (média de 2,5 nós) para os três subcultivos, conforme mostrado na Tabela 2.

**TABELA 2:** Número médio de nós de *Melissa officinalis*, em função do meio de cultura nos três subcultivos.

Tratamentos	1º subcultivo	2º subcultivo	3º subcultivo
MS	3,54 a	3,42 a	4,6 a
MS + BAP	1,06 b	2,73 b	3,6 b

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de F ao nível de 5 % de probabilidade.

A partir desses resultados de número de brotos e número de nós, pôde-se calcular a taxa de multiplicação das plantas presentes no meio sem e com BAP. As brotações presentes no meio MS sem BAP foram multiplicadas em segmentos nodais a partir do número de nós e nas brotações presentes no meio MS com a presença de BAP realizou-se a individualização de brotos.

Assim, pôde-se estimar, a partir dos valores médios de números de nós para as plantas presentes no meio MS e a partir do número de brotos para as plantas presentes no meio MS + BAP, o número de brotos obtidos no final de seis meses de cultivo.

Dessa forma, considerando uma média de quatro nós por brotação, para as plantas presentes no meio MS sem BAP, pode-se obter no final de seis meses de subcultivos, um total de 1.024 brotações. Já para as plantas presentes no meio MS com 4,44  $\mu\text{M}$  de BAP, considerando uma média de três brotos por planta no final de seis subcultivos (seis meses), obtém-se um total de 486 brotos.

Por esses resultados pode-se observar que a taxa de multiplicação de *M. officinalis* é cerca de 2,1 vezes maior para plantas subcultivadas em meio MS do que para plantas subcultivadas em meio MS na presença de BAP.

Para a variável comprimento do maior broto, observou-se também que, para os três subcultivo, nas plantas presentes no meio MS sem BAP o comprimento de broto foi maior (média de 4,2 cm para os três subcultivos) do que nas plantas presentes no meio MS com BAP, onde o comprimento médio foi de 1,3 cm (Tabela 3).

**TABELA 3:** Comprimento médio do maior broto de *Melissa officinalis*, em função do meio de cultura, nos três subcultivos.

Tratamentos	1º subcultivo	2º subcultivo	3º subcultivo
MS	3,79 a	4,30 a	4,4 a
MS + BAP	0,81 b	1,33 b	1,8 b

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de F ao nível de 5 % de probabilidade.

Leshem et al. (1988) afirmam que o uso de citocinina estimula maior produção de partes aéreas, mas o seu excesso é tóxico e caracteriza-se, principalmente, pelo demasiado entufamento e falta de alongamento das culturas, redução no tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento exagerado dos caules e vitrificação generalizada, o que leva á sérios problemas na fase de enraizamento.

Giacobbo et al. (2003), estudando a multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de macieira com diferentes níveis de benzilaminopurina (BAP) e ácido naftaleno acético (ANA), observaram que dosagens superiores a 0,49  $\mu\text{M}$  de BAP proporcionaram um decréscimo no crescimento das brotações de macieira.

Com relação ao número de raízes, observou-se que as plantas presentes no meio MS sem BAP formaram em média 2,2 raízes. Já para as plantas presentes no meio contendo BAP, não houve a formação de raízes em nenhum dos subcultivos (Tabela 4).

**TABELA 4:** Número médio de raízes de *Melissa officinalis*, em função do meio de cultura nos três subcultivos.

Tratamentos	1º subcultivo	2º subcultivo	3º subcultivo
MS	1,97 a	2,86 a	1,7 a
MS + BAP	0,0 b	0,0 b	0,0 b

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de F ao nível de 5 % de probabilidade.

Por esses resultados é possível explicar o que foi observado na etapa de aclimatização. Houve 70% de sobrevivência das plantas que estavam presentes no meio

MS sem a presença de BAP e 0% de sobrevivência das plantas provenientes de subcultivos em meio MS com 4,44  $\mu\text{M}$  de BAP. Esse resultado se deve à presença de raízes nas plantas vindas do cultivo em meio MS e a ausência nas plantas cultivadas em meio com BAP. Além disso, as plantas cultivadas em meio MS eram maiores e mais vigorosas.

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a taxa de multiplicação das plantas subcultivadas meio MS sem BAP é 2,1 vezes maior do que em plantas subcultivadas em meio MS com a presença de BAP e que a porcentagem de sobrevivência na fase de aclimatização das plantas subcultivadas em meio na presença de BAP é zero.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GIACOBBO, C. L.; GOMES, F. R. C.; KROTH, L. L.; CONCEIÇÃO, M. K.; FORTES, G. R. de L. Multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de macieira Cv. Marubakaio (*Malus prunifolia*) com diferentes níveis de benzilaminopurina e ácido naftalenoacético. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 1, p. 31-33, jan./mar. 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/ EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 183-260.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R. **Handbook of plant cell cultures**. New York: Macmillan, 1993. v. 1, p. 177-227.

LESHEM, B.; WERKER, E.; SHALEV, D. P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v. 62, n. 3, p. 271-276, Sept. 1988.

MORELLI, I. Constituenti e usi della *Melissa officinalis*. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milan, v. 116, n. 6, p. 334-340, gin. 1977.

## **Características anatômicas foliares de brotações de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Sm) propagadas *in vitro*.**

Flávia Dionísio Pereira<sup>1</sup>; José Eduardo Brasil P. Pinto<sup>2</sup>; Luciana Domiciano Silva Rosado<sup>3</sup>; Daniel Melo de Castro<sup>2</sup>; Helen Cristina de Arruda Rodrigues; <sup>3</sup>Roseane Rodrigues de Souza<sup>3</sup>; Renake Nogueira Teixeira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Doutora (UEFS), Laboratório de cultura de tecidos da Unidade Experimental Horto Florestal, Universidade Estadual de Feira de Santana, 44031-460, Feira de Santana, BA, fone (75) 3625-2300, email: [flavia1808@hotmail.com](mailto:flavia1808@hotmail.com); <sup>2</sup>Phd (UFLA), DAG, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1330, email: [jeduardo@ufla.br](mailto:jeduardo@ufla.br); <sup>3</sup>Estagiária (UFLA), DAG, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1322.

### **INTRODUÇÃO**

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma espécie com grande potencial de utilização na indústria automobilística, devido à sua resistência, maciez e peso reduzido. A espécie é nativa e rústica, ainda pouco conhecida e estudada. A planta é característica da Amazônia paraense, cresce até em solo arenoso e pouco fértil chegando a atingir entre um metro e um metro e meio de altura. Cada planta produz entre 12 e 15 folhas, das quais são extraídos cerca de 2 quilos de fibra (Ramalho, 2005; Rocha & Gheler Júnior, 2003).

A crescente demanda de fibras do curauá por grupos empresariais o torna uma espécie estratégica, criando perspectivas socioambientais do seu uso. O grande problema é que não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender à indústria automobilística, pois o curauá é fiel às suas origens amazônicas e só se desenvolve em clima quente e úmido, criando um problema para a aquisição de mudas fora desta região que por tal motivo, é escassa no mercado (Silva, 2004).

Pouco se sabe sobre a anatomia de órgãos vegetativos de propágulos micropropagados, como são afetadas pelas condições ambientais de cultivo ou como a anatomia de plantas transplantadas é modificada durante a aclimatização antes de serem levadas para ambientes de campo. Frequentemente, estes tipos de brotações são afetadas por excessiva presença de fatores do meio de cultura que conduzem à degeneração metabólica e morfológica (Campostrini & Otoni 1996; Ziv, 1986).

O objetivo deste trabalho foi contribuir para a descrição anatômica das folhas de curauá desenvolvidas de explantes cultivados *in vitro*, advindas ou não do estiolamento.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Tratamento (1): Método convencional de micropropagação

Os explantes foram obtidos de gemas axilares provenientes de plantas matrizes. As gemas axilares foram excisadas e inoculadas em meio MS líquido sem regulador de crescimento. As brotações permaneceram por 60 dias incubadas em sala de crescimento. Quando as brotações atingiram comprimento médio de aproximadamente 10cm, foram retiradas para as análises anatômicas.

Tratamento (2): Método de estiolamento

Utilizaram-se propágulos de curauá preestabelecidas *in vitro* que estavam inoculadas em meio MS sem regulador de crescimento. Selecionaram-se as brotações e os explantes obtidos destas foram desfolhados completamente. Estes explantes foram cultivados em meio MS sólido, com 50mL de meio suplementado com 1,86mg/L de ANA. Mantidos em sala de crescimento os explantes foram incubados no escuro. Após 40 dias, removeram-se o ápice e o sistema radicular dos brotos estiolados, que foram colocados horizontalmente em frascos com meio MS líquido sob agitação de 85rpm em mesa agitadora orbital. Os brotos estiolados foram mantidos em sala de crescimento. Aos 60 dias, as brotações já estavam bem formadas e, assim

que atingiram comprimento médio de aproximadamente 10cm, foram também retiradas para as análises anatômicas.

#### Estudos anatômicos: Cortes transversais

Foram retiradas amostras da porção mediana do limbo de folhas maduras provenientes dos tratamentos descritos anteriormente. As folhas de curauá foram então, colocadas para fixação em F.A.A (50%) durante 120 horas (5 dias) sendo posteriormente conservadas em álcool etílico 70%. Em seguida, retirou-se um segmento da folha, incluindo nervura mediana e um dos lados do limbo foliar. Esse segmento foi incluído em historesina (Leica Historesina, Embedding Kit). Os cortes transversais com espessura de 12 $\mu$ m, foram realizados em micrótomo rotativo automático (Leica 2045, Multicut) e distendidos em lâminas de vidro.

#### Determinação das variáveis

Utilizando-se cinco cortes por repetição, sendo dois tratamentos com quatro repetições. Os valores foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto no tratamento que utilizou o método convencional (T1) como no que utilizou o método de estiolamento (T2) pôde-se constatar que todas as folhas estudadas são revestidas por epiderme unisseriada. Observa-se cutícula relativamente espessa. O mesofilo é homogêneo, com células isodiamétricas a ovaladas. (Figuras 1.1-2).

As folhas são hipoestomáticas e os estômatos se fecham um pouco acima do nível das células epidérmicas. Esta última característica se deve, provavelmente, ao ambiente de cultivo das brotações, *in vitro*, no qual existe água em abundância (Figura 1.3-4).

Abaixo da epiderme, nas duas superfícies foliares, observa-se a ocorrência de uma provável hipoderme, mais desenvolvida na face adaxial, e constituída por uma camada de células bastante distintas. Abaixo da hipoderme, na face adaxial, nota-se a presença de parênquima aquífero, formado por uma a duas camadas de células grandes, com paredes delgadas (Figura 1. 5-6). Nota-se, ainda, nas células desse tecido, que as paredes possuem algumas deformações que ocorrem, provavelmente, devido à pouca resistência mecânica dessas paredes, uma vez que brotações originadas de cultivo *in vitro* possuem, geralmente, células com paredes mais delgadas. Alia-se a este o fato das células que compõem esse tecido serem grandes e com paredes muito extensas o que, por si, já causa certa redução na resistência mecânica de tecidos parênquimas aquíferos (Figura 2).

Este resultado está de acordo com o obtido por Tomlinson (1969) quando estudou outros representantes da família. Segundo este autor, este tecido, mais desenvolvido na face adaxial, é constituído por várias camadas celulares; dependendo da forma e do grau de espessamento parietal, ele pode ser reconhecido como um tecido mecânico ou armazenador de água (aquífero). Aoyama & Sajo (2003), estudando espécies de bromélias, também observaram semelhante ocorrência, a qual denominaram de hipoderme aquífera em *Ronnbergia brasiliensis* e *Ronnbergia neoregelioides*.

Embora seja necessário estudo mais aprofundado, acredita-se que, em curauá, o tecido parenquimático abaixo da hipoderme na superfície adaxial seja armazenador de água. Estudos ontogênicos são necessários para que se saiba se o tecido descrito pode ser denominado de hipoderme aquífera.

O mesofilo é formado por parênquima clorofiliano do tipo homogêneo. As células apresentam diâmetro variável. Ao se realizar uma análise visual, parece que, nas brotações não estioladas, as células do clorênquima são menos volumosas quando comparadas com as células das plantas estioladas (Figura 2. 7-8). Embora não tenha sido feito testes histoquímicos, verifica-se presença de conteúdo celular, possivelmente cloroplastídeos, situados em ambos os tratamentos, sendo visivelmente maior a presença destes no tratamento 1 (Figura 2.7-8).



Pôde ser observado que as nervuras têm um arranjo colateral e há grupos de fibras formando feixes, sendo comum aos dois tipos de fibras, associadas ou não às nervuras, a ocorrência de calotas de células envolvendo-as. As fibras não associadas às nervuras apresentavam-se dispersas no mesofilo, mas próximas à superfície abaxial e adaxial (Figura 2. 7-8). As fibras das nervuras são mais abundantes, principalmente próximas ao floema (Figura 2. 7-8).

Analisando-se os caracteres foliares estudados, nota-se que as estruturas desenvolvidas em brotações de curauá no método convencional e no método de estiolado apresentam organizações anatômicas semelhantes (Figuras 1 e 2). Visualmente, as maiores diferenças estão no volume do clorênquima e do parênquima aquífero, que são maiores no método de estiolamento. Provavelmente, este pode ter sido um mecanismo de defesa encontrado para que as brotações submetidas ao método de estiolamento pudessem desenvolver melhor nas condições impostas, que eram mais severas que as do método convencional. Faz-se necessário, porém, o desenvolvimento de estudos complementares, necessários para comprovar tal hipótese.

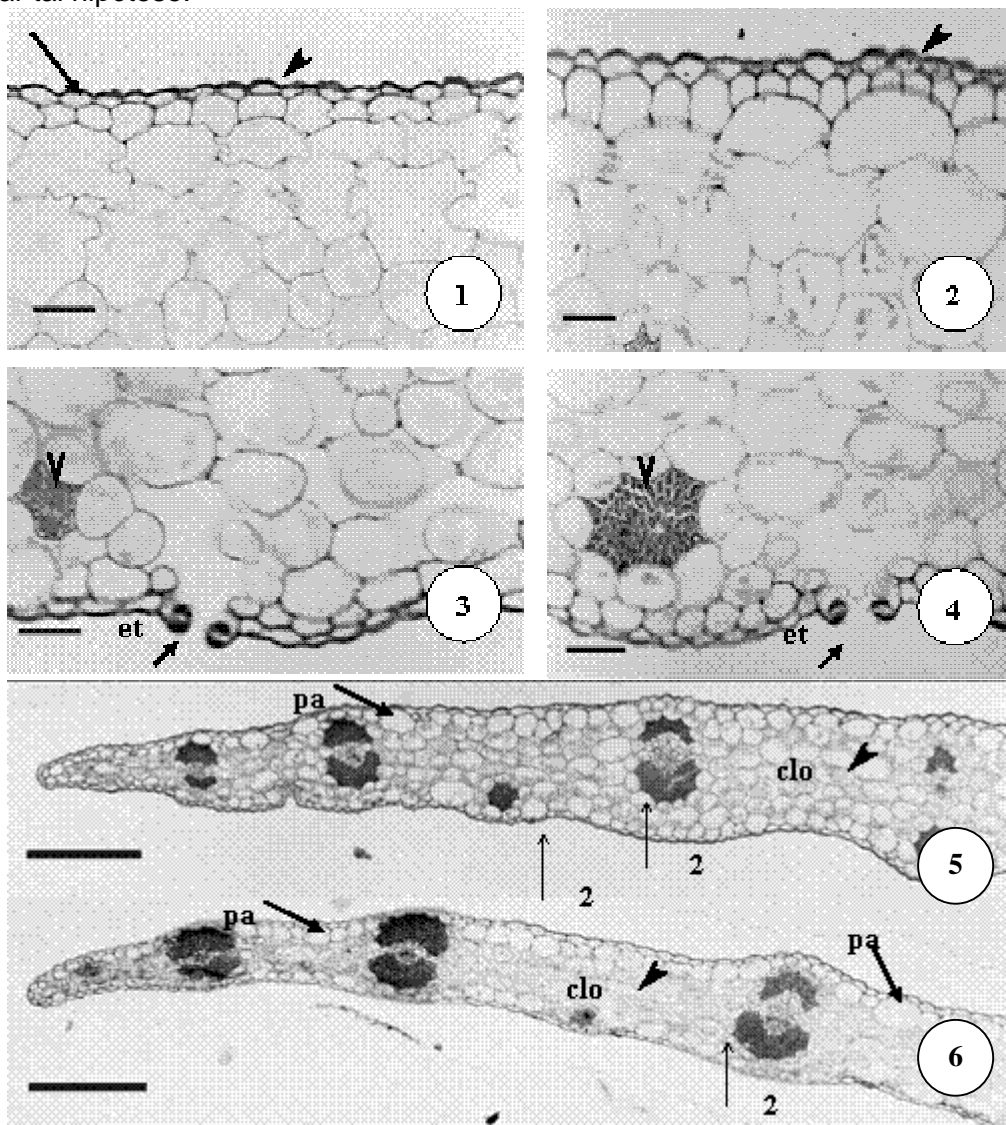


FIGURA 1- Secções transversais. 1. *Ananás erectifolius*: superfície adaxial da epiderme (seta), mostrando cutícula (cabeça de seta) (T2). 2. (T1). 3. Estômatos (et) localizados abaixo do nível das demais células epidérmicas com câmara subestomática e agrupamentos de fibras (cabeças de seta) (T2). 4. (T1). 5. Parênquima aquífero (pa) (seta), calotas de células com paredes espessadas adjacentes ao xilema e ao floema e aos grupos de fibras (setas 2), clorênquima (col) situado entre as hipodermes (cabeça de seta) (T2). 6. (T1). Barra= 10µm. Lavras, MG, 2007.

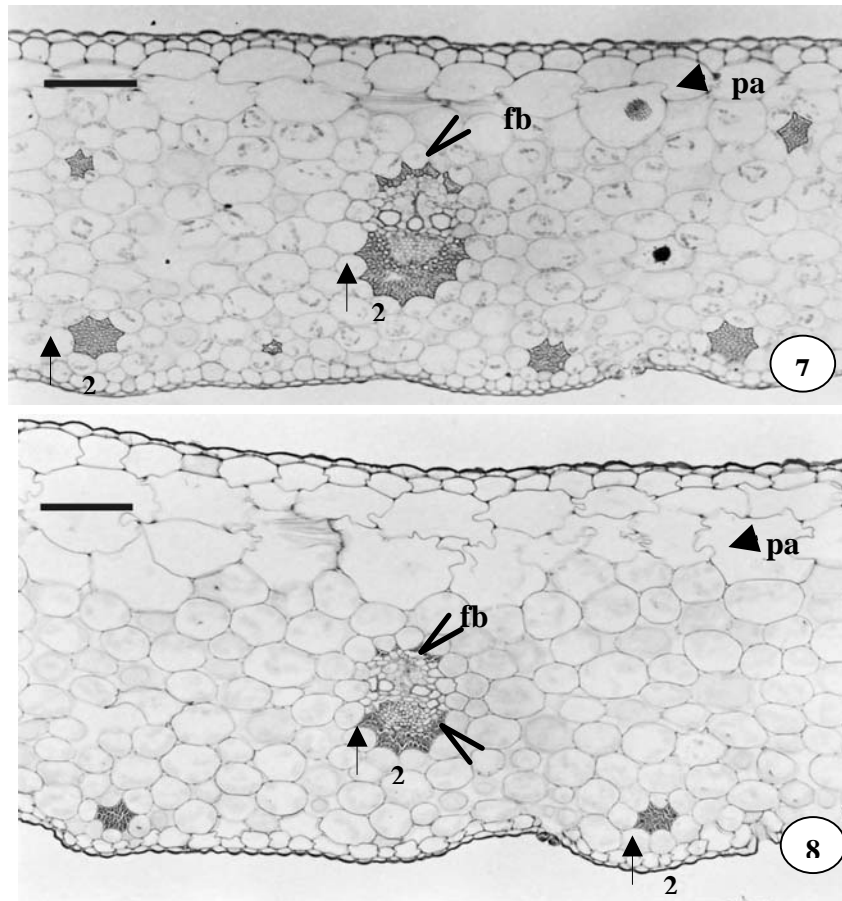


FIGURA 2- Secções transversais. 7. *Ananás erectifolius*: Hipoderme aquífera bastante desenvolvida (ha) (seta), tecido fotossintetizante, grupos de fibras (fb), calotas de células com paredes espessadas adjacentes ao xilema e ao floema e aos grupos de fibras (setas 2) (T2). 8. (T1). Barra= 10µm. Lavras, MG, 2007.

## CONCLUSÕES

Brotações produzidas *in vitro* pelo método convencional produzem mais feixes de fibras do que aquelas obtidas pelo método de estiolamento.

Os volumes do clorênquima e do parênquima aquífero apresentam-se visualmente maiores em brotações obtidas pelo método de estiolamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOYAMA, E. M.; SAJO, M. G. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, Rio de Janeiro, v.26, n.4, p.461-473, out./dez. 2003.

CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W.C. **Aclimação de plantas: Abordagens recentes.** Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/laborato/biocel/abctp25.htm>>. Acesso em: abr. 2006.

RAMALHO, E. **A folha amazônica que virou arte.** Disponível em: <[http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article\\_124.asp](http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp)>. Acesso em: ago. 2005.

ROCHA, E. C.; GHELER JÚNIOR, J. **Aproveitamento de resíduos gerados na aglomeração de fibras de coco com Látex natural.** Matéria Técnica. Disponível em: <<http://www.biologo.com.br>>. Acesso em: jun. 2003.

SILVA, C. **País pesquisa mais fibras naturais para carros.** Disponível em: <[http://www.sebrae\\_sc.com.br/novos\\_destaquos/oportunidade/mostra\\_matéria.asp?cd\\_noticia=8356](http://www.sebrae_sc.com.br/novos_destaquos/oportunidade/mostra_matéria.asp?cd_noticia=8356)>. Acesso em: out. 2004.

TOMLINSON, P.S. **Anatomy of the Monocotyledons.** III Commelinales – Zingiberales. Oxford: Oxford University Press, 1969.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 393, p. 25-38, 1986.

#### **PALAVRAS-CHAVES**

*Ananas erectifolius*, anatomia foliar, brotos estiolados

## PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE BROTOS ESTIOLADOS DE CURAUÁ UTILIZANDO ANA, GA<sub>3</sub> E KIN.

Flávia Dionísio Pereira<sup>1</sup>; José Eduardo Brasil P. Pinto<sup>2</sup>; Luciana Domiciano Silva Rosado<sup>3</sup>; Daniel Melo de Castro<sup>2</sup>; Helen Cristina de Arruda Rodrigues<sup>3</sup>; Roseane Rodrigues de Souza<sup>3</sup>; Renake Nogueira Teixeira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Doutora (UEFS), Universidade Estadual de Feira de Santana, Laboratório de cultura de tecidos da Unidade Experimental Horto Florestal, 44031-460, Feira de Santana, BA, fone (75) 3625-2300, email: [flavia1808@hotmail.com](mailto:flavia1808@hotmail.com); <sup>2</sup>Phd (UFLA), Universidade Federal de Lavras, DAG 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1330, email: [jeduardo@ufla.br](mailto:jeduardo@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda (UFLA), Universidade Federal de Lavras, DAG 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1322.

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Smith) – Bromeliaceae] é uma espécie que desponta como sucedâneo na fabricação de cordas, sacos e utensílios domésticos. O objetivo deste trabalho foi obter a organogênese em brotos estirolados de curauá. Na fase I, avaliou-se a influência de ANA, cinetina (KIN) e GA<sub>3</sub> na indução de brotos estirolados. O meio de cultivo utilizado foi o MS. O T1 continha 2,0mg/L de ANA; T2, 1,0mg/L de ANA+ 1,0mg/L de GA<sub>3</sub>; T3, 1,0mg/L de ANA+ 1,0mg/L de GA<sub>3</sub>+ 0,5mg/L de KIN e o T4, 2,0mg/L de ANA+ 0,5mg/L de KIN. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de quatro tratamentos com dez repetições (quatro explante/repetição) e duas parcelas. Aos 40 dias, avaliaram-se o número e o comprimento de brotos estirolados. Não houve diferença significativa para número de brotações induzidas. No comprimento de brotações houve diferença significativa. T1 cresceu 8,54cm; o T2, 8,10cm; o T3, 6,38cm e o T4, 6,13cm. Na fase II, avaliou-se a indução de brotações nos brotos estirolados. Os brotos estirolados da fase I foram divididos em parte apical, mediana e basal. Os explantes individualizados foram cultivados separadamente em meio MS sem regulador de crescimento. No ápice não houve diferenças significativas para número e comprimento de brotações. Já na parte mediana, o número de brotações foi de 3,9 para os explantes decorrentes do T2 da fase I e 3,6 do T3. Os tratamentos cujos explantes foram provenientes do T1 e do T4 induziram 2,8 e 2,6 brotações, respectivamente. Quanto ao comprimento das brotações, não houve diferenças significativas. Na parte basal, também não ocorreram diferenças significativas. Portanto, explantes de curauá cultivados em meio MS adicionado de ANA, GA<sub>3</sub>, KIN regeneram brotos estirolados. Bases de brotos estirolados podem ser utilizadas mais de uma vez no processo de multiplicação. Ápices, segmentos nodais e parte basal de brotos estirolados regeneram brotações de curauá. No meio MS sem regulador de crescimento, regeneram-se brotações a partir de brotos estirolados.

### PALAVRAS-CHAVES

*Ananas erectifolius*, brotos estirolados, propagação *in vitro*.

## Germinação de sementes de *Dendrobium phalaenopsis* em meio de cultura alternativo.

Karsburg, Isane Vera<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Professora da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus de Alta Floresta, Rodovia MT 208, km 147 - CEP: 78580-000, Alta Floresta, Mato Grosso, fone: (66) 3521 2041, email: isane9@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

Espécies da família *Orchidaceae* sempre foram alvos de exploração predatória devido a sua beleza e a agregação de alto valor comercial, seja para a pura ornamentação ou para colecionadores. Alguns fatores como o desmatamento, a exploração econômica extrativista não sustentada vem colocando em risco as espécies nativas de orquídeas em nossas florestas. Diversas espécies de orquídeas encontram-se atualmente extintas do seu ambiente natural ou ameaçadas de extinção ou por práticas extrativistas, desempenhadas por colecionadores, ou pela devastação das matas, seu ambiente natural (Silva, 1977; Colombo et al., 2004).

O desenvolvimento vegetativo das orquídeas é lento, visto que a propagação vegetativa, divisão de touceiras; divisão de pseudobulbos; divisão de bulbos velhos e indução de brotamentos a partir de hastas florais levam no mínimo dois anos para formar um novo adulto. A propagação de *Orchidaceae* via sementes também é demorada e das milhões de sementes produzidas em uma cápsula, no meio natural somente 5 % germinam (Hartmann & Kester, 1968; Silva, 1977; Campos, 1998).

O cultivo em meio nutritivo, utilizando a técnica de cultura de tecidos, permite acelerar esse processo e elevar a taxa de germinação, tornando o processo de multiplicação de orquídeas viável (Stancato & Faria, 1996). A cultura de tecidos é frequentemente utilizada para propagação clonal em massa de híbridos e espécies de orquídeas, possibilitando a obtenção de plantas de alta qualidade fitossanitária em curto período de tempo (Arditti & Ernst, 1993). A cultura assimiótica ou semeadura *in vitro*, de orquídeas, constitui técnica bastante relevante do ponto de vista comercial e também ecológico. As plantas produzidas desta forma são altamente interessantes para programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental.

Atualmente pode-se desenvolver a micropropagação vegetativa com equipamentos simples e de baixo custo com produtos alternativos (Brahm et al., 2006). A produção de plântulas pela micropropagação vegetativa com uso de produtos orgânicos tem gerado muitas controvérsias entre os pesquisadores por não existirem protocolos adequados e ou simplificados para cada planta que se deseja multiplicar (Brahm et al., 2006). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de sementes de *Dendrobium phalaenopsis* em meio de cultura com produtos alternativos em diferentes concentrações de fertilizante NPK (Nitrogênio – Fósforo – Potássio).

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Ciências Biológicas na UNEMAT - Campus de Alta Floresta. Para as avaliações foram utilizadas cápsulas de *Dendrobium phalaenopsis* obtidos do Orquidário da Apolônia Grade. As cápsulas antes de serem abertas foram desinfetadas em uma solução de hipoclorito de sódio de concentração de 10% por um período de 10 minutos. Posteriormente as mesmas foram abertas e as sementes transferidas para 30 mL de água destilada.

O meio de cultura utilizado para a germinação das sementes foi composto por tomate (150 ml/500mL de suco sem sementes e casca) 7g de ágar, água destilada (qsp) 500mL, 10g de sacarose, 1g de carvão ativado e 1g de NPK com diferentes proporções (10-10-10; 13-9-13 e 15-0-0) com um pH ajustado para 5.0 antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm, por 20 minutos.

O cultivo foi realizado em frascos de 250 mL de capacidade contendo 50 mL de meio de cultura e 1 mL sementes com água destilada.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, sendo cada tratamento representado por 10 repetições. As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, fotoperíodo de 16 horas.

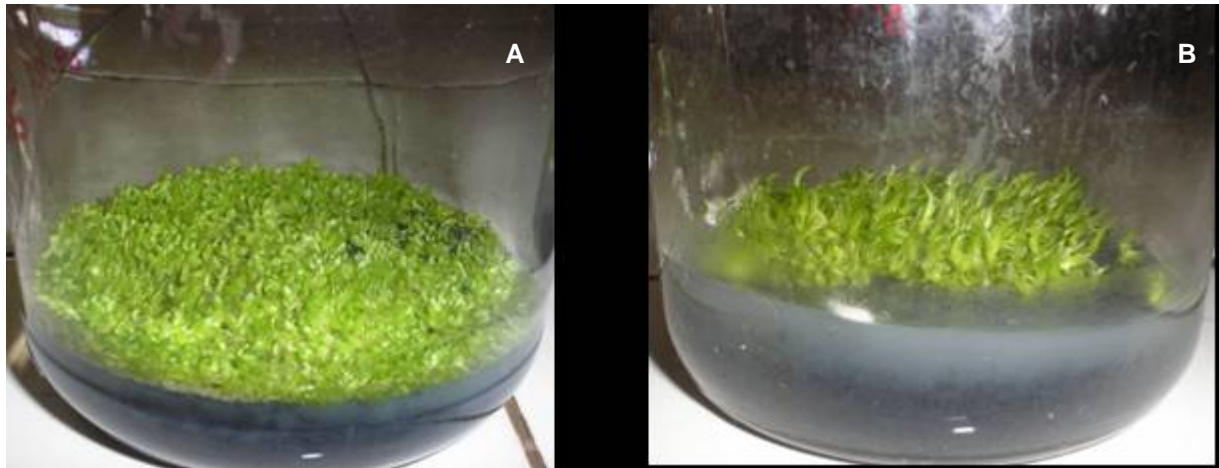
## RESULTADOS e DISCUSSÕES

A semeadura das sementes no meio composto por água destilada, suco de tomate, sacarose, carvão ativado e ágar com NPK na proporção 15-0-0 observou-se a germinação após um período de 30 dias. Com este tratamento todas as repetições apresentaram o mesmo comportamento. Após 60 dias de desenvolvimento foi possível visualizar a formação de protocormos (Fig. 1A) com 90 dias de desenvolvimento dos protocormos foi possível avaliar a presença dos primeiros folíolos (Fig. B).

Segundo George (1996), a germinação de sementes e o desenvolvimento do embrião são supridos pelo catabolismo das substâncias de reserva. Nos tecidos de reserva, as proteínas são hidrolisadas por proteases e peptidases gerando aminoácidos e amidas que são transportados até o eixo embrionário. Tais substâncias serão a base de construção das proteínas do embrião em desenvolvimento. À medida que a plântula desenvolve-se, atinge a autotrofia de carbono e passa a absorver  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  através do sistema radicular em expansão. Durante a fase de crescimento vegetativo mais intenso, grande parte das moléculas orgânicas nitrogenadas são incorporadas à estrutura e ao metabolismo da planta. Os cloroplastos contêm cerca de 75% do nitrogênio foliar; metade da proteína foliar encontra-se nos cloroplastos, principalmente como parte da Rubisco.

Com o NPK (13-9-13) e (10-10-10) não ocorreu germinação das sementes. De acordo Rodrigues (2005) a redução de nitrogênio no meio de cultura pode reduzir as chances de germinação de sementes ou aumentar o tempo até que ocorra a germinação, podendo ainda reduzir o crescimento das plântulas, formação de massa foliar e raízes. Estes comportamentos diferenciados entre as plantas frente aos mesmos tratamentos podem estar relacionados ainda ao genótipo, podendo interferir em diferentes respostas aos níveis de nitrogênio e fósforo. Em *Dactylorhiza*, as altas concentrações acima de 10 % de nitrogênio, fósforo e potássio causaram toxidez na planta, comprometendo o desenvolvimento (Dijh & Eck, 1995).

Assim, com o conhecimento das diferentes dosagens dos fertilizantes NPK, que pela sua praticidade e simplicidade foram considerados viáveis na preparação de meios de cultura para semeadura de sementes de *Cattleya* (Rodrigues, 2005). Porém, nem todas as espécies de Orquidaceae apresentam o mesmo comportamento diante das diferentes soluções e substâncias utilizadas na preparação dos meios de cultura. Bhrum et al., (2006) utilizando meios alternativos obtidos de frutas e legumes em diferentes concentrações e combinações para o desenvolvimento das sementes de *Schomburgkia*, verificou que diferentes concentrações e quantidades dos elementos proporcionam velocidades de germinação diferenciadas.



**Figura 1** - Germinação das sementes de *Dendrobium phalaenopsis*. A) Desenvolvimento dos protocormos após 60 dias de germinação, B) Presença de folíolos após 90 dias de crescimento.

## CONCLUSÃO

Contudo, a constituição simples do meio de cultura apresentado, pode viabilizar o cultivo em grande escala a partir de sementes, tanto para preservação quanto para a comercialização de *Dendrobium phalaenopsis*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: J. Wiley, 682p.1993.

BRAHM, R. Ü.; GOMES, J. C.; BOSENBECKER, V. K. Meios de cultura alternativos para o crescimento e desenvolvimento de orquídeas *in vitro*. **Revista brasileira de Agroecologia**. v.1, n. 1. p. 1623-1626. 2006.

CAMPOS, D. M. **Orquídeas:Micropropagação e quimioterapia de meristemas**. Ed. Expressão e Cultura, Rio de Janeiro, 112p. 2002.

CAMPOS, D.M. **Orquídeas: Manual prático de cultura**. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 143p.1998.

COLOMBO, L. A. et al. Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de duas espécies de orquídeas brasileiras. **Acta Sci., Maringá**, v. 26, n. 2, p. 253 -258, 2004.

DIJH, B.; ECK, N. Axenic *in vitro* nitrogen and phosphores responses of some Dutch marsh orchids. **New Phytol.** 131: 353-359, 1995.

GEORGE, E. F. **Plant grow regulators: Plant propagation by tissue culture**. Exegetics, Edington. XI. p. 420-479. 1996.

HARTMANN, H.T. & KERSTER, D.E. **Plant propagation: principles and practice**. 2.ed. Edgewood Cliffs: Prentice-Hall, 702p.1968.

RODRIGUES, D. T. **Nutrição e fertilização de orquídeas *in vitro* e em vasos**. Dissertação Mestrado (UFV). 101p. 2005.  
SILVA, W. **O cultivo de orquídeas no Brasil**. São Paulo: Nobel,98p.1977.  
[www.ibama.gov.br/flora/extincao.htm](http://www.ibama.gov.br/flora/extincao.htm) 1992. Acessado dia 09/02/2007 as 14 hs.

STANCATO, G.C.; FARIA, R.T. In vitro growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (Orchidaceae) I: effects of macro and microelements. **Lindleyana**. v.11,n,1, p.41-43. 1996.

Palavras Chave: NPK, Orquidaceae, meio alternativo.

Apoio Financeiro: FAPEMAT.



## **Aclimatização de genótipos de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis*).**

Costa, Andréa Santos da<sup>1</sup>; Fonseca, Valéria Oliveira<sup>1</sup>; Oliveira, Ana Catarina Lima de<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fátima<sup>2</sup>; Santana, Túlio Henrique Barreto de<sup>1</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>UFS – Cidade universitária Prof. José Aloísio de Campos – DEA, 49100-000 São Cristóvão-SE, email: deaasc@yahoo.com.br, <sup>2</sup>UFS – Campus Prof. Alberto carvalho – Núcleo de Ciências Biológicas – Itabaiana – SE, email: arrigoni@ufs.br (Apoio: CNPq).

### **INTRODUÇÃO**

A *Mentha arvensis* L. é uma planta aromática e medicinal pertencente à família Lamiaceae, rica em mentol, componente químico presente em seu óleo essencial. Esse produto possui grande valor de mercado devido a sua grande aplicação nas indústrias de alimento, farmacêutica, de higiene e de tabaco (MAIA, 1998).

A importância industrial da hortelã-japonesa reside no óleo essencial, o qual possui mentol, de largo emprego na indústria alimentícia, farmacêutica e de aroma (MAY et al., 2007). O crescente interesse científico e industrial por óleos essenciais vem mobilizando agricultores e empresários com a finalidade de desenvolver tecnologia adequada para obtenção racional e rentável desses óleos. A propagação *in vitro* é uma tecnologia que tem apresentado excelentes resultados para inúmeras espécies.

A maioria das espécies cultivadas *in vitro* requer um processo de aclimatização, o qual consiste de modificações morfológicas, anatômicas e fisiológicas necessárias às plantas para que possam sobreviver e crescer vigorosamente em um novo ambiente (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; CARVALHO et al., 1999; HARARIKA, 2003).

Um fator importante envolvido na aclimatização é o substrato utilizado na preparação das mudas, pois ele pode facilitar ou impedir o crescimento e desenvolvimento das plantas micropropagadas, influenciando diretamente no sucesso da aclimatização (COUTO et al., 2003). As características do substrato como o elevado espaço de aeração associado à elevada capacidade de retenção de água são fatores fundamentais durante a aclimatização (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

O pó de coco surge como uma das alternativas no preparo de substratos para a formação de mudas. Atualmente o pó de coco tem sido indicado como substrato agrícola, principalmente por apresentar uma estrutura física vantajosa, proporcionando alta porosidade, alto potencial de retenção de umidade e por ser biodegradável. É um meio de cultivo 100% natural e indicado para germinação de sementes e propagação de plantas (ROSA et al., 2001). O pó de coco é um substrato que apresenta baixo custo de aquisição, na nossa região, em virtude de ser resíduo do processamento de coco verde ou maduro. A busca de materiais alternativos para serem usados como substrato tem como objetivo, também, reduzir os efeitos nocivos da retirada de material da natureza.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes substratos durante a aclimatização de plantas micropropagadas de genótipos de *Mentha arvensis*.

### **MATERIAL E MÉTODO**

O presente trabalho foi realizado em estufa agrícola protegida com tela sombrite 50% e nebulização intermitente localizada no Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe – UFS.

Foram utilizadas mudas micropropagadas dos genótipos UFC, IAC701-01, IAC701-04 de *M. arvensis*, procedendo-se a lavagem em água corrente para eliminação do meio de cultura aderido às raízes e transplantadas em bandejas de poliestireno expandido com 72 células contendo os diferentes substratos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3, sendo quatro substratos PCB - Pó de coco + 1 g.L<sup>-1</sup> de calcário + 12 g.L<sup>-1</sup> de Biosafra<sup>®</sup>

(3-12-6), PCBV - Pó de coco + 1 g.L<sup>-1</sup> de calcário + 12 g.L<sup>-1</sup> de Biosafra® (3-12-6) + vermiculita (1:1 v/v), PCBV - Pó de coco + 1 g.L<sup>-1</sup> de calcário + 12 g.L<sup>-1</sup> de Biosafra® (3-12-6) + vermiculita (2:1 v/v) e VMS – Vermiculita + sais do MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) e três genótipos (UFC, IAC701-01, IAC701-04) com quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída por cinco mudas.

Aos 30 dias foram avaliadas as variáveis, sobrevivência (%), número de brotos, comprimento de raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm), massa fresca (mg) da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR), massa seca (mg) da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR). As variáveis MFR, MSR foram transformadas em raiz de  $(x+0,5)$  e sobrevivência em arco seno da raiz quadrada de  $(X/100)$ . Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na implantação do ensaio, as mudas micropropagadas apresentavam altura média de 6,0 cm e resultaram em altas taxas de sobrevivência para todos os substratos testados, não havendo diferença significativa entre eles (Tabela 1).

Para a variável número de brotos, não houve diferença significativa dos genótipos entre os diferentes substratos. Porém, para os genótipos nos substratos, observa-se que o UFC teve as maiores médias, não diferindo estatisticamente do genótipo IAC-701-01. Já para comprimento de raiz nota-se que houve diferença significativa entre os genótipos, sendo os substratos que continham pó de coco os que proporcionaram os maiores valores para o genótipo UFC, enquanto que para o genótipo IAC-701-01 o menor valor foi obtido utilizando o substrato PCBV (2:1 v/v) (Tabela 1). SILVEIRA et al. (2002), concluíram que para a produção de mudas de tomate o pó de coco puro não se revelou bom substrato, pois nele as plântulas não apresentaram bom desenvolvimento.

O substrato vermiculita + sais MS proporcionou um maior comprimento da parte aérea para o IAC701-01 (Tabela 1). No entanto, para aclimatização de mudas de abacaxi a vermiculita apresentou baixa agregação com as raízes, o que afetou negativamente o crescimento das plantas, tanto da parte aérea quanto das raízes (MOREIRA et al., 2001). Em relação ainda a esta variável o IAC701-04 apresentou menor comprimento de parte aérea em pó de coco. Nota-se que o IAC701-01 apresentou as menores médias em relação ao UFC e ao IAC701-04 quando avaliado para cada substrato com os demais genótipos. Para MFPA o UFC apresentou a menor biomassa no substrato vermiculita + sais MS, entretanto o IAC701-01 e obteve maior biomassa, enquanto que para o IAC701-04 o substrato pó de coco + vermiculita (2:1 v/v) foi eficiente no aumento da biomassa. O UFC mostrou as maiores médias nos substratos pó de coco, pó de coco + vermiculita (1:1 e 2:1 v/v) quando comparado com os outros genótipos (Tabela 1).

Os genótipos UFC e IAC701-01 obtiveram as maiores MFR em pó de coco e em pó de coco + vermiculita (1:1 v/v). O IAC701-04 superou os demais quando comparados para cada substrato nesta variável. Para a variável MSPA o IAC701-01 expressou a maior massa seca no substrato vermiculita + sais MS, ao contrário do IAC 701-04 que obteve maiores médias nos substratos vermiculita (1:1 e 2:1 v/v) e vermiculita + sais MS. O genótipo da UFC apresentou os maiores valores, se destacando dos demais, em relação aos substratos testados (Tabela 1).

Verificou-se que os substratos pó de coco + vermiculita (1:1 e 2:1 v/v) expressaram menores biomassa para o IAC701-01 para a MSR, enquanto que a vermiculita + sais MS propiciou uma menor MSR para o UFC quando comparado com os demais genótipos em todos os substratos testados (Tabela 1).

Com relação a aclimatização da espécie *M. arvensis*, os resultados obtidos na tabela 1, demonstram que o pó de coco constitui em material apropriado para ser utilizado na aclimatização das mudas dos genótipos avaliados, uma vez que este substrato proporcionou condições favoráveis para o melhor desenvolvimento das mudas, e também por ser um

subproduto abundante da agroindústria do coco, de ampla disponibilidade no Nordeste do Brasil e de baixo valor no mercado, barateando o custo de produção.

**Tabela 1.** Valores médios de sobrevivência (%), número de brotos, comprimento de raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm), massa fresca (mg) de parte aérea e raiz, massa seca (mg) de parte aérea e raiz por planta na aclimatização de genótipos de *Mentha*

Substrato	Genótipos		
	UFC	IAC701-01	IAC701-04
		Sobrevivência (%)	
PCB	100,00 a A	95,00 a A	100,00 a A
PCBV (1:1 v/v)	100,00 a A	95,00 a A	100,00 a A
PCBV (2:1 v/v)	100,00 a A	95,00 a A	100,00 a A
VMS	100,00 a A	100,00 a A	100,00 a A
CV(%)		5,06	
		Número de brotos	
PCB	8,90 a A	6,35 a AB	4,65 a B
PCBV (1:1 v/v)	10,00 a A	7,10 a AB	5,75 a B
PCBV (2:1 v/v)	10,80 a A	8,25 a AB	5,55 a B
VMS	10,90 a A	8,40 a AB	6,50 a B
CV(%)		27,64	
		Comprimento de raiz (cm)	
PCB	15,60 a A	13,17 ab A	13,75 a A
PCBV (1:1 v/v)	14,87 ab A	12,15 ab A	14,51 a A
PCBV (2:1 v/v)	14,60 ab A	10,77 b B	15,43 a A
VMS	12,11 b A	14,07 a A	13,85 a A
CV(%)		12,46	
		Comprimento de parte aérea (cm)	
PCB	23,05 a A	11,20 b C	15,47 b B
PCBV (1:1 v/v)	23,90 a A	10,75 b C	19,07 a B
PCBV (2:1 v/v)	24,09 a A	9,45 b B	21,49 a A
VMS	22,97 a A	16,35 a B	21,57 a A
CV(%)		12,46	
		Massa fresca de parte aérea (mg)	
PCB	4646,00 a A	1172,00 ab B	757,50 b B
PCBV (1:1 v/v)	4832,35 a A	1220,35 ab B	1159,5 ab B
PCBV (2:1 v/v)	4252,10 a A	868,95 b C	2107,5 a B
VMS	2640,85 b A	2325,55 a A	1790,00 ab A
CV(%)		28,52	
		Massa fresca de raiz (mg)	
PCB	570,80 a B	712,20 a AB	1040,00 a A
PCBV (1:1 v/v)	414,35 ab A	524,05 ab A	655,00 a A
PCBV (2:1 v/v)	192,00 bc B	282,05 b B	890,00 a A
VMS	62,10 c B	303,10 b C	985,00 a A
CV(%)		18,90	
		Massa seca de parte aérea (mg)	
PCB	512,95 a A	203,40 b B	126,25 b B
PCBV (1:1 v/v)	633,00 a A	236,65 b B	174,35 ab B
PCBV (2:1 v/v)	598,50 a A	184,55 b B	200,85 ab B
VMS	513,75 a A	508,75 a A	313,30 a B
CV(%)		25,00	
		Massa seca de raiz (mg)	
PCB	55,50 a A	65,71 ab A	65,00 a A
PCBV (1:1 v/v)	71,95 a A	45,28 b A	52,40 a A
PCBV (2:1 v/v)	76,35 a A	56,83 b A	79,45 a A
VMS	51,05 a B	91,26 a A	74,75 a AB
CV(%)		15,96	

*arvensis*. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey ( $p \leq 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que o pó de coco é um substrato viável na aclimatização de mudas micropropagadas de *M. arvensis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, G.R.; PASQUAL, M.; RESENDE, E.; SCARANTE, M.J.; CARVALHO, G.R. Aclimatização de plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) propagadas "in vitro". **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.3, p.483-490, 1999.

COUTO, M.; WAGNER JÚNIOR, A.; QUEZADA, A.C. Efeito de diferentes substratos durante a aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto mirabolano 29C (*Prunus cerasifera* EHRH.) em casa de vegetação. **Revista brasileira de Agrocência**, v.29, n.2, p. 125-128, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C. et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: CBAB/Embrapa, 1998. p.183-260.

HARARIKA, B.N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Stamford, v.85, n.12, p.1704-1712, 2003.

MAIA, N.B. Efeito da nutrição mineral na qualidade do óleo essencial da menta (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, 81-94, 1998.

MAY, A.; MORAES, A.R.A. de; BOVI, O.A.; MAIA, N.B.; PINHEIRO, M.Q. ***Mentha arvensis* L.** 2007. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2007\\_1/menta/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/menta/index.htm). Acesso em : 12 de março de 2007.

MOREIRA, M.A.; CARVALHO, J.G. de; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C.B.; SILVA, A.B. da. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.462-467, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

ROSA, M.F.; SANTOS, F.J.de.S.; MNOTENEGRO, A.A.T.; ABREU, F.A.P.de; CORREIA, D.; ARAÚJO, F.B.S.de.; NORÕES, E.R.V. **Caracterização do pó da casca de coco verde usado como substrato agrícola**. Fortaleza: EMBRAPA – CNPAT, p.1-6, 2001. (Circular Técnica, 54).

SILVEIRA, E.B.; RODRIGUES, V.J.L.B.; GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; MESQUITA, J.C.P. Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.211-216, 2002.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Mentha arvensis*, aclimatização, pó de coco.

## Efeito das condições de conservação *in vitro* no resgate e micropropagação de plantas de abacaxi.

Taliane Leila Soares<sup>1</sup> Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>2</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, C.P. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072; <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, C.P. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: fernanda@cnpmf.embrapa.br; <sup>3</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com.

A conservação de germoplasma *in vitro* é uma das alternativas usadas atualmente na preservação de recursos genéticos de um grande número de espécies. No entanto as condições estabelecidas na conservação para minimizar o crescimento das plantas pode afetar o resgate e a posterior micropropagação desses materiais. Em experimento anterior foi avaliado o efeito de diferentes concentrações de ABA e sais do MS na limitação do crescimento de plantas *in vitro* com vistas à conservação de germoplasma. Esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito das condições de conservação *in vitro* de abacaxi na micropropagação das plantas, em caso de resgate desses materiais. O efeito posterior da utilização desse regulador durante o período de conservação, na micropropagação das plantas, é ainda, desconhecido. As plantas utilizadas como material vegetal para os ensaios de micropropagação, foram obtidas dos 16 tratamentos em esquema fatorial com 4 concentrações de ABA (0, 1,89, 3,78 e 7,56  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e 4 concentrações de sais de MS (completo, MS/2, MS/3 e MS/4), onde permaneceram em condições de conservação durante um ano. Após este período, as plantas foram transferidas para meio de multiplicação MS, suplementado com 0,01  $\text{mg L}^{-1}$  de ANA e 0,02  $\text{mg L}^{-1}$  de BAP, acrescido com 30  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose, solidificado com ágar a 8  $\text{g L}^{-1}$  e pH ajustado a 5,8, utilizado rotineiramente para a multiplicação *in vitro* de abacaxi. As maiores taxas de multiplicação *in vitro* (43 plantas/explante), foram obtidas com as plantas provenientes do tratamento controle (sem ABA), após o quarto subcultivo. Os menores valores (11 plantas/ explante) foram obtidos com as plantas conservadas no meio contendo 7,56  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ABA, independentemente da concentração de sais. Esses resultados evidenciam um efeito residual dos meios utilizados para a conservação, na micropropagação das plantas. O uso de ABA para minimizar o crescimento das plantas na conservação parece influenciar na emissão de brotos e afetar as taxas de multiplicação.

Palavras chaves

*Ananas comosus* var. *comosus*, regulador de crescimento, micropropagação

## Indução de brotações *in vitro* em segmentos nodais de araticum mirim (*Rollinia emarginata* Schltl.).

Silva, Luciano Coutinho<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva Junior, Jessé Marques<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>3</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: [lucoutsilva@yahoo.com.br](mailto:lucoutsilva@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Depto. Biologia-UFLA, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal-UFLA; <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal-UFLA.

### INTRODUÇÃO

A família das anonáceas é composta por cerca de 40 gêneros e mais de 2.000 espécies. Segundo Manica et al. (2003), os três gêneros mais importantes são *Annona*, *Rollinia* e *Abernona*, que englobam um grupo de plantas frutíferas de importância econômica, composta principalmente por plantas tropicais.

O araticum mirim (*Rollinia emarginata* Schltl.) é uma planta nativa do Brasil. Apresenta folhas lanceoladas, de coloração verde-escura (Figura 1A), com 2,0 cm de largura na parte mediana por 4,0 cm de comprimento. Os ramos são de coloração levemente marrom (Figura 1A). Suas flores possuem formato característico de uma hélice, de coloração creme ou levemente rosado. Os frutos (Figura 1A) são pequenos, cordiformes, lisos ou, em alguns casos, com carpelos salientes, mas sempre bem unidos, podendo atingir 2,0 cm de diâmetro e conter até 15 sementes (Manica et al. 2003).

O araticum mirim é recomendado como porta-enxerto para a Atemoleira (híbrido de *Annona cherimola* x *Annona squamosa*) e Cherimoleira (*Annona cherimola* Mill.), algumas das frutas mais consumidas do gênero *Annona* (Manica et al., 2003).

O desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos vegetais tem sido uma das contribuições mais significativas para o avanço do processo de propagação de inúmeras espécies da família *Annonaceae*. A micropropagação é a técnica alternativa mais utilizada, com a finalidade de obtenção de um grande número de plantas uniformes, independente da época do ano (Borthakur et al., 1999). Pode ser realizada por organogênese ou embriogênese somática.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da benzoinoaminopurina (BAP) na indução de brotações em segmentos nodais de araticum mirim para a obtenção de um protocolo de produção de mudas *in vitro*.



Figura1. Aspectos de folhas, ramos e fruto (A), plantas em sala de crescimento (B).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia.

Segmentos nodais obtidos de plantas matrizes conduzidas em sala de crescimento (Figura 1B) foram desinfestados em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e hipoclorito de sódio 50% (v/v) com 2% de cloro ativo por 15 minutos. Em câmara de fluxo laminar, segmentos de 1,5 a 2,0 cm de comprimento e contendo apenas uma gema, foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 6,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Após a inoculação, os tubos foram transferidos para sala de crescimento com intensidade luminosa de 56 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C, onde permaneceram por 30 dias antes das avaliações. Os tratamentos utilizados foram: T0- MS; T1- MS + 0,5 mg L<sup>-1</sup> BAP; T2- MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> BAP; T3- MS + 1,5 mg L<sup>-1</sup> BAP; T4 MS + 2,0 mg L<sup>-1</sup> BAP. Foram avaliados o número de brotações e o comprimento da maior brotação.

O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos para os caracteres avaliados (Tabela 1). A utilização do BAP nas concentrações testadas proporcionou aumento significativo na indução de brotos em relação à testemunha.

Tabela 1. Efeito das concentrações de BAP no número de brotações e comprimento médio da maior brotação em segmentos nodais de *Araticum Mirim* (*Rollinia emarginata* Schtdl.) aos 30 dias de cultivo.

TRATAMENTO	Nº. de	COMPRIMENTO MÉDIO DA MAIOR
	BROTAÇÕES	BROTAÇÃO (cm)
	30 dias	30 dias
T0- MS	1,80 c	2,20 b
T1- MS + 0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	3,26 b	3,80 a
T2- MS + 1,0 mg L <sup>-1</sup> BAP	3,20 b	1,60 c
T3- MS + 1,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	4,00 a	1,10c
T4 MS + 2,0 mg L <sup>-1</sup> BAP -	4,06 a	0,95c

Valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

O melhor resultado para número de brotações (4,06 brotos por explante) foi obtido na presença de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (Figura 2E). Os brotos formados, contudo, apresentavam-se irregulares, curtos e anormais.



Na ausência do regulador de crescimento obteve-se um menor número de brotações (Figura 2A), porém, de aspecto normal. Com o aumento da concentração de BAP no meio de cultura, constatou-se um incremento no número de brotações, em detrimento da diminuição do tamanho das mesmas.

Oliveira, et al (2003), estudando o efeito de BAP na multiplicação *in vitro* de copaíba, verificaram que concentrações acima de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  ocasionaram declínio no percentual de brotações, bem como no tamanho.

Em estudos de micropropagação de *Annona glabra* L., Deccetti et al. (2005), observaram que concentrações até  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP proporcionaram brotações de maiores comprimentos, concordando os resultados obtidos neste trabalho.

Para a variável tamanho médio de brotações o melhor tratamento foi T1 ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP), que originou brotos de 3,8 centímetros. À medida que a concentração da citocinina foi aumentada, constatou-se um decréscimo no comprimento dos brotos, como pode ser observado nos tratamentos T2 ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP), T3 ( $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP) e T4 ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP), com valores de 1,6 cm, 1,1 cm e 0,96 cm, respectivamente (Figura 2 C, 2D e 2E).

Confirmando esses resultados, Machado et al. (2006), utilizando concentrações crescentes de BAP, observaram um menor comprimento das brotações, nos tratamentos a partir de  $5 \mu\text{M}$  ( $\pm 1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ).

O aumento no número de brotações, acompanhado da redução do comprimento, não é desejável ao passo que dificulta a separação dos brotos para posteriores etapas de multiplicação e microestaquia como pode ser constatado nos tratamentos com 1,5 e 2,0  $\text{mg L}^{-1}$  de BAP (Figura 2D e 2E), respectivamente.

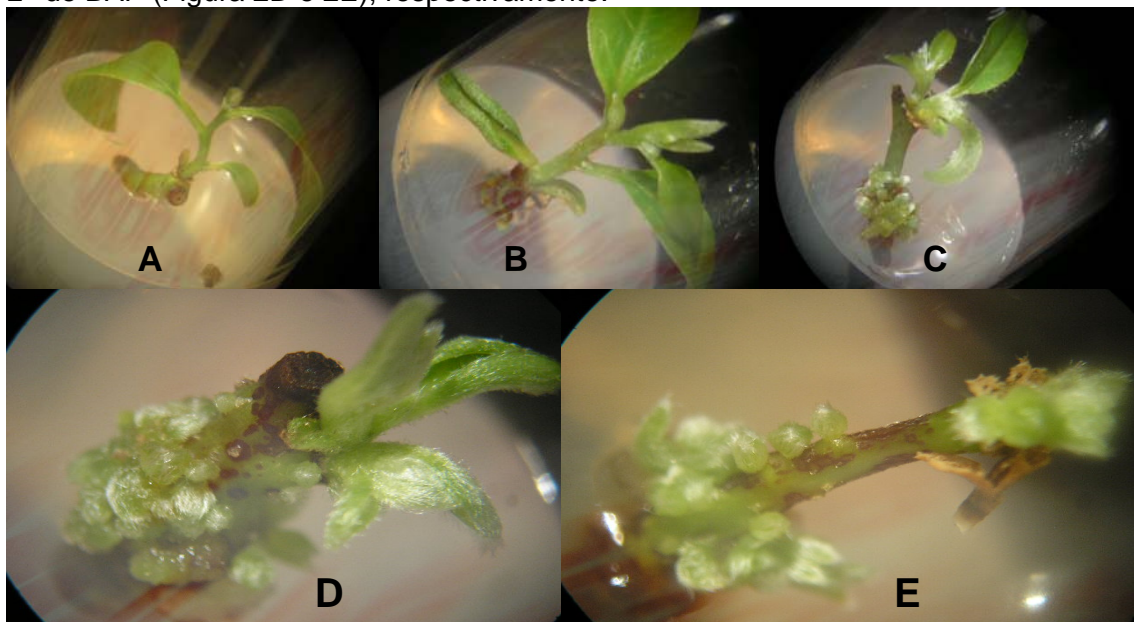


Figura 2: MS=testemunha (A), MS +  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP (B), MS +  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP (C), MS +  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP (D), MS +  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP (E).

## CONCLUSÃO

O regulador de crescimento BAP é eficiente na indução de brotações em segmentos nodais de araticum mirim (*Rollinia emarginata* Schltdl.) quando utilizado na concentração de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Em concentrações superiores, ocorre diminuição do comprimento das mesmas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



BORTHAKUR, M.; HAZARIKA, J.; SINGH, R. S. A protocol for micropropagation of *Alpinia galanga*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 3, p. 231-233, 1998.

DEC CETI, S. F. C; PAIVAI, R.; PAIVA, P. D. O & ALOUFA, M. A. I. La micropropagation d' *Annona glabra* L. à partir de segments nodaux. **Fruits**, v. 60, p. 319-325. 2005

FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.3 – Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

MACHADO, M. P. ; BIASI, L. A. ; RITTER, M.; RIBAS, L. L. F. & KOEHLER, H. S. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira vr043-43 (vitis vinifera x vitis rotundifolia). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 648-655, jul./ago., 2006.

MANICA, I.; ICUMA, I.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JUNIOR, M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre, Cinco continentes Editora, 2003. 596p.

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

OLIVEIRA, C. de S.; VIEIRA, I.M.S.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; BARBOSA, A. do S.A. Resposta *in vitro* em segmentos apicais de copaíba (*Copaifera multijuga* HAYNE). In: **SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 1. SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNICA ORIENTAL**, 7, 2003, Belém, PA. Resumos Expandidos. Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA. 2003. CD-ROM.

PALAVRAS-CHAVES

*Rollinia emarginata* Schldl., regulador de crescimento, micropropagação.

## Uso de reguladores de crescimento na indução de brotações em segmentos nodais de Jambo Amarelo (*Syzygium jambos* (L.) Alston).

Silva, Luciano Coutinho<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva Junior, Jessé Marques<sup>3</sup>; Moreira, Cleílton Vasconcelos<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: lucoutsilva@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professor Associado do Depto. Biologia-UFLA, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal-UFLA.

### INTRODUÇÃO

*Syzygium jambos* (L.) Alston é uma árvore perenifólia, de 10-15 metros de altura, originária da Índia e Malásia. Apresenta tronco curto, revestido por casca pardo-escura, de superfície irregular, com ramagem densa, formando uma copa arredondada. Suas folhas são simples, opostas e, quando novas, apresentam-se róseo-avermelhadas, tornando-se mais tarde, verde-brilhantes. As inflorescências são terminais curtas, com flores grandes e branco-esverdeadas, contendo numerosos estames longos, formadas entre os meses de setembro e outubro. Os frutos possuem forma globosa, do tipo drupa, com cálice persistente. São branco-amarelados ou róseo-esbranquiçados, aromáticos, de polpa comestível, contendo uma única semente marrom e igualmente esférica (Lorenzi, 2003).

As sementes de jambo são recalcitrantes e por isso, perdem a viabilidade rapidamente. Apresentam poliembrionia, podendo dar origem a mudas múltiplas, passíveis de serem separadas quando jovens (Trade Winds Fruit, 2007).

Segundo Bonga (1985), por ser de manipulação relativamente fácil, principalmente devido ao tamanho do explante utilizado, e por originar plantas geneticamente mais estáveis, a proliferação de gemas axilares é a técnica mais utilizada para a micropropagação de plantas lenhosas.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar o uso dos reguladores de crescimento 6-benzil-aminopurina (BAP) e ácido 1-naftaleno acético (ANA) na indução de brotações em segmentos nodais, para o estabelecimento de um protocolo de propagação *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia.

Foram utilizados como explantes primários para a micropropagação, segmentos nodais de aproximadamente 1,5 a 2,0 cm de comprimento contendo de uma a duas gemas, derivados de plântulas germinadas *in vitro* (Figura 1A).

Para a obtenção das plântulas, sementes de jambo amarelo foram retiradas dos frutos maduros colhidos diretamente da planta-mãe. Para a desinfestação, as sementes, providas de tegumento, foram mantidas em água corrente por 15 minutos e lavadas com detergente neutro. A seguir, em câmara de fluxo laminar, foram imersas em álcool 70% (v/v) por um minuto, em hipoclorito de sódio 50% (v/v) com 2% de cloro ativo por 15 minutos e lavadas por três vezes em água destilada estéril. O meio de cultura utilizado foi o Wood Plant Medium (WPM), definido por Lloyd e McCown, (1980), solidificado com 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Foi inoculada uma semente por frasco. Os frascos permaneceram em sala de crescimento com intensidade luminosa de 56 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> sob fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C, durante 45 dias.

Após esse período, em câmara de fluxo laminar, as plântulas foram repicadas e inoculados três segmentos nodais por frasco (Figura 1 B), contendo cada, 30 mL de meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 30,0

g L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Os frascos foram transferidos para sala de crescimento com intensidade luminosa de 56 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> sob fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C, onde permaneceram por 30 dias. Foram avaliados o número médio de brotações e o número médio de folhas. Foram testados dez tratamentos. T0 testemunha com ausência de reguladores de crescimento. T1, T2, T3 e T4 receberam as seguintes concentrações crescentes de BAP (0,5), (1,0), (2,0) e (4,0) mg L<sup>-1</sup> respectivamente. O tratamento T5 recebeu apenas ANA, na concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> e para os tratamentos T6, T7, T8 e T9, fixou-se a concentração do regulador de crescimento ANA em 0,5 mg L<sup>-1</sup> e variaram-se as concentrações de BAP em (0,5), (1,0), (2,0), (4,0) mg L<sup>-1</sup> respectivamente. Foram utilizados cinco frascos por tratamento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído por cinco repetições e cada repetição foi composta por três explantes. O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados a 5% de probabilidade pelo Teste Scott Knott.

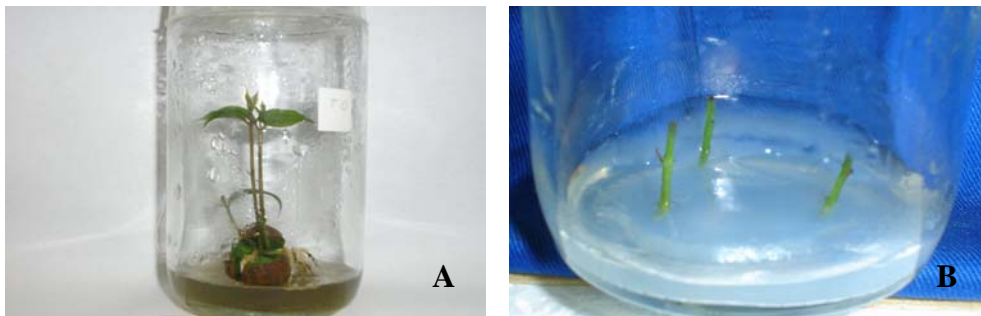


Figura 1. Plântulas *in vitro* (A), segmentos nodais com uma ou duas gemas (B).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças significativas na interação BAP x ANA, somente para BAP e ANA isoladamente.

O tratamento que proporcionou os maiores índices de brotações foi de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (Figura 2), na ausência de ANA, com média de 1,53 brotações por segmento em detrimento das concentrações de 3,0 mg L<sup>-1</sup> e 4,0 mg L<sup>-1</sup> respectivamente.

Moura *et al.* (2001), estudando efeito do BAP na organogênese *in vitro* de limão-'Cravo', encontrou resultados semelhantes na indução de brotações utilizando uma concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, obtendo duas brotações por explante e, na organogênese *in vitro* de laranja-'Pêra', verificou-se que as concentrações de 1,0 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, apresentaram o melhor resultado com um número médio de brotações por explante de 2,53 e 2,62, respectivamente.

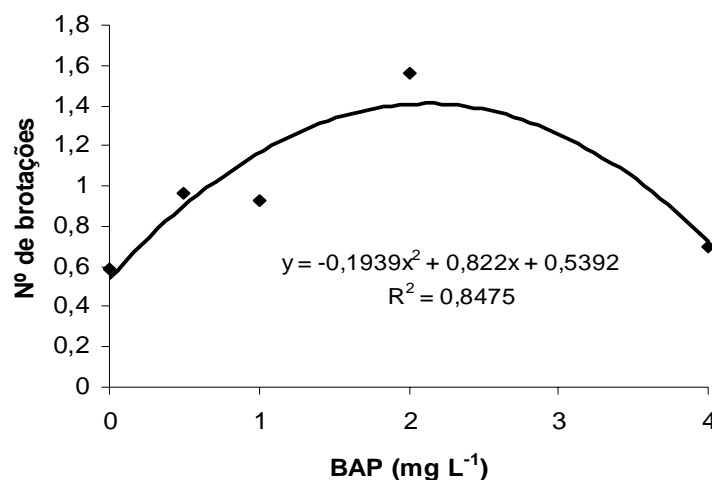


Figura 2. Número de brotação em função de diferentes concentrações de BAP.

A mesma tendência pode ser constatada em relação ao número de folhas. A concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, na ausência de ANA, apresentou o melhor resultado, com número médio de folhas de 5,17 folhas por segmento nodal, enquanto que a presença de ANA apresentou 1,4 folhas por segmento nodal (Figura 3).

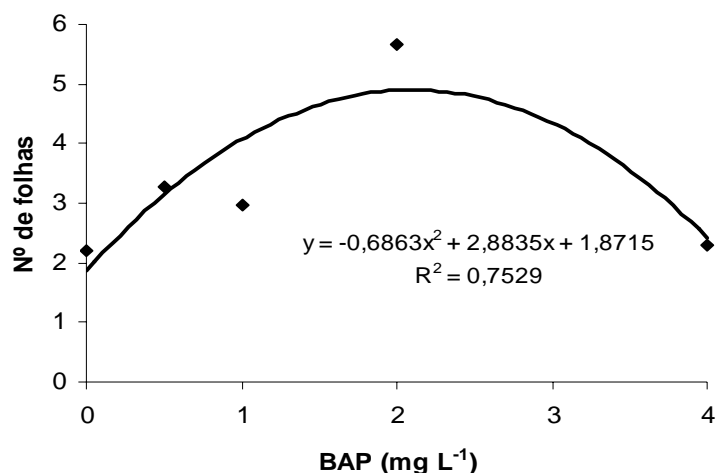


Figura 3. Número de folhas em função de diferentes concentrações de BAP.

Analisando o efeito do regulador de crescimento ANA isoladamente, pode-se constatar que a sua presença inibiu a formação de brotos e folhas (Figuras 4). Talvez a concentração de auxina endógena fosse suficiente para a manutenção do explante, e a adição de uma fonte exógena de auxina, promoveu um declínio no número de brotações e folhas. Resultados semelhantes obtidos por Lane (1978) citado por Giacobbo *et al.* (2003), indicou não ser necessária a aplicação de auxina exógena para a proliferação de brotos e que a adição das concentrações de 0,1 e 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de ANA inibiu a proliferação de brotações.

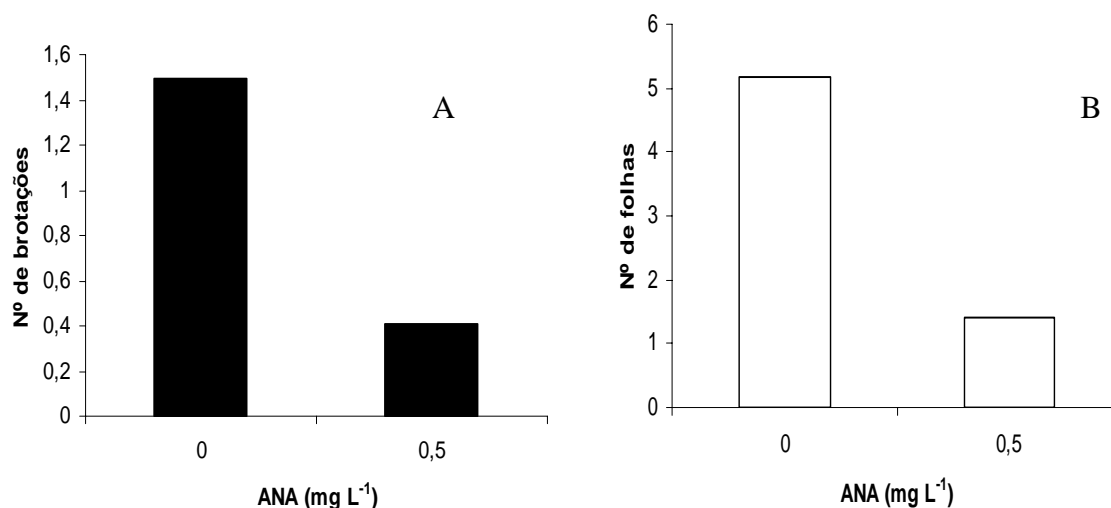


Figura 4. Número de brotações (A) e de folhas (B) em função da presença e ausência da auxina ANA.

#### CONCLUSÃO

O regulador de crescimento BAP, na concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup>, é eficiente no incremento do número de folhas e brotações em segmentos nodais de jambo amarelo.

A presença do regulador de crescimento ANA inibiu a formação de brotos e folhas em segmentos nodais de jambo amarelo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONGA, J.M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J.M., DURZAN, D.J. **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985, p.4-35.

FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.3 – Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

GIACOBBO, Clevison L.; GOMES, Fernando R. C.; KROTH, Leandro L.; CONCEIÇÃO, Melissa K.; FORTES, Gerson R. de L. Multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de macieira cv. marubakaido (*Malus prunifolia* willd, borkh) com diferentes níveis de benzilaminopurina e ácido naftalenacético. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 1, p. 31-33, 2003.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v.15, 416 (abst. 321), 1980.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; TORRES, M.A.V.; BACHER, L.B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, 2003. 368 p.

MOURA, T.L.; ALMEIDA, W.A.B.; MENDES, B.M.J.; MOURÃO FILHO, F.A.A. Organogênese *in vitro* de *citrus* em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p.240-245, 2001.

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

Trade Winds Fruit. Rose Apple. Disponível [www.tradewindsfruit.com/rose\\_apple.htm](http://www.tradewindsfruit.com/rose_apple.htm)  
Acesso em: 11/04/2007, as 9h e 36min.

## PALAVRAS-CHAVES

*Syzygium jambos* (L.) Alston, BAP, ANA, brotações.

## Organogênese direta *in vitro* de explantes foliares de *Physalis angulata* L. – uma espécie medicinal<sup>1</sup>.

Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>2</sup>; Guedes, Rodrigo da Silva<sup>3</sup>; Fermino-Jr., Paulo César Poeta<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

<sup>2</sup>Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL - C.P. 321, 69.908-970 Rio Branco, AC. e-mail: jonny@cpafac.embrapa.br; <sup>3</sup>Mestrando em Agronomia - Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC. <sup>4</sup>Professor do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Acre – UFAC.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Physalis angulata* L. pertence à família das Solanaceae e inclui cerca de 120 espécies de características herbáceas e hábito perene (Kissmann & Groth, 1995). Possui distribuição cosmopolita tropical, ocorrendo desde o sul da América do Norte até a América do Sul, com centros de diversidade no México, Estados Unidos e na América Central (Hunziker, 2001), sendo largamente empregada na medicina popular de vários países, principalmente os da América do Sul. Considerada medicinal em vários países, destaca-se pela presença de vitaesteróides, como nicandrenona, vitanolídeo, fisalinas e neofisalinas (Ray & Gupta, 1994; Tomassini et al., 2000). Alguns estudos indicam que *P. angulata* possui atividade antineoplásica e antitumoral, além de conter alcalóides tropânicos e pirrolidínicos, como higrina e tropinona (Romeike, 1965, 1966; Ribeiro et al., 2002). Extrato de *Physalis angulata* L. tem sido usado na medicina popular em Taiwan para o tratamento de tumores (Juang et al., 1989). O chá de *P. angulata* é usado no tratamento de inflamações no fígado e malária (Di Stasi et al., 1989), além de possuir atividade anti-bacteriana (Pietro et al., 2000).

Neste contexto, devido à importância da espécie, estudos de calogênese e regeneração *in vitro* de *P. angulata* para a obtenção de matéria-prima se fazem necessários, especialmente por tratar-se de uma espécie comumente encontrada em regiões da Amazônia Ocidental brasileira. Este trabalho teve por objetivo avaliar a ação de citocininas na regeneração direta a partir de explantes foliares de *Physalis angulata* L.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados frutos de plantas sadias de camapu (*Physalis angulata* L.) nas dependências do campo experimental da Embrapa Acre, no mês de novembro de 2005. Logo após, os frutos foram transportados ao laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular, passando por uma desinfestação parcial apenas dos frutos, sendo as sementes colocadas para germinarem em sais e vitaminas do meio de MS.

Após 40 dias de cultivo, segmentos foliares de aproximadamente 1,0cm<sup>2</sup> foram inoculados em frascos com 30 mL de meio MS, acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, suplementados com 0, 5 e 15 µM das citocininas BAP, Cinetina, TDZ e 2iP. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento à temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas e radiação luminosa de 30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. As avaliações foram feitas após 30 e 60 dias, observando-se o percentual de explantes com respostas regenerativas; e o número de brotações regeneradas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 repetições e cinco explantes por parcela, em fatorial 3x4 (concentrações x tipos de reguladores). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5%, utilizando o programa Sanest.

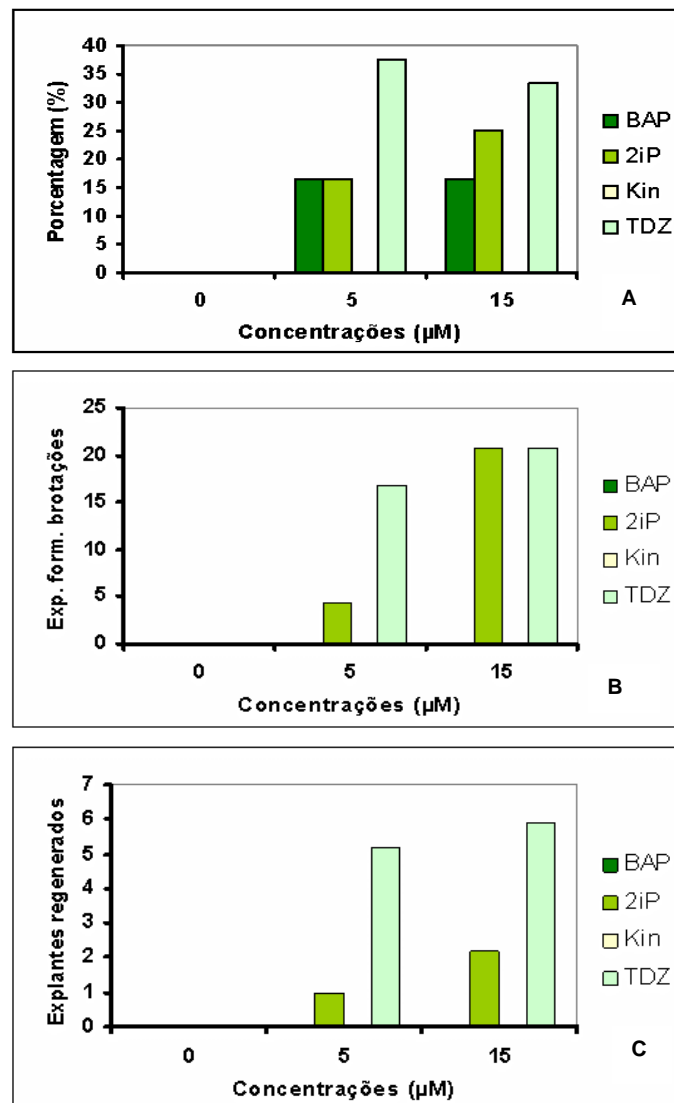
### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após 30 dias de cultivo, observaram-se respostas regenerativas nos explantes quando se utilizou as citocininas BAP, TDZ e 2iP, sendo que TDZ foi a que induziu as

melhores respostas, tanto nas concentrações de 5 e 15  $\mu\text{M}$  (Figura 1A). Não se observou nenhum efeito organogênico da cinetina (CIN) sobre os explantes.

Quando se verifica a porcentagem de explantes formando brotações aos 60 dias de cultivo, observa-se que tanto TDZ como 2iP foram eficientes em regenerar brotações (Figura 1B). No entanto, o TDZ foi superior ao 2iP, pois além de promover a regeneração, também proporcionou a formação de maior número de brotações quando comparado ao 2iP.

Assim, após 60 dias de cultivo, observou-se a quantidade de 5 e 6 brotações regeneradas nas concentrações de 5 e 15  $\mu\text{M}$ , respectivamente (Figura 1C). Segundo Malik & Saxena (1992), entre as várias citocininas ou compostos com atividade tipo citocinina testados, o TDZ foi o mais efetivo na indução de formação de brotos em ervilha (*Pisum sativum* L.). Muitos trabalhos têm sido realizados com diversas dosagens de TDZ em várias espécies de plantas (SUTTER et al., 1997). Já as citocininas como a 6-benzilaminopurina (BAP) promovem a formação de brotos e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação, ao passo que a CIN e o 2iP normalmente permitem o crescimento normal, no entanto, sem a formação de múltiplas brotações (HU e WANG, 1983).



**Figura 1:** Respostas organogênicas com o uso de diferentes citocininas. Porcentagem de explantes com respostas regenerativas aos 30 dias (A); explantes formando brotações aos 60 dias (B); número de brotos regenerados aos 60 dias (C).





**Figura 1:** Sementes com 20 dias de cultivo (a); plantas de camapu com 40 dias de cultivo (b); explantes utilizados no experimento 1,0 x 1,0 cm (c); tratamento TO com intenso enraizamento (d); seqüência de desenvolvimento dos explantes com 2iP (e); setas indicam pontos de regeneração em explantes com 2iP (f); explantes em 2iP em estágio mais avançado de regeneração (g); aspecto de explantes enraizados na presença de cinetina (h); regeneração direta dos explantes cultivados com TDZ (i); explantes cultivados com TDZ em estágio mais avançado de regeneração (j); repicagem de plantas regeneradas, com 1 dia de cultivo (l); aspecto das brotações repicadas, aos 15 dias (m).

## CONCLUSÃO

Dentre todas as citocininas testadas, o TDZ, BAP e 2iP apresentaram os resultados mais significativos. No entanto, o TDZ foi superior ao 2iP, pois além de promover a regeneração, também proporcionou a formação de maior número de brotações quando comparado ao 2iP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DI STASI, L. C.; SANTOS, E. M. G.; DOS SANTOS, C. M.; HIMURA, C. A. Plantas medicinais da Amazônia. **Editora Unesp**, São Paulo, 45-46, 1989.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip, and bud cultures. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of Plant Cell Culture**. New York: MacMillan, 1983. v. 1, p. 177-227.

HUNZIKER, A. T. The genera of Solanaceae. *Ruggell*: A. R. G. **Gantner Verlag** K. G. 2001.

JUANG, J. K.; HUANG, H. W.; CHEN, C. M.; LIU, H. J. A new compound, withangulatin A, promotes type II DNA topoisomerase-mediated DNA damage. **Biochem Biophys Res Commun**. 159: 1128-1134, 1989.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. 1995. Plantas Infestantes e Nocivas, Tomo III, BASFSA, p. 485-487. **Annals of Botany**, London, v. 62, p. 271-276, 1988.



MALIK, K. A.; SAXENA, P. K. Thidiazuron induces high frequency shoot regeneration in intact seedlings of pea (*Pisum sativum*) chickpea (*Cicer arietinum*) and lentil (*Lens culinaris*). **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.19, n.6, p.731-740, 1992.

PIETRO, R. C. L. R.; KASHIMA, S.; SATO, D. N.; JANUÁRIO, A. H.; FRANÇA, S. C.; *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. **Phytomedicine** 7: 335-338. 2000.

RAY, A. B.; GUPTA, M. Withasteroids, a growing group of naturally occurring steroidal lactones. In W HERZ, G. W.; KIRBY, R. E.; MOORE, W Steglich, CH Tamm (eds), **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, Springer Verlag, Austria, p. 2-13 and 56-58. 1994.

RIBEIRO, I. M.; SILVA, M. T. G.; SCARES, R. D. A.; STUTZ, C. M.; BOZZA, M.; TOMASSINI, T. C. B. *Physalis angulata* L. antineoplastic activity, *in vitro*, evaluation from its stems and fruit capsules. **Rev Bras Farmacogn** 12(Supl): 21-22. 2002.

ROMEIKE, A. Occurrence of hygrine in the roots of *Nicandra physalodes*. **Pharmazie** 20: 738-739. 1965.

ROMEIKE, A. 1966. Presence of tropinone in *Nicandra* roots. **Naturwissenschaften** 53: 82-.

SUTTER, E. G.; AHMADI, H.; LABAVITCH, J. M.; ALTMAN, A.; ZIV, M. Direct regeneration of disks. **Acta Horticulturae**. 1997.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Genus *Physalis* - A revision of withasteroids. **Quím. Nova** 23: 47-57. 2000.

PALAVRAS-CHAVE: *Physalis angulata*; citocininas; regeneração; plantas medicinais, Amazônia.

## Perda de água de tecidos foliares de *Annona glabra* L. submetidos a diferentes ambientes de cultivo *in vitro*.

Silva, Luciano Coutinho<sup>1</sup>; Soares, Ângela Maria<sup>2</sup>; Moreira, Cleílton Vasconcelos<sup>3</sup>; Barbosa, João Paulo Rodrigues Alves Delfino<sup>4</sup>; Paiva, Renato<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: [lucoutsilva@yahoo.com.br](mailto:lucoutsilva@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora do Depto. Biologia-UFLA; <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal; <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal-UFLA; <sup>5</sup>Professor Associado do Depto. Biologia-UFLA, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A *Annona glabra* L. é natural da América do Sul (Le et al., 1998). A espécie possui capacidade de adaptação a diversos ambientes, com habilidade de sobrevivência em extremos de temperatura (Sentellas et al. 1996; Mai, 1995) e habitat inundado (Pérez et al., 1993; Croat, 1978), indicando capacidade de adaptação estrutural e funcional ao ambiente.

Esta espécie produz frutos comestíveis e é também utilizada, segundo Manica et al. (2003), como porta-enxerto para a Atemoleira, Graviroleira e Cherimoleira, algumas das frutas mais consumidas do gênero *Annona*.

Uma das etapas cruciais da cultura de tecidos de plantas é a aclimatização onde, geralmente, ocorre baixo índice de sobrevivência das brotações devido à perda de água dos tecidos, especialmente os foliares. O presente trabalho teve por objetivo, analisar a perda de água de tecidos foliares de *Annona glabra* L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas localizado no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizados como explantes primários para a micropropagação (fase de multiplicação) segmentos nodais contendo apenas uma gema e tamanho aproximado de 1,5 a 2,0 cm, derivados de plantas matrizes mantidas sob condições controladas em sala de crescimento.

Para a desinfestação, os explantes foram mantidos em água corrente por 40 minutos e lavados com detergente. A seguir, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70% (v/v) por um minuto, em associação com a imersão em hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 15 minutos e lavados por três vezes em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, os explantes foram mantidos em solução de ácido ascórbico (200 mg L<sup>-1</sup>) por 20 minutos. Os segmentos nodais foram inoculados em frascos contendo 30 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 20,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,0 antes da autoclavagem. Após a inoculação, os frascos foram colocados no escuro por um período de 15 dias. Após esse período, os frascos foram levados aos seus ambientes de cultivo, onde permaneceram por mais 30 dias, totalizando então 45 dias de cultivo *in vitro* antes das análises de perda de água.

Foram utilizados dois sistemas de vedação dos frascos e dois ambientes de cultivo: frascos vedados com tampas plásticas transparentes e selamento com parafilme, que restringem as trocas de gases entre o recipiente e a atmosfera externa caracterizando sistema convencional (Figura1A) e tampas plásticas modificadas, contendo um par de orifícios (10 mm de diâmetro) cobertos por dois filtros de membranas permeáveis a gases (Milliseal, Millipore, Tokyo) (Figura1B) com poros de 0,5 µm, que aumentam a ventilação no recipiente de cultivo. Os frascos com as brotações foram mantidos em dois ambientes: sala de crescimento (Figura1C) sob condições de alta irradiância (300 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) em temperatura de 25°C ± 1°C e em casa de vegetação (Figura1D), sob iluminação e temperatura natural. Na casa de vegetação, os frascos foram mantidos sobre uma bancada

aberta, a cerca de 1,5 m de altura, e sob tela sombrite que permite uma interceptação de 70% da luz solar incidente.

O ambiente da casa de vegetação foi caracterizado por um piranômetro acoplado a um datalogger (LI – 1400 – LI-COR, Lincoln, Neb.) e por um termohigrógrafo durante uma semana em março e uma semana em maio de 2006. Os valores médios observados das características avaliadas foram: temperatura máxima de 36°C + 1°C, temperatura mínima de 26°C + 2 °C, umidade relativa do ar máxima de 59% + 8% e mínima de 35% + 8%. A radiação global média, na altura do recipiente de cultivo, foi de 520  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

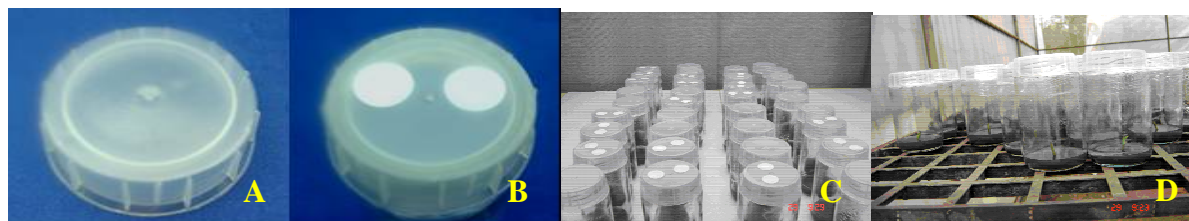


Figura 1. Tampa plástica convencional (A), tampa plástica com Millipore com ventilação natural (B), frascos em sala de crescimento (C) e frascos em casa de vegetação (D).

Para determinar a perda de água dos tecidos, discos foliares de 10 mm<sup>2</sup> foram pesados em intervalos de 10 minutos, durante um período de 120. Foram utilizados seis discos foliares (folhas expandidas) para cada tratamento. No final do período, os discos foram submetidos à secagem em estufa a 60 °C por 48 horas para obtenção da massa seca. Os valores de perda de água foram expressos como porcentagem do conteúdo total de água do tecido foliar. Para fins de comparação, também foram retirados discos foliares das plantas matrizes conduzidas em sala de crescimento e das plantas cultivadas a pleno sol.

Os experimentos, instalados em delineamento inteiramente casualizado, foram constituídos por seis tratamentos de cultivo *in vitro*, num fatorial de dois (ambientes: sala de crescimento e casa de vegetação) x dois (sistemas de vedação do recipiente de cultivo), sendo que as plantas a pleno sol e as plantas matrizes foram tratamentos adicionais, tidos como testemunhas.

O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias pelo Teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A perda de água dos tecidos foliares após a retirada das brotações dos recipientes de cultivo, ao final da fase de multiplicação, mostra a influência do sistema de vedação e do ambiente de cultivo (Figura 2). Observa-se que a perda de água das brotações cultivadas em recipientes com vedação convencional, independente do ambiente, ocorre de maneira mais acentuada nos primeiros minutos de avaliação, em relação às brotações cultivadas com sistema de ventilação natural, sendo as diferenças progressivamente acentuadas com o aumento no tempo de exposição.

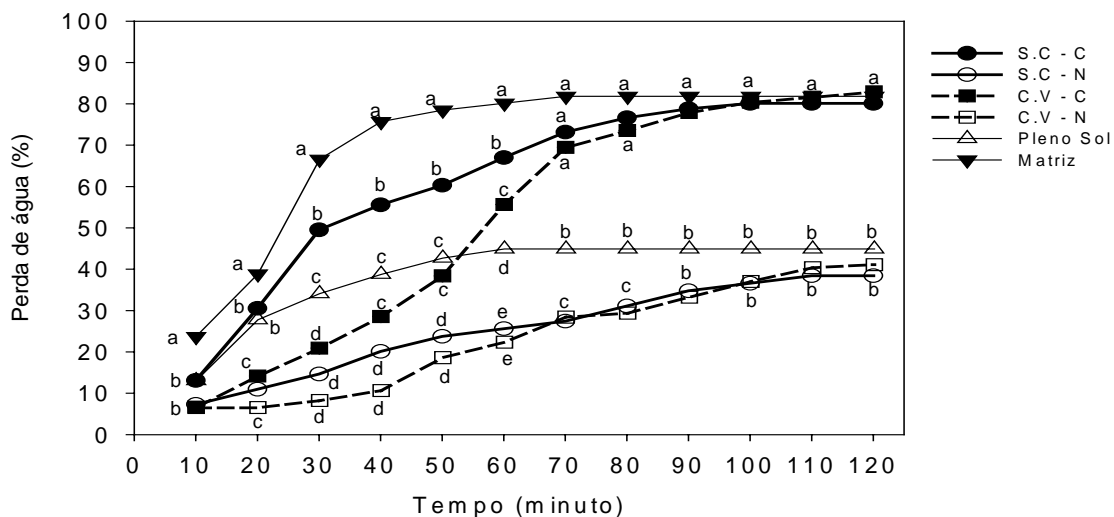


Figura 2. Porcentagem de perda de água durante 120 minutos de exposição à umidade relativa de 50 - 60 % das folhas de *Annona glabra* L. desenvolvidas *in vitro* sob sistema de vedação convencional (C) ou ventilação natural (Millipore) (N) e em sala de crescimento (S.C) e casa de vegetação (C.V) e de plantas *in vivo* em ambiente natural (Pleno Sol) ou sala de crescimento (Matriz). Cada ponto representa a média de quatro repetições. Em cada tempo de determinação, as diferentes letras indicam diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Ao final da avaliação, a perda total de água foliar das brotações cultivadas sob sistema de vedação convencional é de cerca de 80%, valor igual ao observado para as plantas *in vivo* cultivadas na sala de crescimento ( $P < 0,05$ ). Para as brotações cultivadas sob ventilação natural (Millipore) e aquelas cultivadas *in vivo* no ambiente natural (Pleno sol) a perda de água não ultrapassa os 30% ao final do período de determinação, o que representa menos da metade da quantidade de água perdida no mesmo período pelas brotações que se desenvolveram sob sistema de vedação convencional ou as plantas matrizes.

De acordo com os resultados, é possível observar que as brotações cultivadas em casa de vegetação apresentam uma menor velocidade inicial de perda de água, em relação às brotações cultivadas em sala de crescimento, que, independente do sistema de vedação dos recipientes, perdem água mais rapidamente, no início do período de avaliação. Esses resultados podem indicar uma maior resistência à perda de água das brotações cultivadas em casa de vegetação.

Os resultados obtidos permitem afirmar que uso de ventilação natural, durante o cultivo *in vitro* da *Annona glabra*, principalmente aliado a maiores irradiâncias, aumenta a capacidade das brotações para controlar as perdas de água quando são posteriormente expostas a um ambiente com baixa umidade relativa. A influência da utilização de umidades mais baixas do que as convencionais sobre a capacidade da planta controlar a perda de água também tem sido descrita em outras espécies cultivadas *in vitro*, como *Prunus cerasifera* (Sciutti e Morini, 1995) e *Malus domestica* (Brainerd e Fuchigami, 1981).

Segundo Capellades et al. (1990), o aumento na intensidade luminosa e a redução na umidade relativa do ar durante o cultivo *in vitro* induzem as mesmas modificações anatômicas observadas nas plantas durante o período de aclimatização na casa de vegetação, como o aumento na deposição de cera epicuticular e redução no tamanho e na frequência dos estômatos. O aumento na capacidade de controle da perda de água pode ser de extrema importância para prevenir a dessecação das brotações de *Annona glabra* L. durante a aclimatização e garantir a sua sobrevivência após a transferência para o ambiente natural.

## CONCLUSÃO

As folhas das brotações, que se desenvolvem sob sala de crescimento e sistema convencional de vedação do frasco, perdem alta quantidade de água quando são retiradas dos recipientes de cultivo. A perda de água diminui nas folhas que se desenvolvem sob ventilação natural (Millipore), principalmente aliado à alta irradiância e em casa de vegetação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAINERD, K.E.; FUCHIGAMI, L.H.; KWIATKOWSKI, S.; CLARK, C.S. Leaf anatomy and water stress of aseptically cultured 'Pixy' plum grown under different environments. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.2, p. 173-175, 1981.

CAPELLADES, R.; FONTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosa multiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.115, n. 1, p. 141-145, 1990.

CROAT, T. **Flora of Barro Colorado Island**. Stanford University Press, Stanford, CA, 943p., 1978.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.3 – **Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

LE, H.T.; HANCOCK, J.F.; TRINH, T.T. The fruit crops of Vietnam: introduced species and their native relatives. **Fruit Varieties Journal**. v.52, n.3, p. 158-168, 1998.

MAI, T.T. Fruit trees in Vietnam. **Chronica Horticulturae**, v.35. n.3, p. 8-9, 1995.

MANICA, I.; ICUMA, I.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JUNIOR, M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre, Cinco continentes Editora, 2003. 596p.

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

PÉREZ, N.D.; FONSECA, R.M.; PÉREZ, L.L.; HERNANDEZ, F.L. Vegetacion de las lagunas costeras y zonas inundables del Estado de Guerrero, Mexico. **Brenesia**, v. 39-40, p. 7-28, 1993.

SENTELHAS, P.C.; PÍZA, C.T.J.; SIGRISTI, J.M.M.; KAVATI, R.; PARODI, M.T. Temperatura letal de diferentes plantas frutíferas tropicais. **Bragantia**, Campinas, v.55, n.2, p. 231-235, 1996.

SCIUTTI, R.; MORINI, S. Water loss and photosynthesis of plum plantlets is influenced by relative humidity during rooting in vitro. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.70, n.2, p.221-228, 1995.

## PALAVRAS-CHAVES

*Annona glabra* L., perda de água, tecidos foliares.

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG<sup>1</sup> pela concessão de bolsa de Iniciação Científica e ao financiamento de pesquisa.

---

<sup>1</sup> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.

## Luminosidade e interação de reguladores de crescimento na micropropagação de gerânio (*Pelargonium graveolens* L)\*

Oliveira, Ana Catarina Lima de<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fatima<sup>2</sup>; Fonseca, Valéria O.<sup>1</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFS - Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos - DEA, Av. Marechal Rondon s/n, 49100-000 São Cristóvão-SE; <sup>2</sup>UFS - Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas - 49500-000 Itabaiana-SE. E-mail: arrigoni@ufs.br.

### INTRODUÇÃO

Conhecida como gerânio ou malva-cheirosa é uma planta utilizada tanto como ornamental quanto para produção de óleos essenciais. Seu aroma quente e doce, semelhante ao de pétalas de rosa é comercialmente conhecido como óleo de gerânio e amplamente usado em sabonetes e nas indústrias de perfumaria e cosmético (Satyakala et al., 1995), na aromaterapia atuando no sistema nervoso como tônico ou sedativo e na medicina popular como expectorante, calmante, emoliente e infecções de garganta e brônquios (Martins et al., 1998).

Diferentes espécies e cultivares possuem características genéticas próprias que as fazem responderem diferentemente ao cultivo *in vitro*. As diferenças na capacidade de regeneração e multiplicação podem ser explicadas pelo tipo de explante utilizado (Pereira e fortes, 2001). São comuns os efeitos da posição e idade dos explantes sobre a regeneração e multiplicação. A homogeneidade dos explantes é de fundamental importância na precisão da estimativa de multiplicação.

Grande parte dos trabalhos de regeneração de plantas do gênero *Pelargonium* foram realizadas a partir de explantes jovens, tais como hipocótilos (Senaratha et al., 1999) ou hipocótilo e cotilédones (Murth et al., 1996), via embriogênese somática. Poucas informações estão disponíveis sobre organogênese e regeneração de plantas usando explantes maduros (Hassanein e Dorion, 2005). Trabalhando com *Pelargonium x hortorum*, Agarwal e Ranu (2000) encontraram uma alta habilidade de regeneração de pecíolo foliar, enquanto que Hassanein e Dorion (2005), obtiveram 100% de regeneração direta em *P. capitatum* e *P. graveolens* utilizando segmento foliar e meio MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ácido naftaleno acético (ANA) em combinação com 1 mg.L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP) e zeatina na ausência de luz.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de reguladores de crescimento e luminosidade na micropropagação de gerânio (*P. graveolens*).

### MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizado no município de São Cristóvão-SE, Brasil.

O meio de cultura utilizado foi meio básico MS, modificados para 50% dos sais e acrescidos de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 1, solidificado com ágar e submetido a autoclavagem por 15 minutos a uma temperatura de 121 ± 1 °C e pressão de 1,05 atm. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 25°C ± 2, fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de 60 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4x3x2, sendo quatro concentrações (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup>) de 6-benzilaminopurina

---

\* Apoio: CNPq e Raros

(BAP) e três concentrações (0; 0,1 e 0,5 mg.L<sup>-1</sup>) de ácido naftaleno acético (ANA) e duas condições de luminosidade (presença e ausência), com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída de quatro tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura. Como fonte de explantes foram utilizados segmentos foliares provenientes de plantas estabelecidas *in vitro*.

Aos 40 dias após a implantação do ensaio, foram avaliadas as variáveis, regeneração (%), número de folhas e número de brotos. Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância pelo teste F e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05) e regressões polinomiais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A regeneração de plantas de gerânio a partir de segmentos foliares apresentou diferenças significativas entre os reguladores de crescimento e condições de luminosidade (Tabela 1). Na presença de luz, a maior porcentagem de regeneração é representada por uma equação quadrática, sendo o ponto máximo 1,3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA, o que promoveu a maior regeneração. Já a ausência de luz, proporcionou maior porcentagem de regeneração de plantas, sendo representada também por uma equação quadrática, obtendo-se o maior valor (acima de 90% quando utilizado 1,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (Tabela 1), sendo portanto a condição de escuro a mais indicada para regeneração de plantas de gerânio a partir de segmentos foliares. Resultados semelhantes foram obtidos na regeneração de plantas de *Pelargonium x hortorum* (95%) e *P. capitatum* (100%) (Hassanein e Dorion, 2005).

TABELA 1. Regeneração (%) *in vitro* de gerânio (*P. graveolens*) em função da interação de BAP x ANA x luminosidade. São Cristóvão, UFS, 2006.

BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	ANA (mg.L <sup>-1</sup> )		
	0,0	0,1	0,5
	Luz		
0,0	0,0 aA	0,0 aB	0,00 aB
0,5	0,0 bB	0,0 bB	41,67 aB
1,0	0,0 aB	0,0 aB	50,00 aB
2,0	25,0 aA	25,0 aB	41,67 aB
Equação (Y) =	$3,863 + 22,803 X - 2,272 X^2$ R <sup>2</sup> = 79,79	$0,681 - 10,6818 X + 11,3636 X^2$ R <sup>2</sup> = 98,79*	$2,045 + 84,6212 X - 32,5757 X^2$ R <sup>2</sup> = 94,54**
	Escuro		
0,0	0,0 bA	41,67 aA	58,33 aA
0,5	25,0 bA	58,33 abA	83,33 aA
1,0	16,7 bA	91,67 aA	83,33 aA
2,0	41,7 aA	66,67 aA	75,00 aA
Equação (Y) =	$5,00 + 18,0952 X$ R <sup>2</sup> = 79,34**	$37,803 + 77,1970 X - 31,0606 X^2$ R <sup>2</sup> = 79,57**	$60,151 + 46,515 X - 19,6970 X^2$ R <sup>2</sup> = 91,74*
CV (%)	32,76		

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas entre luminosidades, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey (p≤0,05)

Em relação ao número de brotos por explante, houve diferenças significativas entre os reguladores de crescimento e luminosidade. A condição de escuro favoreceu o maior número de brotos, sendo todos os tratamentos representados por equações quadráticas, exceto quando foi utilizado 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e BAP (1,0 - 2,0 mg.L<sup>-1</sup>), na presença de luz, onde apesar de apresentar regeneração de 25% (Tabela 1), não foi possível a contagem do número de brotos



em virtude do tamanho dos mesmos (menores de 2 mm) (Tabela 2). Já a utilização de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, não apresentou diferenças significativas entre as duas condições de luminosidade, proporcionando uma média de 13 brotos por explante, enquanto que na ausência de luz, o maior número de brotos por explante foi obtido usando cerca 1,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA. Esses resultados superam os obtidos por Hassanein e Dorion (2005) de 7,3 brotos por explante, utilizando 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e zeatina.

Em relação ao número de folhas, os maiores valores foram obtidos na presença de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e luz (Tabela 3). Na ausência de luz, não foi possível a contagem do número de folhas uma vez que as brotações estavam pequenas, dificultando a contagem.

TABELA 2. Número de brotos *in vitro* de gerânio (*P. graveolens*) em função da interação de BAP x ANA x luminosidade. São Cristóvão, UFS, 2006.

BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	ANA (mg.L <sup>-1</sup> )		
	0,0	0,1	0,5
	Luz		
0,0	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
0,5	0,00 aA	0,00 aB	4,91 aB
1,0	0,00 bA	0,00 bB	14,16 aA
2,0	3,50 aB	0,00 bB*	3,16 abA
Equação (Y) =	0,095+1,495x+1,590x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 98,79	ns	-1,159 + 23,659X - 10,651x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 85,22
	Escuro		
0,0	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
0,5	5,00 bB	16,83 aA	13,22 aA
1,0	0,67 bA	18,33 aA	12,13 aA
2,0	11,50 abA	12,61 aA	5,00 bA
Equação (Y) =	1,295 -0,962X + 2,924X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 75,59	1,016 + 33,072x - 13,722X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 93,92	1,035 + 24,534x - 11,362X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 88,77
CV (%)	34,38		

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas entre luminosidades, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey (p≤0,05).

\*Início da regeneração, não possibilitando contagem de brotos.

TABELA 3. Número de folhas *in vitro* de gerânio (*P. graveolens*) em função da interação de BAP x ANA x luminosidade. São Cristóvão, UFS, 2006.

BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	ANA (mg.L <sup>-1</sup> )		
	0,0	0,1	0,5
	Luz		
0,0	0,00 a	0,00 a	0,00 a
0,5	0,00 b	0,00 b	22,00 a
1,0	0,00 b	0,00 b	47,17 a
2,0	12,50 a	3,38 b	13,75 a
Equação (Y) =	0,341-5,341x+5,681x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 98,79	0,092-1,443x+1,535x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 98,79	-2,543+80,676x-36,053x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 93,29
CV (%)	18,02		

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey (p≤0,05)

## CONCLUSÃO

A utilização de 1,3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e segmentos foliares, são eficientes na regeneração direta de plantas de gerânio, sendo a condição de escuro a mais indicada. Essa mesma condição promoveu o maior número de brotos por explante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, P.K.; RANU, R.S. Regeneration of plantlets from leaf and petiole explants of *Pelargonium x hortorum*. **In vitro Cell Development Biology - Plant**, v.36, p.392-397, 2000.

HASSANEIN, A.; DORION, N. Efficient plant regeneration system from leaf discs of zonal (*Pelargonium x hortorum*) and two scented (*P. capitatum* and *P. graveolens*) geraniums. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.83, p.231-240, 2005.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 1998.220p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

MURTH, B.N.S.; SINGH, R.P.; SAXENA, P.K. Induction of high-frequency somatic embryogenesis in geranium (*pelargonium x hortorum* Bailey cv Ringo Rose) cotyledonary cultures. **Plant Cell Report**, v.15, p.423-426, 1996.

PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo em meio de cultura de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.417-410, 2001.

SATYAKALA, G.; RAO, M.M; SITA, G.L. *In vitro* micropropagation of scented geranium (*Pelargonium graveolens* L. Her. ex Ait: syn *P. roseum* Willd). **Current Science**, v. 68, n.7, p.762-765, 1995.

SENARATHA, T.; DIXON, K.; BUNN, E.; TOUCHELL, D. Smoke-saturated water promotes somatic embryogenesis in geranium. **Plant Growth Regulator**, v.28, p.95-99, 1999.

### PALAVRAS-CHAVES

*Pelargonium graveolens* (L.); micropropagação; reguladores.

## Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivar Genovese

Arrigoni-Blank, Maria de Fátima<sup>1</sup>; Fonseca, Valéria Oliveira<sup>2</sup>; Costa, Andréa.Santos da<sup>2</sup>; Oliveira, Ana Catarina Lima de<sup>2</sup>; Paula, José Welton A. de<sup>2</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFS - Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas – Itabaiana – SE, email: arrigoni@ufs.br.; <sup>2</sup>UFS - Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos – DEA, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe. (Apoio: RARO'S)

### INTRODUÇÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) pertence à família Lamiaceae, é uma planta herbácea anual ou perene, dependendo do local em que é cultivado. Existem diversas finalidades para o seu uso na culinária, como planta ornamental, medicinal e aromática, sendo o seu óleo essencial valorizado no mercado internacional pelo teor de linalol (Blank et al., 2004).

A seleção clonal é considerada como um procedimento que pré-determina a uniformidade das plantas descendentes. O uso da micropropagação de planta é apropriado para clonar indivíduos melhorados produzindo progênes homogêneas (Lameira, 1997).

A disponibilidade e interação de auxinas e citocininas no meio de cultura levam ao crescimento e morfogênese *in vitro*, tendo uma importante influência na formação das raízes, parte aérea e calo em cultura de tecidos. O efeito fisiológico depende da concentração de cada regulador no meio, sendo que cada parte da planta tem uma resposta diferente às alterações das concentrações de auxinas e citocininas (Pozo et al., 2005). Concentração efetiva de cada regulador de crescimento irá variar e precisará ser ajustado de acordo com o genótipo da planta a ser cultivada, o tipo de tecido ou órgão.

Na micropropagação de *Piper longum* L. o maior número de brotos foi obtido com 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina (Soniya e das, 2002). Para *Eupatorium triplinerve* (Martin, 2003/4) e *Ceropegia candelabrum* L. (Beena et al., 2003) as concentrações de 2mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 0,5mg.L<sup>-1</sup> de AIB foram eficientes na indução e desenvolvimento das brotações. Já em *Sophora flavescens* 2mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,5mg.L<sup>-1</sup> de ANA promoveram uma maior proliferação dos brotos (ZHAO et al., 2003/4), enquanto que para *Orthosiphon spiralis* (Lour) Murr. 0,5mg.L<sup>-1</sup> de BAP foi suficiente para a sua multiplicação (Elangomathavan et al., 2003). Para porta-enxertos de *Prunus* o AIB e o AIA foi superior ao ANA quanto ao número e tamanho dos brotos (Silveira et al., 2001).

Vários estudos *in vitro* têm sido conduzidos com o gênero *Ocimum*, usando diferentes explantes, como segmento nodal (Ahuja, 1982), foliar (Phippen e Simon, 2000) inflorescência jovem (Singh e Sehgal, 1999) e botões axilares (Begun, 2002).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de *O. basilicum* cultivar Genovese.

### MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe. Como fonte de explantes foram utilizadas plantas de *O. basilicum* cultivar Genovese cultivadas em vasos contendo pó de coco e vermiculita (1:1), calcário (1g.L<sup>-1</sup>) e fertilizante Hortosafra® 6-24-12 + micronutrientes, mantidas em casa de vegetação. O meio de cultivo utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 0,1 e posteriormente autoclavado (121°C e 1,05 atm) por 20 minutos. Segmentos nodal, foliar e internodal foram coletados e mantidos em água corrente durante 30 minutos em seguida desinfestados com

álcool etílico 70% por 30 segundos, submersos em solução de hipoclorito de sódio 1% por 10 minutos e duas gotas de tween-20 por 100 mL de solução. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, foram lavados com água destilada e autoclavada por 3 vezes e inoculados em meio de cultura. Após a inoculação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e intensidade luminosa de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, utilizando-se o meio MS (controle) (T1); MS suplementado com cinetina ( $9,3 \mu\text{M}$ ) + BAP ( $8,9 \mu\text{M}$ ) + AIA ( $2,2 \mu\text{M}$ ) (T2); MS + BAP ( $8,9 \mu\text{M}$ ) + ANA ( $5,4 \mu\text{M}$ ) (T3) e MS AIA ( $4,4 \mu\text{M}$ ) (T4), sendo cinco repetições com cinco frascos contendo dois explantes cada frasco.

Aos 30 dias após implantação do ensaio, as variáveis, número de brotos, comprimento de brotos (cm), número de folhas e massa seca de parte aérea por explante (mg) foram avaliadas. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram comparados pelo Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para as variáveis analisadas, houve diferenças significativas entre os diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes utilizados. Somente os segmentos nodais foram efetivos na regeneração de plantas de manjeriço cultivar Genovese *in vitro* (Tabelas 1 e 2).

Em relação ao número de brotos, a utilização de MS suplementado com cinetina ( $9,3 \mu\text{M}$ ) + BAP ( $8,9 \mu\text{M}$ ) + AIA ( $2,2 \mu\text{M}$ ) proporcionou a maior média (3,6), enquanto que para o comprimento de brotos não houve diferenças significativas entre esse tratamento e o controle (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos por Santana et al. (2006) com a linhagem NSL6421-05 e Fonseca et al. (2006) com o PI 197442- S<sub>3</sub> -Bulk 5 de *O. basilicum*, porém com valores maiores de comprimento de brotos, demonstrando que há uma interação entre o genótipo e reguladores de crescimento dentro do meio MS.

O número de folhas seguiu a mesma tendência do número de brotações, sendo no tratamento cinetina ( $9,3 \mu\text{M}$ ) + BAP ( $8,9 \mu\text{M}$ ) + AIA ( $2,2 \mu\text{M}$ ) a maior média, em segmento nodal (Tabela 2).

No que se refere à massa seca de parte aérea, a utilização de  $4,4 \mu\text{M}$  de AIA (T4), proporcionou o maior valor (Tabela 2).

Tabela 1. Número e comprimento (cm) de brotos de manjeriço (*O. basilicum*) cultivar Genovese cultivados *in vitro* em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento	Explantes			Explantes		
	Nodal	Internodal	Foliar	Nodal	Internodal	Foliar
	----- Número de brotos -----			---- Comprimento de brotos (cm) ----		
T1	1,93 bA	0,0 aB	0,0 aB	0,24 bA	0,0 aB	0,0 aB
T2	3,64 aA	0,0 aB	0,0 aB	0,42 aA	0,0 aB	0,0 aB
T3	1,77 bA	0,0 aB	0,0 aB	0,20 bA	0,0 aB	0,0 aB
T4	1,84 bA	0,0 aB	0,0 aB	0,55 aA	0,0 aB	0,0 aB
CV (%)	7,10			5,09		

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 2. Número de folhas e massa seca de parte aérea por explante (mg) de manjeriço (*O. basilicum*) cultivar Genovese cultivados *in vitro* em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento	Explantos			Explantos		
	Nodal	Internodal	Foliar	Nodal	Internodal	Foliar
	----- Número de folhas -----			-- Massa seca de parte aérea (mg) --		
T1	6,8 bA	0,0 aB	0,0 aB	18,48 bA	0,00 aB	0,0 aB
T2	14,3 aA	0,0 aB	0,0 aB	10,76 cA	0,00 aB	0,0 aB
T3	5,0 bA	0,0 aB	0,0 aB	2,26 dA	0,00 aB	0,0 aB
T4	7,7 bA	0,0 aB	0,0 aB	31,25 aA	0,00 aB	0,0 aB
CV (%)		23,15			27,92	

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

Explantos nodais e uso de meio MS adicionado com cinetina ( $9,3 \mu\text{M}$ ) + BAP ( $8,9 \mu\text{M}$ ) + AIA ( $2,2 \mu\text{M}$ ) proporcionaram o maior número de brotos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHUJA, A.; VERMA, M.; GREWAL, S. Clonal propagation of *Ocimum* species by tissue culture. **Indian Journal Experimental Biology**, v. 20, p. 455-458, 1982.

BEENA, M.R.; MARTIN, K.P.; KIRTI, P.B.; HARIHARAN, M. Rapid *in vitro* propagation of medicinally important *Ceropegia candelabrum*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 72, p. 285-289, 2003.

BEGUN, F.; AMIN, M.N.; AZAD, M.A.K. *In vitro* rapid clonal propagation of *Ocimum basilicum*. **Plant Tissue Culture**, v. 12, n. 1, p. 27-35, 2002.

BLANK, A.F.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SANTOS NETO, A.L.; ALVES, P.B.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M.C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v 22, n.1, p. 113-116, 2004.

ELANGOMATHAVAN, R.; PRAKASH, S.; KATHIRAVAN, K.; SESHADRI, S.; IGNACIMUTHU, S. High frequency *in vitro* propagation of kidney tea plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 72, p. 83-86, 2003.

FONSECA, V.O.; COSTA, A.S.; OLIVEIRA, A.C.L.; SANTOS, A.V.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTANA, T.H.B.; BLANK, A.F. Interação de reguladores de crescimento e tipos de explantes na micropropagação de manjeriço (*Ocimum basilicum* L. - PI 197442-S3-Bulk 5). **Horticultura Brasileira**, v.24, n.1, Suplemento CD-ROM, p.2589-2592, 2006.

LAMEIRA, O. A. **Propagação *in vitro* e *in vivo* dinâmica de crescimento de células, nutrição e identificação de flavonóides em erva-baleeira (*Cordia verbenácea* L.)**. Lavras: UFLA, 1997. 88p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

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

PHIPPEN, W.B.; SIMON, J.E. Shoot regeneration of young leaf explants from basil (*Ocimum basilicum* L.), **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, v.36, p.250-254, 2000.

POZO, J.C.D.; LOPEZ-MATAS, M.A.; RAMIREZ-PARRA, E.; GUTIERREZ, C. Hormonal control of the plant cell cycle. **Biologia Plantarum**, v. 123, p. 173-183, 2005.

SANTANA, J.G.S.; FONSECA, V.O.; COSTA, A.S.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK, A.F. Influência de concentrações de BAP na micropropagação de manjeriço (*Ocimum basilicum* L. - NSL6421-S2-05). **Horticultura Brasileira**, v.24, n.1, Suplemento CD-ROM, p.2625-2628, 2006.

SILVEIRA, A.C.P.; FACHINELO, J.C.; FORTES, G.R.de L.; CITADIN, I.; RODRIGUES, A.C.; QUEZADA, A.C.; SILVA, J.B. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* sob diferentes concentrações de BAP em dois meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.3, p. 488-492, 2001.

SINGH, N.K.; SEHGAL, C.B. Micropropagation of "Holy basil" (*Ocimum sanctum* L.) from young inflorescences of mature plants. **Plant Growth Regulation**, v. 29, p. 161-166, 1999.

SONIYA, E.V.; DAS, M.R. *In vitro* micropropagation of *Piper longum* – an important medicinal plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 70, p. 325-327, 2002.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

Lamiaceae, segmentos nodais, cultivo *in vitro*

## **Influência de métodos de desinfestação e tipos de explantes no estabelecimento *in vitro* de acessos de vetiver [*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberly].**

Almeida, Sílvia Ávila de<sup>1</sup>; Santos, Aline Borba dos<sup>1</sup>; Almeida, Thatiana Carvalho Santos<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fátima<sup>2</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>UFS - Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos - DEA, Av. Marechal Rondon s/n, 49100-000 São Cristóvão-SE; <sup>2</sup>UFS - Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas - 49500-000 Itabaiana-SE. E-mail: arrigoni@ufs.br (Apoio: CNPq).

### **Introdução**

O vetiver [*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberly syn. *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash] (Poaceae), é uma espécie medicinal e aromática originária da Ásia Tropical (Índia, Ceilão e Malásia) e popularmente conhecido por capim-cheiroso, falso-patchouli, capim-barata, khus-khus ou khas-khas (Índia) (Castro e Ramos, 2003; Adams et al., 2003). Segundo Lavania (2003), o Centro de Origem Primária, de acordo com estudos morfotaxonômicos de vetiver, é o Sul da Índia, de onde se espalhou para o mundo. No Sul da Índia foi encontrada a maior diversidade para as variáveis, reprodução sexuada e composição química do óleo essencial (Lavania, 2003).

É uma espécie perene, com caule rizomatoso, cilíndrico e raízes aromáticas. As folhas são alternas distícas, relativamente rígidas, compridas (até 75 cm), finas (menos de 8 mm) e lisas. As inflorescências são do tipo panícula (15 a 30 cm de comprimento), espiguetas sésseis com duas flores, sendo a superior hermafrodita (com três estames, anteras rimosas, dois estigmas plumosos e ovário súpero) e a inferior masculina (Veldkamp, 1999; Souza e Lorenzi, 2005). Análise citológica revela  $2n = 20$  cromossomas (Veldkamp, 1999).

Por possuir uma perfilhação abundante, é usado na formação de barreiras para contenção do solo em áreas inclinadas. Sua parte aérea (colmos e folhas) é usada para a cobertura de construções rurais rústicas, para o artesanato (esteiras, biombos, divisórias) e para a cobertura do solo (Adams et al., 2004). As raízes são usadas, ao natural, como repelentes de insetos para usos domésticos (Castro e Ramos, 2003) e o óleo essencial apresenta uma forte atividade cupinicida, antimicrobiana e antioxidante, e é usado pela indústria de perfumaria (Kim et al., 2005).

Para o estabelecimento de protocolo de micropropagação de uma espécie é necessário primeiro estabelecê-la *in vitro*. O elevado grau de contaminação e a localização sistêmica de microorganismos são responsáveis, às vezes, pelo insucesso de uma cultura *in vitro*. Na desinfestação do explante a maior dificuldade é obtê-lo descontaminado sem conduzi-lo à morte quando isolado. Para isso várias substâncias com ação germicida têm sido utilizadas, como o etanol e os compostos a base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio e de cálcio (Grattapaglia e Machado, 1998). Em amoreira-preta (*Rubus* sp.) a contaminação dos explantes foi reduzida com a imersão de explantes em solução de hipoclorito de sódio-NaOCl a 0,5% em diferentes tempos de imersão (0, 10, 20 e 30 minutos) (Augusto e Biasi, 2002). Em *Lippia integrifolia* obteve-se 24% de contaminação, utilizando solução de NaOCl a 1,2% por 30 minutos (Passera e Ambrosetti, 1999) e em *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. obteve-se o controle da contaminação com 10% de NaOCl por 10 minutos (Juliani et al., 1999).

Assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar o efeito de métodos de desinfestação e tipos de explantes no estabelecimento *in vitro* de acessos de vetiver [*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberly].

### **Material e Métodos**

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica da UFS.

Para o estabelecimento de vetiver *in vitro*, foram utilizados segmentos nodais de aproximadamente 10 mm, obtidos a partir da haste floral. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 x 2 com cinco repetições e quatro frascos por repetição. Testou-se o efeito de três métodos de desinfestação (hipoclorito de sódio (NaOCl) 2% por 15 minutos; hipoclorito de cálcio (CaOCl<sub>2</sub>) 4%, 2,5% e 1% por 20, 15 e 5 minutos, respectivamente, e cloreto de Mercúrio (Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 0,1% por 5 minutos), dois acessos (UFS-VET001 e UFS-VET003) do Banco Ativo de Germoplasma da UFS e dois tipos de explantes (inteiro e partido). Após cada tratamento os explantes foram lavados três vezes em água estéril.

Os segmentos foram lavados em água corrente por 30 minutos e em seguida imersos em solução tween-20 (0,05%) por 3 minutos e lavagem em água destilada. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, foram submetidos aos diferentes tratamentos de desinfestação.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo cerca de 10ml de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), semi-sólido, suplementado com sacarose e ágar. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 e foi esterilizado em autoclave a 121±1°C e 1,05 atm por 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 25±2°C e fotoperíodo de 12 horas de luz, proveniente de luz fluorescente branca fria.

Aos 30 dias de cultivo foi avaliado o número total de propágulos regenerados. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram comparados pelo Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Usando explantes inteiros do acesso UFS-VET001 observou-se maior regeneração de propágulos quando a desinfestação foi feita com cloreto de mercúrio (Tabela 1). Já para o acesso UFS-VET003 não houve diferença significativa entre os métodos de desinfestação (Tabela 1). O uso de cloreto mercúrio também mostrou boa regeneração em patchouli (*Pogostemon cablin*) (Kukreja et al., 1990) e gerânio (*Pelargonium graveolens*) (Saxena et al., 2000).

Com relação ao tipo de explante (inteiro ou partido), os explantes inteiros demonstraram maiores taxas de regeneração quando comparados aos partidos, quando se usou cloreto de mercúrio e hipoclorito de sódio no acesso UFS-VET003 (Tabela 1).

Usando cloreto de mercúrio para a desinfestação, o acesso UFS-VET001 apresentou maior regeneração que o UFS-VET003. Já no uso de hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio em explantes inteiros o acesso UFS-VET003 apresentou maior regeneração que o UFS-VET001 (Tabela 1).

Tabela 1. Regeneração (%) de propágulos de acessos de vetiver (*C. zizanioides*) submetidos a diferentes métodos desinfestação e tipos de explante. São Cristóvão, UFS, 2006.

Acesso	Método de desinfestação		
	NaOCl	CaOCl <sub>2</sub>	Hg <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Explante inteiro			
UFS-VET001	5,00 b B $\alpha$	3,33 b B $\alpha$	56,67 a A $\alpha$
UFS-VET003	21,67 a A $\alpha$	16,67 a A $\alpha$	26,67 b A $\alpha$
Explante partido			
UFS-VET001	10,00 a A $\alpha$	20,00 a A $\alpha$	27,50 a A $\beta$
UFS-VET003	3,33 a A $\beta$	8,33 a A $\alpha$	6,67 b A $\beta$
CV(%)	51,02		

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, nas colunas, maiúsculas, nas linhas, e gregas, entre explantes, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



Uma desinfestação eficiente de vetiver esta sendo um desafio em virtude da dificuldade de se manter plantas em vasos e ambiente telado uma vez que o sistema radicular é extremamente agressivo e até o momento apenas hastes florais têm possibilitado uma regeneração de plantas *in vitro*. Assim, outros tipos de agentes químicos e tempos de desinfestações deverão ser testados. Trabalhando com *Brachiaria* sp., Cabral et al. (2003), conseguiram uma boa desinfestação utilizando hipoclorito de sódio 5% por 20 minutos.

## Conclusões

Não é viável a utilização de explantes partidos e a desinfestação com cloreto de mercúrio foi a mais eficiente. Novos testes deverão ser realizados na tentativa de se descobrir métodos mais eficientes.

## Referências Bibliográficas

ADAMS, R.P.; PANDEY, R.N.; DAFFORN, M.R.; JAMES, S.A. Vetiver DNA-Fingerprinted cultivars: effects of environment on growth, oil yields and composition. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, p.363-371, 2003.

ADAMS, R.P.; HABTE, M.; PARK, S.; DAFFORN, M.R. Preliminary comparison of vetiver root essential oils from cleansed (bacteria- and fungus-free) versus non-cleansed (normal) vetiver plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p.1137-1144, 2004.

AUGUSTO, C.S.S.; BIASI, L.A. Micropropagação da amoreira-preta cv. Brazos. **Scientia Agraria**, v. 3, p.114-114, 2002.

CABRAL, G.B.; PIRES, M.V.V.; LACERDA, A.L.; CARNEIRO, V.T.C. **Introdução in vitro, micropropagação e conservação de plantas de *Brachiaria* sp.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 4p. (Comunicado Técnico, 101).

CASTRO, L.O. de; RAMOS, R.L.D. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais:** *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. , capim-cidró, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J.F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack. , capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, vetiver. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 31 p. (Boletim FEPAGRO, 11)

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES AC; CALDAS LS; BUSO JA. (eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica/ Embrapa Hortaliças, 1998. p. 183-260.

KIM, H.J.; CHEN, F.; WANG, X.; CHUNG, H.Y.; JIN, Z. Evaluation of antioxidant activity of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. V.53, p. 7691-7695, 2005.

KUKREJA, A.K.; MATHUR, A.K.; ZAIM, M. Mass production of virus-free patchouli plants [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] by *in vitro* culture. **Tropical Agriculture**, v.67, n.2, p.101-104, 1990.

JULIANI JUNIOR HR; KOROCH AR; JULIANI HR; TRIPPI VS. Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. **Plant Cell, Tissue and Organ culture**, v. 59, n. 175-179, 1999.

LAVANIA, U.C. Other uses and utilization of vetiver: Vetiver oil. In: INTERNATIONAL VETIVER CONFERENCE, 3. **Proceedings...**China: TVN, 2003. p. 486-491.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

PASSERA, C.B.; AMBROSETTI, J. A. In vitro propagation of "Incauyo", *Lippia intergrifolia* (Gris.) Hier. (Verbenaceae), a medicinal and aromatic plant of Monte Phytogeographical Province, Argentina. **Acta Horticulturae**, n.502, p.319-324, 1999.

SAXENA, G.; BANERJEE, S.; RAHMAN, L.; MALLAVARAPU, G.R.; SHARMA, S.; KUMAR, S. An efficient in vitro procedure for micropropagation and generation of somaclones of rose scented *Pelargonium*. **Plant Science**, v.155, p.133-140, 2000.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG 11. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

VELDKAMP, J.F. A revision of *Chrysopogon* Trin. Including *Vetiveria* Bory (Poaceae) in Thailand and Malesia with notes on some other species from Africa and Australia. **Austrobaileya**, v. 5, p. 503-533, 1999.

Palavras-chaves: vetiver, micropropagação, assepsia, explante.

## **Avaliação do efeito do fungicida sistêmico cerconil sobre a regeneração e micropropagação, visando a eliminação dos fitorreguladores utilizados para clonagem de cana-de-açúcar.**

Rivas, Rebeca<sup>1</sup>; Alves, Gilberto Dias<sup>1</sup>; Silva, Karime Soares da<sup>2</sup>; Dias, André Luís de França<sup>1</sup>; Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n – Santo Amaro – Recife/PE CEP 50100-010 fone (81) 3416.4000, email: [rebecarivas@gmail.com](mailto:rebecarivas@gmail.com), [alvesgd@icb.upe.br](mailto:alvesgd@icb.upe.br), [andreluisfd@hotmail.com](mailto:andreluisfd@hotmail.com); <sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Agronomia, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos - Recife/PE CEP 52171-900 Fone (81) 3320.6011, email: [karyagronomia@hotmail.com](mailto:karyagronomia@hotmail.com); <sup>3</sup>Pesquisadora da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) – Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Biologia Molecular, Av. Gen. San. Martin, 1371 – Bonji, CEP 50761-000 – Recife/PE Caixa Postal: 1022, fone (81)2122.7200, email: [laureenhk@yahoo.com](mailto:laureenhk@yahoo.com).

### **INTRODUÇÃO**

A cana-de-açúcar é uma gramínea perene de grande importância econômica, pois é cultivada em mais de 80 países de clima tropical e subtropical ([http://encarta.msn.com/text\\_761573379\\_1/Sugarcane.html](http://encarta.msn.com/text_761573379_1/Sugarcane.html)). Uma alternativa para a propagação de cana é a micropropagação *in vitro* que permite a redução do tempo e do espaço necessário para a propagação. Além disso, podem-se obter plantas livres de vírus, clones a partir de um indivíduo inicial (Grattapaglia e Machado, 1998).

A micropropagação vem sendo utilizada há décadas, apesar dos custos elevados (IAEA, 2004). O alto custo da micropropagação está diretamente correlacionado com consumo de energia elétrica, mão-de-obra, equipamentos e compostos químicos (IAEA, 2004). Dentre os componentes do meio de cultura, os mais caros são os fitorreguladores, como exemplo, o grama do BAP e do KIN custam R\$ 178,00 e R\$ 364,00 respectivamente. Sendo assim, a identificação de substâncias alternativas que possam substituir os fitorreguladores é uma alternativa para minimizar os custos da micropropagação, ampliando a utilização desta metodologia para fins comerciais e de pesquisa.

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do fungicida sistêmico Cerconil PM, cujos princípios ativos são o clorotalonil (500 g.Kg<sup>-1</sup>) e o tiofanato metílico (200 g.Kg<sup>-1</sup>), na indução de regeneração *in vitro* da cana-de-açúcar (cv. RB932520).

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Biologia Molecular da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA). Foram utilizadas gemas axilares de cana de açúcar da cultivar RB932520 mantidas *in vitro*.

As gemas axilares foram inoculadas em seis meios diferentes, com a composição básica: sais e vitaminas de MS (Murashigue & Skoog, 1962), sacarose 20g.L<sup>-1</sup>, inositol 0,1g.L<sup>-1</sup> e glicina 0,002g.L<sup>-1</sup>, ágar 9g.L<sup>-1</sup>. Estes meios foram elaborados com diferentes doses de Cerconil (Tabela 1). O controle correspondeu ao meio de cultura padrão para micropropagação de cana. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 20 repetições em cada tratamento, sendo 10 frascos com dois explantes/frasco.

Tabela 1. Componentes que diferem os 6 meios de cultura no experimento.

Tratamentos	Composição
0	Ausência de fitorregulador e fungicida
1	Cerconil 0,2 mg.L <sup>-1</sup>
2	Cerconil 0,4 mg.L <sup>-1</sup>
3	Cerconil 0,8 mg.L <sup>-1</sup>
4	Cerconil 1,0 mg.L <sup>-1</sup>

Após 30 dias, foi montado um segundo experimento, porém este sendo líquido, (ausência de ágar), e composto apenas pelo tratamento 3 (cerconil 0,8 mg.L<sup>-1</sup>) e pelo 5 (BAP 0,2 mg.L<sup>-1</sup> e KIN 0,1 mg.L<sup>-1</sup>), apresentando delineamento experimental inteiramente casualizado com 20 repetições em cada tratamento, sendo 10 frascos com dois explantes/frasco.

Ambos os experimentos (sólido e líquido) foram avaliados a cada oito dias observando os seguintes parâmetros: presença/ausência de brotação, número de brotos, presença/ausência de necrose, nível de necrosamento numa escala de 0-5, morte do explante, presença/ausência de raiz. Os valores do nível de necrosamento foram transformadas segundo a raiz quadrada de  $X+0,5$ , onde X significa o valor do nível de necrosamento. Os resultados foram analisados estatisticamente usando análise de variância (ANOVA) pelo teste de Duncan com o auxílio do programa ASSISTAT versão 7.4 beta (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que os explantes mantidos no meio 3 (Cerconil 0,8 mg.L<sup>-1</sup>), apesar de não apresentar diferença significativa com o tratamento 4 (8 dias de cultivo) e entre os tratamentos 2 e 4 (com 15 dias de cultivo), emitiram um número maior de novas brotações que os explantes mantidos nos demais meios de cultura testados. Resultado similar foi observado no experimento com meio líquido. Este resultado indica que o fungicida Cerconil pode induzir a emissão de novos ápices caulinares tanto em meio líquido como em meio semi-sólido.

A porcentagem de explantes emitindo novas brotações aumentou conforme aumentou a concentração do fungicida tanto aos 8 dias como aos 15 dias de cultivo (Tabela 2), com exceção do tratamento 4 que apresentou menor porcentagem comparado ao tratamento 3 (com 8 dias de cultivo). Segundo Moreira (1993), conforme o aumento da concentração do fungicida benomil elevava o número de brotos de *Citrus sunki*. Ramos *et al.* (1996), observaram que o número de brotos era reduzido conforme eram aumentadas as doses de benomil.

Tabela 2. Média de brotos, porcentagem de brotação, média do nível de necrosamento e porcentagem de enraizamento referentes aos 8<sup>o</sup> e 15<sup>o</sup> dias de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB932520)

Dia	Tratamento	Média de brotos	Brotação (%)	Média do nível de necrosamento	Enraizamento (%)
8	0	1,25 BC <sup>1</sup>	45	1,62 AB	10
	1	0,95 BC	45	1,66 AB	30
	2	1,60 BC	65	1,56 AB	40
	3	2,95 A	75	1,62 AB	45
	4	2,05 AB	70	1,50 B	10
15	5	0,55 C	40	1,68 A	0
	0	1,60 BC	55	1,64 B	30
	1	1,20 C	50	1,67 B	55
	2	2,05 AB	70	1,58 B	65
	3	3,30 A	75	1,71 B	75
	4	2,80 AB	85	1,62 B	35
	5	1,00 C	55	1,93 A	0

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade

Não foi observado aumento de necrosamento dos tecidos devido à presença do fungicida, comparando-se o meio-padrão de cana com os meios suplementados com Cerconil (8 dias de tratamento). No entanto, após 15 dias de cultivo, o maior nível de necrosamento foi observado no tratamento 5 (meio-padrão de cana) que se diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 2). A produção de polifenóis é responsável pela diminuição do desenvolvimento *in vitro*; sendo assim, qualquer redução no nível de necrosamento pode ser benéfica ao longo do processo de clonagem.

O enraizamento foi observado nos tratamentos com cerconil e com ausência de fitorreguladores e fungicida, porém, no meio-padrão de cana, apresentou inibição na indução de raiz. A porcentagem de enraizamento aumentou conforme era aumentada a concentração de Cerconil no meio de cultura até o nível de  $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$  (tratamento 3). Silva *et al.* (2002) observaram que o aumento das concentrações de BAP inibia o enraizamento em abacaxizeiro. Dentre os tratamentos com cerconil, o tratamento 3 apresentou maior porcentagem de enraizamento tanto com 8 (45%) quanto com 15 (60%) dias de cultivo (Tabela 2). Em contradição, Salgado *et al.* (2001) mostraram que o fungicida benomil tem pouca eficiência na indução de raiz em *Dendranthema morifolium*.

Na figura 1, é possível observar a diferença de desenvolvimento entre os explantes provenientes dos tratamentos 0, 3 e 5.



Figura1. Explantes de cana-de-açúcar (cv. RB932520) provenientes dos tratamentos 0 (ausência de fitorreguladores e fungicida), 3 (Cerconil  $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e 5 (BAP  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  e KIN  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ ) com 15 dias de cultivo. É possível observar a presença de raiz no tratamento 3.

Com relação ao experimento 2, foi selecionado o tratamento que mais apresentou resultados positivos. Neste caso, o tratamento 3 (Cerconil  $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$ ), e foi comparado com o meio-padrão de micropropagação de cana, sendo agora o meio líquido que é o mais recomendado para a cana-de-açúcar.

Com relação ao número médio de brotos, o tratamento 3 líquido apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao tratamento 5 líquido (meio-padrão de cana) tanto com 8 dias (1,90 e 0,75 respectivamente) quanto com 15 dias (4,05 e 2,30 respectivamente) de cultivo.

A média de brotos do tratamento 3 líquido foi maior quando comparado ao tratamento 3 sólido (Figura 2), o mesmo é observado com relação ao tratamento 5 (BAP  $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  e KIN  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Este resultado reafirma o efeito do Cerconil na indução de novas brotações em cana-de-açúcar (cv. RB932520).

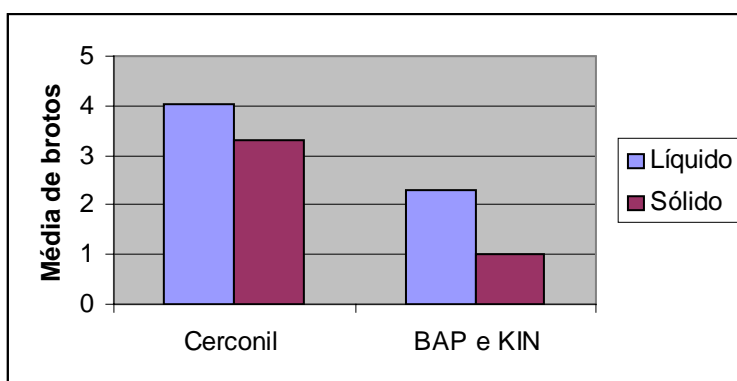


Figura 2. Comparação da média de brotos dos explantes de cana de açúcar (cv. RB932520) provenientes dos tratamentos 3 (Cerconil 0,8 mg.L<sup>-1</sup>) e 5 (meio-padrão de cana) com relação aos experimentos líquido e sólido com 15 dias de cultivo.

A porcentagem de brotação do tratamento 3 líquido foi maior tanto com 8 dias (65%) quanto com 15 dias (85%) de cultivo com relação ao meio-padrão de cana (tratamento 5 líquido). O tratamento 3 líquido com 15 dias de cultivo apresentou maior porcentagem do que o experimento 3 sólido com o mesmo tempo de cultivo (Figura 3), assim como o tratamento 5 líquido obteve maior porcentagem de brotação comparado ao tratamento 5 sólido (Figura 3).

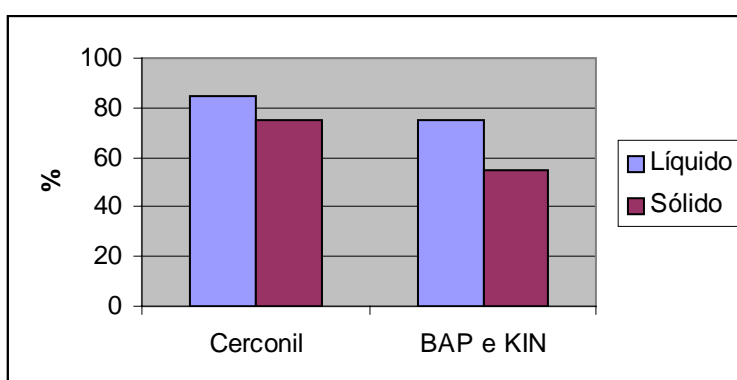


Figura 3. Comparação da porcentagem de brotação dos explantes de cana de açúcar (cv. RB932520) provenientes dos tratamentos 3 (Cerconil 0,8 mg.L<sup>-1</sup>) e 5 (meio-padrão de cana) com relação aos experimentos líquido e sólido.

No experimento-líquido, a necrose dos tecidos não apresentou diferença significativa.

O tratamento 5 tanto no experimento líquido quanto sólido apresentou inibição no enraizamento. Já o tratamento 3 apresentou indução de raiz, com 8 dias de cultivo apresentou 20% de enraizamento e com 15 dias 40% com relação ao experimento sólido. É possível que o outro componente de ação fungicida (clorotalonil), presente na composição do Cerconil tenha influenciado a indução de desenvolvimento do sistema radicular.

É visível a redução dos custos da micropropagação de cana-de-açúcar com relação aos fitoreguladores mesmo utilizando uma concentração de Cerconil (0,8 mg.L<sup>-1</sup>) quatro vezes maior que a do BAP (0,2 mg.L<sup>-1</sup>). O pacote (1kg) de Cerconil PM custa R\$ 25,74 (valor fornecido pela MF Rural), portanto o grama custa R\$ 2,57 x 10<sup>-2</sup> que representa 6.926 vezes mais barato que o grama do BAP e 14.163 vezes mais barato que o grama do KIN.

## CONCLUSÃO

O fungicida sistêmico Cerconil é uma substância alternativa de baixo custo viável para indução de novas brotações *in vitro* de cana-de-açúcar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA-CNPq, v. 1, p. 183-260. 1998.

IAEA, **Low cost options for tissue culture technology in developing countries**, Vienna, 2004. 102 p.

MOREIRA, M. A. **Efeitos do Benomyl e do Ácido Indolbutírico na propagação *in vitro* do porta enxerto *Citrus sinki* Hort. ex. Tan.** Lavras: ESAL, 1993. 56p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.

RAMOS, J. D. *et al.* Efeito do triadimenol e da benzilaminopurina na multiplicação de brotos "*in vitro*" do porta-enxerto "Sunki". *Rev. Ceres*, Viçosa, v. 43, n. 246, p.147-156, 1996.

SALGADO, S. M. L. *et al.* Efeito da utilização de TDZ e Benomyl na micropropagação do crisântemo (*Dendranthema morifolium*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 2, 2001.

SILVA, A. B. *et al.* Influência da Benzilaminopurina e do Benomyl na proliferação *in vitro* do abacaxizeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1190-1196, 2002.

Sugarcane. Microsoft® Encarta® Online Encyclopedia 2007. Disponível em: [http://encarta.msn.com/text\\_761573379\\_1/Sugarcane.html](http://encarta.msn.com/text_761573379_1/Sugarcane.html) Acesso em 28 de março de 2007.

## PALAVRAS-CHAVE

*Saccharum* spp., cultivo *in vitro*, baixo custo, análogo do fitorregulador

<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Agradecimentos: FACEPE, IPA e UPE.

## Ajuste de protocolo para propagação *in vitro* para os clones 01, 04 e 08 de *Orthophytum grossiorum* Leme & Paula.

Manfio, Candida Elisa<sup>1</sup>; Carvalho, Mychelle<sup>2</sup>; Moura, Elisa Ferreira<sup>1</sup>; Valente, Magno Sávio F<sub>3</sub>; Motoike, Sérgio Y<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (UFV-MG), email: [cemanfio@yahoo.com.br](mailto:cemanfio@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV-MG), email: [mcarv78@yahoo.com.br](mailto:mcarv78@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Estudante de Graduação em Agronomia (UFV-MG); <sup>4</sup> Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia (UFV-MG), email: [motoike@ufv.br](mailto:motoike@ufv.br).

### INTRODUÇÃO

A espécie *O. grossiorum* apresenta grandes atributos ornamentais que podem ser potencialmente explorados, pois é de pequeno porte, fácil manejo, rústica, de fácil adaptação, com inflorescência duradoura, cerca de seis meses, dentre outros. Contudo, a mesma não é cultivada comercialmente por não haver técnicas agronomicamente definidas para a sua exploração em escala comercial. Essa espécie é endêmica da Mata Atlântica e encontra-se em perigo de extinção (Leme e Paula, 2003), o que aumenta a necessidade de estudos envolvendo sua conservação.

A biotecnologia pode auxiliar na conservação desta espécie por meio da produção de mudas de qualidade através das técnicas de cultivo *in vitro*, a qual pode ser aplicada tanto para propagação sexuada como para a assexuada. Na propagação sexuada a técnica de cultivo *in vitro* propicia melhor, e por consequência maior germinação das sementes, permitindo a obtenção de maior número de plantas. Na propagação assexuada ou vegetativa, a cultura *in vitro* pode propiciar a obtenção de mudas uniformes, de alta qualidade e livres de doenças, além de permitir a multiplicação rápida e geneticamente confiável de clones (Guerra et al., 1999). Entretanto, a resposta *in vitro* varia grandemente em função do genótipo e das condições de cultivo *in vitro*.

Portanto, para o sucesso da propagação vegetativa *in vitro* é fundamental que clones selecionados respondam a estímulos aplicados em ambiente *in vitro*, especialmente, a reguladores de crescimento. A adição de reguladores de crescimento ao meio de cultivo, em particular, as citocininas, é indispensável para a quebra da dominância apical e indução de gemas axilares. A 6-benzilaminopurina (BAP) é uma citocinina sintética muito utilizada em cultura de tecidos vegetais, por sua alta eficiência na promoção de multiplicação em diversas espécies (Ziv, 1991).

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo eficiente para propagação *in vitro* para os clones 01, 04 e 08 de *Orthophytum grossiorum* Leme & Paula.

### METODOLOGIA

Os clones 01, 04 e 08 selecionados quanto ao seu potencial ornamental em experimento anteriormente realizado foram resgatados dos estoques mantidos *in vitro* no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais - UFV. O experimento foi montado a partir das brotações destes propágulos, de tamanho uniforme e sem raízes. Neste experimento foram testados cinco níveis de BAP (0, 10, 20, 30 e 40  $\mu\text{M}$ ), em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, onde a unidade experimental era constituída de um frasco contendo dois explantes, em meio MS líquido. O pH do meio de cultivo foi ajustado para  $5,7 \pm 0,01$ , antes da esterilização à  $121^\circ\text{C}$  e 1,5 atm por 20 minutos. Foram utilizados frascos de 350 ml, com dimensão de 50x140 mm, contendo 20 ml de meio de cultura. Os explantes foram incubados em sala com temperatura controlada de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e irradiância de  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes de 40 W.

Após 60 dias de incubação as características avaliadas foram: comprimento médio de brotações, número de brotações por propágulos, porcentagem de brotações com formação de raízes, porcentagem de brotações com formação de calo e porcentagem de brotações deformadas.



Os resultados, dos três clones obtidos foram analisados separadamente, com o objetivo de ajuste de protocolo para cada clone. Estes resultados foram submetidos à análise de variância e suas médias ajustadas à regressão.

As análises estatísticas foram obtidas utilizando-se o Programa Computacional "GENES" (Cruz, 2001).

Para as características brotações com formação de raízes, brotações com formação de calos e brotações deformadas, foi realizada análise descritiva baseada na ausência e presença.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho observou-se que clones de *O. grossiorum* respondem à presença de BAP no meio de cultura, confirmando a seleção feita em experimento anterior, onde se selecionou previamente clones que respondiam ao BAP emitindo brotações, contudo esta resposta é dependente do genótipo estudado. Para todos os Clones a concentração em que se obteve o maior número de brotos por propágulo foi 10µM de BAP (Figura 1). Em concentrações elevadas de BAP observou-se efeito antagônico do regulador de crescimento no número de brotações o que pode ser atribuído a sua fitotoxicidade ao vegetal (Leshem et al., 1988). A formação de raízes foi observada somente no tratamento sem a adição de BAP. O efeito inibitório da adição do BAP na formação de raízes é bastante conhecido, sendo atribuída à alteração da relação auxina/citocinina. A presença de BAP no meio de cultivo também inibiu a formação de raízes em *A. strobilacea* e *Q. quesneliana* (Figueiredo, 2003) e *A. imperialis* (Naves, 2001).

A formação de calos foi observada somente no Clone 08, em presença de BAP. A formação de calos tem sido relacionada à maior ocorrência de variações somaclonais; no presente trabalho a maioria dos clones selecionados não formaram calos quando multiplicados *in vitro*. Para estes clones o risco de variação somaclonal é menor do que no Clone 08, onde se observa a formação de calos mesmo nas menores concentrações estudadas de BAP. Para este clone há necessidade de se estudar concentrações menores de BAP para anular a formação de calos e otimizar a sua multiplicação. Estudos neste sentido se encontram em andamento no LCCTV. O uso de citocinina estimula maior produção de parte aérea, o excesso é tóxico e compromete o desenvolvimento das culturas. A toxidez por citocinina no meio se caracteriza, principalmente, pelo excessivo entufamento e falta de alongamento das culturas, redução no tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento excessivo dos caules e hiperidricidade generalizada, com conseqüente dificuldade na etapa de enraizamento (Leshem et al., 1988). Estes autores relacionaram o processo de hiperidricidade em culturas de crisântemo e melão com toxidez de BAP. Segundo Jain et al. (2001), a ausência de reguladores de crescimento no meio de cultivo proporciona o desenvolvimento de maiores freqüências de plantas normais, enquanto o meio suplementado com BAP leva ao desenvolvimento de hiperidricidade. Este fenômeno pode ser controlado, até certo ponto, pela redução ou exclusão do BAP do meio.

## CONCLUSÕES

- O aumento gradativo das concentrações de BAP afetou o comprimento médio de brotações de todos os clones avaliados;
- O número máximo de brotações por explante varia nas concentrações de BAP de acordo com o Clone avaliado;
- A formação de calos foi observada somente no Clone 08, em presença de BAP;
- Em concentrações elevadas de BAP foram observadas brotações má formadas somente no Clone 05;
- Os protocolos desenvolvidos poderão ser utilizados como base para estabelecimento de metodologias de conservação *in vitro*, podendo também ser aplicados em programas de reintrodução e produção massal de mudas para a comercialização, o que pode suprir o mercado com uma bromélia apropriada para uso em interiores e jardins.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUZ, C. D. Programa GENES-versão Windows. Editora UFV. Viçosa, MG. 642p. 2001.

FIGUEIREDO, M. L. Desenvolvimento de protocolos para propagação *in vitro* de três espécies de bromeliaceae nativas do Brasil. Dissertação (MS). UFV. 2003. 57p.

GUERRA, M. P.; DAL.; L. L. PESCADOR, R.; SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34: 1557-1563, 1999.

JAIN, A.; KANTIA, A.; KOTHARI, S. L. De novo differentiation of shoot buds from leaf-callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hyperhydricity. **Scientia Horticulturae**, 87:319-326, 2001.

LEME, E. M. C.; PAULA, C. C. Uma nova espécie de *Orthophytum* de Minas Gerais, Brasil. **Vidalia** 1 (1): 1-5, 2003.

LESHEM, B.; WERKER, E.; SHALEV, D. P.: The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany** 62: 271-276. 1988.

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

NAVES, V. C. propagação *in vitro* de bromélia imperial *Alcantarea imperialis* (Carriere) Harms. Dissertação (MS). UFLA, 2001. p. 76.

ZIV, M. Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. In: Debergh, P.C.; Zimmerman, R.H. (Eds.) **Micropropagation: Technology and Applications**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 45-69.

**PALAVRAS-CHAVE** – *Orthophytum grossiorum*, reguladores de crescimento, micropropagação, bromélias.

#### **AGRADECIMENTOS**

Apoiado financeiramente pela Fapemig

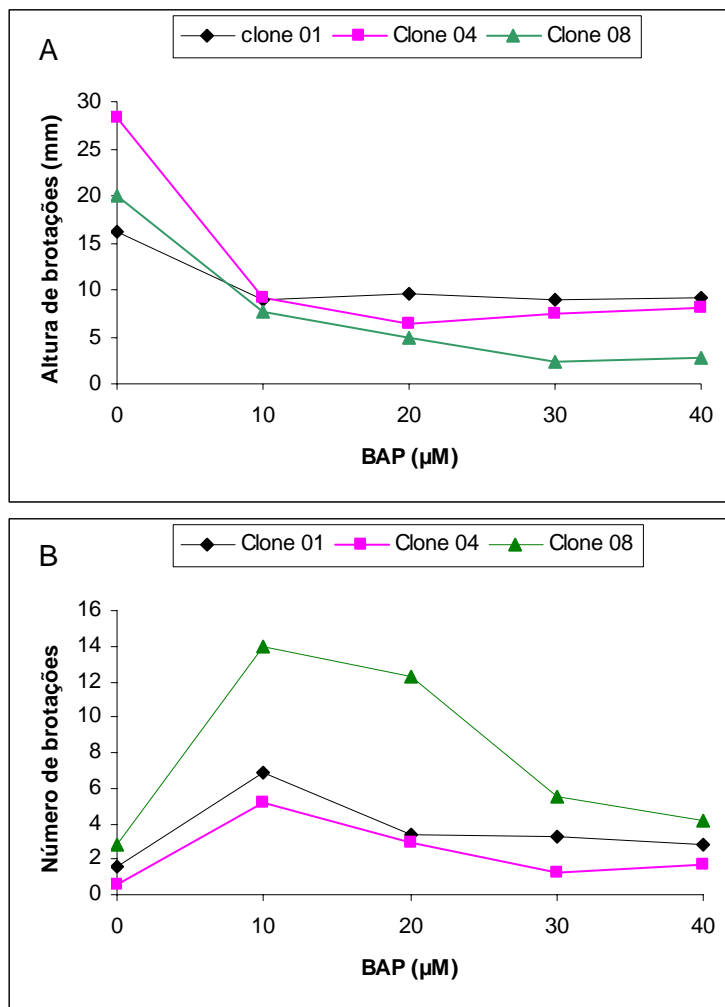


Figura 2: Efeito das concentrações de BAP no número médio de brotações (A) e no comprimento médio das brotações (B) *in vitro* nos Clones 01, 04 e 08 de *Orthophytum grossiorum* Leme & Paula.

## Ajuste de protocolo para propagação *in vitro* para os clones 05 e 09 de *Orthophytum grossiorum* Leme & Paula.

Manfio, Candida Elisa<sup>1</sup>; Carvalho, Mychelle<sup>2</sup>; Moura, Elisa Ferreira<sup>1</sup>; Valente, Magno Sávio F<sub>3</sub>; Motoike, Sérgio Y<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (UFV-MG), email: [cemanfio@yahoo.com.br](mailto:cemanfio@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV-MG), email: [mcarv78@yahoo.com.br](mailto:mcarv78@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Estudante de Graduação em Agronomia (UFV-MG); <sup>4</sup> Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia (UFV-MG), email: [motoike@ufv.br](mailto:motoike@ufv.br).

### INTRODUÇÃO

A espécie *O. grossiorum* é endêmica da Mata Atlântica e encontra-se em perigo de extinção (Leme e Paula, 2003), o que aumenta a necessidade de estudos envolvendo sua conservação. Essa espécie apresenta grandes atributos ornamentais que podem ser potencialmente explorados, pois é de pequeno porte, fácil manejo, rústica, de fácil adaptação, inflorescência duradoura cerca de seis meses, dentre outros. Contudo, a mesma não é cultivada comercialmente por não haver técnicas agronomicamente definidas para a sua exploração em escala comercial.

A biotecnologia pode auxiliar na conservação desta espécie por meio da produção de mudas de qualidade através das técnicas de cultivo *in vitro*, a qual pode ser aplicada tanto para propagação sexuada como para a assexuada. Na propagação sexuada a técnica de cultivo *in vitro* propicia melhor, e por consequência maior germinação das sementes, permitindo a obtenção de maior número de plantas. Na propagação assexuada ou vegetativa, a cultura *in vitro* pode propiciar a obtenção de mudas uniformes, de alta qualidade e livres de doenças, além de permitir a multiplicação rápida e geneticamente confiável de clones (Guerra et al., 1999). Entretanto, a resposta *in vitro* varia grandemente em função do genótipo e das condições de cultivo *in vitro*.

Portanto, para o sucesso da propagação vegetativa *in vitro* é fundamental que clones selecionados respondam a estímulos aplicados em ambiente *in vitro*, especialmente, a reguladores de crescimento. A adição de reguladores de crescimento ao meio de cultivo, em particular, as citocininas, é indispensável para a quebra da dominância apical e indução de gemas axilares. A 6-benzilaminopurina (BAP) é uma citocinina sintética muito utilizada em cultura de tecidos vegetais, por sua alta eficiência na promoção de multiplicação em diversas espécies (Ziv, 1991).

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo para propagação *in vitro* para os clones 05 e 09 de *Orthophytum grossiorum* Leme & Paula.

### METODOLOGIA

Os clones 05 e 09 selecionados quanto ao seu potencial ornamental em experimento anteriormente realizado foram resgatados dos estoques mantidos *in vitro* no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais-UFV. O experimento foi montado a partir das brotações destes propágulos, de tamanho uniforme e sem raízes. Neste experimento foram testados cinco níveis de BAP (0, 10, 20, 30 e 40  $\mu\text{M}$ ), em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, onde a unidade experimental era constituída de um frasco contendo dois explantes, em meio MS líquido. O pH do meio de cultivo foi ajustado para  $5,7 \pm 0,01$ , antes da esterilização à  $121^\circ\text{C}$  e 1,5 atm por 20 minutos. Foram utilizados frascos de 350 ml, com dimensão de 50x140 mm, contendo 20 ml de meio de cultura. Os explantes foram incubados em sala com temperatura controlada de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e irradiância de  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes de 40 W.

Após 60 dias de incubação as características avaliadas foram: comprimento médio de brotações, número de brotações por propágulos, porcentagem de brotações com formação de raízes, porcentagem de brotações com formação de calo e porcentagem de brotações deformadas.

Os resultados, dos três clones obtidos foram analisados separadamente, com o objetivo de ajuste de protocolo para cada clone. Estes resultados foram submetidos à análise de variância e suas médias ajustadas à regressão.

As análises estatísticas foram obtidas utilizando-se o Programa Computacional "GENES" (Cruz, 2001).

Para as características brotações com formação de raízes, brotações com formação de calos e brotações deformadas, foi realizada análise descritiva baseada na ausência e presença.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho observou-se que clones de *O. grossiorum* respondem à presença de BAP no meio de cultura, confirmando a seleção feita na etapa 1, quando foram selecionados clones com esta característica, contudo esta resposta é dependente do genótipo estudado. Para os Clones 05 e 09, a melhor concentração foi a de 20µM de BAP (Figura 1). Os efeitos dos reguladores de crescimento geralmente não são absolutos e específicos. A resposta das células, tecidos e órgãos *in vitro* varia principalmente com o genótipo da planta (George, 1996).

Em concentrações elevadas de BAP observou-se efeito antagônico do regulador de crescimento no número de brotações o que pode ser atribuído a sua fitotoxicidade ao vegetal (Leshem et al., 1988).

O comprimento de brotações foi reduzido em todos os clones, na presença de BAP no meio de cultura, sendo os menores comprimentos observados, em geral, nas concentrações mais elevadas de BAP. A redução no comprimento médio de brotação observada com o aumento da concentração de BAP ao meio de cultivo pode ser atribuída à diminuição da relação auxina/citocinina das propágulos *in vitro*, o que pode levar a inibição do alongamento da brotação (Taiz e Zeiger, 2004). Outra provável causa para esta redução pode ser devido à competição das brotações emergentes, uma vez que o número de brotações aumenta em meio de cultivo contendo BAP. Em bromélias *A. imperialis* (Naves, 2001), *V. hieroglyphica* e *Vriesea forsteriana* (Mercier e Kerbauy, 1995), observou-se resultados semelhantes, mesmo sendo de subfamílias diferentes.

Observou-se também diferença do comprimento entre os clones na concentração zero de BAP, sendo o menor comprimento de brotação observado no Clone 09 (14 mm) e o maior comprimento observado no Clone 05 (29 mm). Mais uma vez demonstrando que há diferença em resposta *in vitro* entre os clones da mesma espécie estudados (Figura 1).

A formação de raízes foi observada somente no tratamento sem a adição de BAP. O efeito inibitório da adição do BAP na formação de raízes é bastante conhecido, sendo atribuída à alteração da relação auxina/citocinina. A presença de BAP no meio de cultivo também inibiu a formação de raízes em *A. strobilacea* e *Q. quesneliana* (Figueiredo, 2003) e *A. imperialis* (Naves, 2001).

Brotações má formadas foram observadas somente no Clone 05, em concentrações elevadas de BAP; contudo, em concentrações onde a multiplicação (número de brotações) é ótima não foi observada a ocorrência do mesmo. Essas brotações eram caracteristicamente hiperidricas.

O uso de citocinina estimula maior produção de parte aérea, o excesso é tóxico e compromete o desenvolvimento das culturas. A toxidez por citocinina no meio se caracteriza, principalmente, pelo excessivo entufamento e falta de alongamento das culturas, redução no tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento excessivo dos caules e hiperidricidade generalizada, com conseqüente dificuldade na etapa de enraizamento (Leshem et al., 1988). Estes autores relacionaram o processo de hiperidricidade em culturas de crisântemo e melão com toxidez de BAP. Qi-Guang et al. (1986) observaram que o excesso de BAP inibiu a brotação de gemas, reduziu drasticamente número de partes aéreas por explante e promoveu a formação de calos em culturas de *Castanea mollissima*. Segundo Jain et al. (2001), a ausência de reguladores de crescimento no meio de cultivo proporciona o desenvolvimento de maiores freqüências de plantas normais, enquanto o meio suplementado com BAP leva ao desenvolvimento de

hiperhidricidade. Este fenômeno pode ser controlado, até certo ponto, pela redução ou exclusão do BAP do meio.

## CONCLUSÕES

- O aumento gradativo das concentrações de BAP afetou o comprimento médio de brotações de todos os clones avaliados;
- O número máximo de brotações por explante varia nas concentrações de BAP de acordo com o Clone avaliado;
- Em concentrações elevadas de BAP foram observadas brotações má formadas somente no Clone 05;
- Os protocolos desenvolvidos poderão ser utilizados como base para estabelecimento de metodologias de conservação *in vitro*, podendo também ser aplicados em programas de reintrodução e produção massal de mudas para a comercialização, o que pode suprir o mercado com uma bromélia apropriada para uso em interiores e jardins.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ, C. D. Programa GENES-versão Windows. Editora UFV. Viçosa, MG. 642p. 2001.
- FIGUEIREDO, M. L. Desenvolvimento de protocolos para propagação *in vitro* de três espécies de bromeliaceae nativas do Brasil. Dissertação (MS). UFV. 2003. 57p.
- GUERRA, M. P.; DAL.; L. L. PESCADOR, R.; SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34: 1557-1563, 1999.
- JAIN, A.; KANTIA, A.; KOTHARI, S. L. De novo differentiation of shoot buds from leaf-callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hyperhydricity. **Scientia Horticulturae**, 87:319-326, 2001.
- LEME, E. M. C.; PAULA, C. C. Uma nova espécie de *Orthophytum* de Minas Gerais, Brasil. **Vidalia** 1 (1): 1-5, 2003.
- LESHEM, B.; WERKER, E.; SHALEV, D. P.: The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany** 62: 271-276. 1988.
- MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. The importance of tissue culture technique for conservation of endangered brazilian bromeliads from atlantic rain forest canopy. **Selbyana**, v. 16, n. 2, p. 147-149. 1995.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497. 1962.
- NAVES, V. C. propagação *in vitro* de bromélia imperial *Alcantarea imperialis* (Carriere) Harms. Dissertação (MS). UFLA, 2001. p. 76.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2004) Fisiologia Vegetal. 3ª Edição. Editora ARTMED. 719p.
- ZIV, M. Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. In: Debergh, P.C.; Zimmerman, R.H. (Eds.) **Micropropagation: Technology and Applications**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 45-69.

**PALAVRAS-CHAVE** - *Orthophytum grossiorum*, reguladores de crescimento, micropropagação, bromélias.

## AGRADECIMENTOS

Apoiado financeiramente pela Fapemig

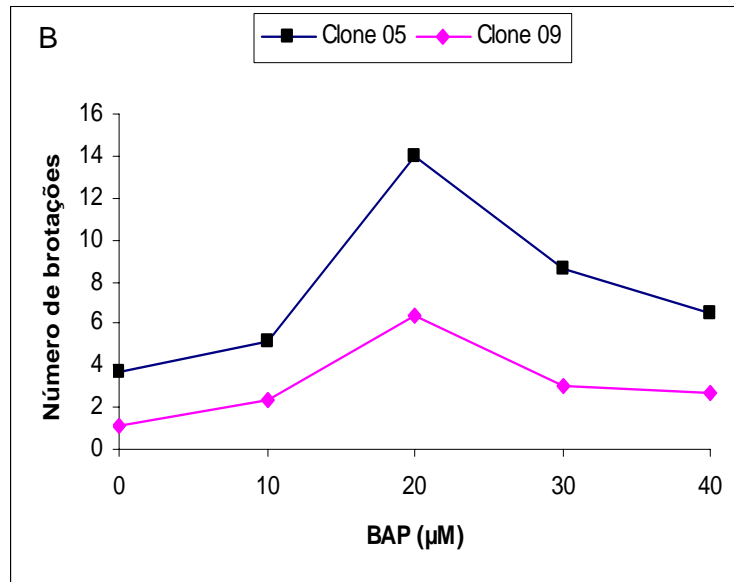
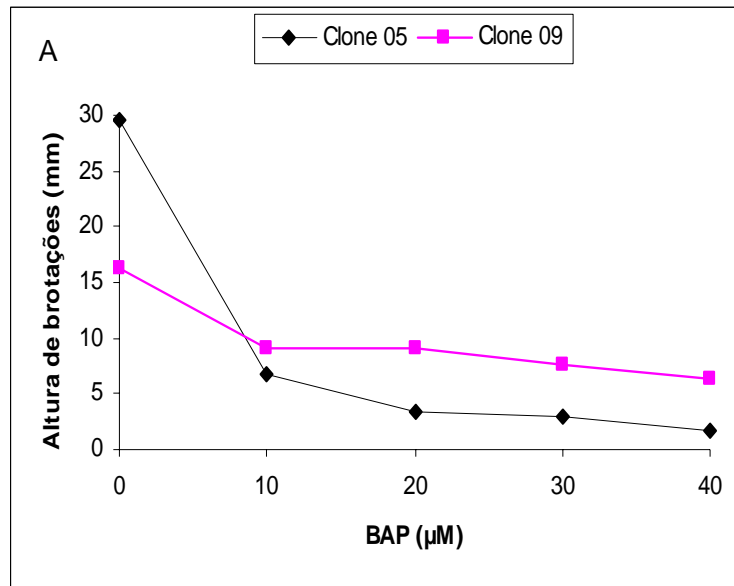


Figura 1: Efeito das concentrações de BAP no número médio de brotações (A) e no comprimento médio das brotações (B) *in vitro* nos Clones 05 e 09 de *Orthophytum grossiorum* Leme & Paula.

## Curva de crescimento de calos de maracujazeiro *Passiflora gibertii* N. E. Brown.

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>4</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - CNPq, e-mail: [lucoutsilva@yahoo.com.br](mailto:lucoutsilva@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

Calos são classificados como grupo ou massa de células com crescimento desordenado, as quais podem apresentar certo grau de diferenciação (Torres et al., 2000; Nogueira, 2004).

O estabelecimento da curva de crescimento de calos de determinada espécie é importante para identificar as fases em que ocorrem processos fundamentais ao seu crescimento. Obtendo-se essas informações, é possível estabelecer o momento exato de repicagem dos calos para um meio fresco (Soares, 2003).

A taxa de crescimento de calos pode apresentar cinco estágios: a fase lag, na qual as células se preparam para dividir; a fase exponencial de crescimento, na qual a divisão das células é máxima; a fase linear de crescimento, na qual as divisões diminuem e as células crescem; a fase de desaceleração do crescimento e a fase estacionária, onde o número de células é constante (Smith, 1992).

O objetivo deste trabalho foi determinar a curva de crescimento de calos originados de explantes foliares de maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Como explantes, foram utilizados segmentos foliares obtidos de plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* – acesso CPAC MJ-22-01 da coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados (CPAC), Planaltina, DF - germinadas e mantidas em sala de crescimento a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons 43 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas.

Para a desinfestação, as folhas foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 0,5% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 10 minutos e, posteriormente lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Após desinfestação, as folhas foram excisadas em diâmetros de ≈ 1 cm<sup>2</sup> e efetuados pequenos cortes na face abaxial, a qual ficou em contato com o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, acrescido de BAP (8,88 µM), sacarose (3%), água de coco (5%) e solidificado com ágar (0,5%). O pH do meio foi ajustado para 5,8±1 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, temperatura de 25±2°C e fotoperíodo de 16 horas.

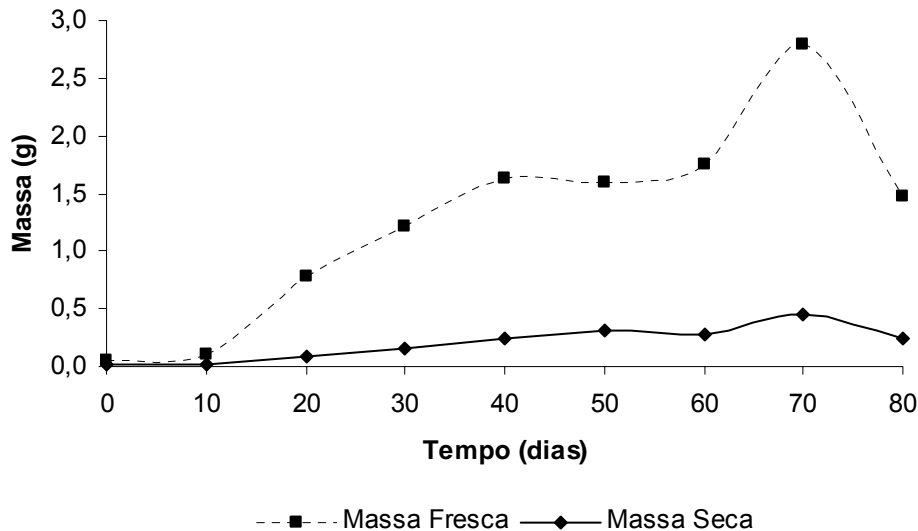
Para a determinação da curva de crescimento, em intervalos de 10 dias, os calos de maracujazeiro foram pesados em balança de precisão para determinação da matéria fresca e, logo após, acondicionados em estufa de circulação forçada a 70°C, por 72 horas, para determinação da matéria seca. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de quatro repetições por ponto da curva, sendo cada repetição composta por



cinco explantes. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software estatístico SISVAR®.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento dos calos foi observado pelos parâmetros: massa fresca e massa seca dos calos. Observou-se crescimento sigmoidal, com tendência de ganho de matéria fresca, em função do aumento do tempo de cultivo (Figura 1).



**FIGURA 1.** Curva de crescimento de calos de maracujazeiro *Passiflora gibertii*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Até o 10° dia, o pequeno acúmulo de massa seca no calo caracterizou a fase lag, na qual as células do explante preparam-se para divisão. Nesta fase, tem-se número estacionário de células, início da mobilização de metabólitos, síntese de proteínas e produção de energia. Mezzetti et al. (1991), avaliando o crescimento de calos obtidos com base em segmentos foliares de *Actinidia deliciosa* C.F. Liang, Hayward, observaram um acúmulo de matéria fresca e seca até o 30° dia após a inoculação. Em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K., Serra et al. (2000) também observaram que a fase lag ocorreu até o 30° dia de inoculação. Já Stein (2006) observou esta fase até o 40° dia após a inoculação de segmentos foliares de ingazeiro [*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn.]. Para calos obtidos a partir de segmentos foliares de *Coffea arabica* cv Rubi, Santos et al. (2003) verificaram essa fase até o 42° dia de inoculação. O longo período observado, por esses autores, nessa fase pode estar relacionado com a utilização de explantes primários retirados de plantas com diferentes genótipos e estágios fisiológicos (Serra et al., 2000).

A fase de crescimento exponencial (log), período no qual ocorre a máxima divisão celular, ocorreu entre o 10° e o 60° dia após a inoculação, com um maior acúmulo de matéria seca (Figura 1). Santos et al. (2003) observaram a fase exponencial entre o 42° e 77° dia de cultivo de calos de *Coffea arabica* L., cv Rubi. Em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K. esta fase ocorre entre o 30° e 53° dia de cultivo (Serra et al., 2000) e em calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn. entre 40° e 50° dia após a inoculação (Stein, 2006).

A fase de crescimento linear, em que os calos estabilizam a divisão celular e aumentam a área celular, foi observado entre o 60° e 70° dia de cultivo. Essa fase é caracterizada pelo crescimento e desenvolvimento celular. Serra et al. (2000) observaram a fase linear em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K. entre o 53° e 60° dia de inoculação.

Santos et al. (2003) verificaram que esta fase ocorre entre o 77° e 84° dia de cultivo em calos de *Coffea arabica* L., cv Rubi e em calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn. entre 50° e 70° dia após a inoculação (Stein, 2006). Serra et al (2000) afirmam que a fase linear pode ser atingida mais rapidamente, variando de acordo com a espécie, principalmente quando se utiliza explantes secundários, em que o tecido se apresenta mais homogêneo.

A fase de desaceleração do crescimento ocorreu entre o 70° e 80° dia de cultivo. Stein (2006) também observou essa fase no mesmo período, para calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn. Já Serra et al. (2000) observaram o intervalo de desaceleração do crescimento entre o 60° e 67° dia de inoculação em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K. Segundo Smith (1992), é nessa fase que os calos devem ser repicados em razão principalmente da redução de nutrientes, secagem do ágar ou mesmo acúmulo de substâncias tóxicas no meio de cultura. Dessa forma, a repicagem de calos provenientes de folhas de maracujazeiro *P. gibertii* deve ser efetuada no início da fase de desaceleração, ou seja, aos setenta dias de cultivo.

A fase estacionária do crescimento não foi observada durante o período avaliado.

## CONCLUSÕES

A curva de crescimento de calos de explantes foliares de *P. gibertii* N. E. Brown apresenta um elevado acúmulo de massa fresca de calos, com crescimento tipo sigmóide, com quatro fases distintas: lag (entre 0 e 10° dias de inoculação), exponencial (10° ao 60° dia), linear (60° ao 70° dia) e desaceleração (70° ao 80° dia). A repicagem de calos provenientes de folhas de maracujazeiro *P. gibertii* deve ser efetuada no início da fase de desaceleração, ou seja, aos setenta dias de cultivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MEZZETTI, B.; CONTE, L.S.; ROSATI, P. *Actinidia deliciosa in vitro* II. Growth and exogenous carbohydrates utilization by explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.26, n.3, p.153-160, 1991.

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

NOGUEIRA, R.C. Glossário de cultura de tecidos. **ABCTP** – Associação brasileira de cultura de tecidos de plantas – Notícias. n.48. abr. 2004. Disponível em: <http://www.abctp.ufla.br/ABCTP%20Not%EDcias/ABCTP48.pdf>. Acesso em: 06/02/2007.

SANTOS, C.G.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O.; PAIVA, E. Indução e análise bioquímica de calos obtidos de segmentos foliares de *Coffea arabica* L., cultivar rubi. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.571-577, 2003.

SERRA, A.G.P.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O. Análises bioquímicas de calos formados de explantes foliares de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.4, p.833-840, 2000.

SMITH, R.H. **Plant tissue culture: techniques and experiments**. San Diego: Academic Press, 171p, 1992.

SOARES, G. de A. **Aspectos do cultivo in vitro do ingazeiro [*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.]**. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2003. 90 p.

STEIN, V.C. **Micropropagação, índice mitótico e análise ultra-estrutural de calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, 100p, 2006.

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, G. F. DE; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A.S.; BRIGIDO, M.M.; ROMANO, E. **Glossário de Biotecnologia Vegetal.** Brasília: Embrapa Hortaliças. 2000. 128p.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; calogênese; maracujá nativo, cultura de tecidos.

## **Aclimatização de sisal (*Agave sisalana* Perrine)<sup>5</sup>.**

Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1</sup>; Rios, Ana Paula de Souza<sup>2</sup>, Lyra, Camila dos Santos<sup>1</sup>, Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>3</sup>, Santana, José Raniere Ferreira de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>1,2</sup> Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>1,3</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>1,4</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sangueroz@ig.com.br](mailto:sangueroz@ig.com.br). <sup>1,5</sup> Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. Fisiologia Vegetal, Coordenador do LCTV – UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

Dentre as técnicas de cultura de tecidos, a micropropagação tem apresentado excelentes resultados para inúmeras espécies. Entretanto, para algumas, ocorre elevada porcentagem de perda de plantas durante a fase de aclimatização, isto é, durante a transferência da planta da condição “in vitro” para a condição “ex vitro”. Esforços têm sido despendidos no sentido de contornar esse problema e técnicas alternativas têm sido estudadas, como a transferência de plantas enraizadas, embebição de gemas em meio enraizante antes da transferência e também a transferência de brotações não enraizadas e sem pré-indução de raízes.

A aclimatização é o processo pelo qual as plantas produzidas em condições controladas são transferidas para um ambiente com as condições climáticas naturais progressivamente, de forma a diminuir a possibilidade de estresse, levando a injúrias profundas ou até mesmo à morte (Brainerd & Fuchimgami, 1981).

Essas etapas, portanto, podem chegar a ser o fator limitante no processo de micropropagação (Grattapaglia & Machado, 1990).

O objetivo deste experimento foi observar o comportamento de mudas de *A. sisalana* Per. crescidas *in vitro*, no processo de adaptação às condições naturais.

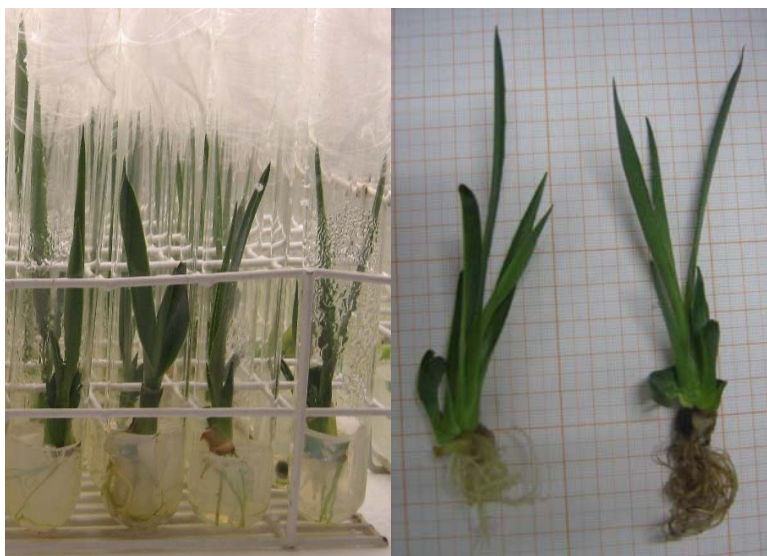
### MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um pré- teste de aclimatização com 27 bulbilhos de sisal crescidos e enraizados *in vitro*, em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, suplementado com sacarose (1,5% p/v) e solidificado com agar (0,7% p/v). As mudas tinham entre 9 e 15cm de altura e o sistema radicular bem desenvolvido (Figura 1) e foram transferidas para vasos de plástico contendo uma mistura de terra vegetal e vermiculita (1:1), que foram cobertos com garrafas plásticas de refrigerante, do tipo pet, transparentes, cortadas na metade de sua altura (Figura 2) sendo após o transplântio mantidas em telado com 30% de sombreamento.

As garrafas permaneceram fechadas durante 14 dias, depois as tampas foram retiradas e as garrafas destampadas foram mantidas por mais uma semana. As plantas eram regadas a cada 3 dias. Após este período as garrafas foram retiradas e as plantas permaneceram nessas condições por 90 dias. Esta exposição progressiva das plantas as condições ambientais teve como objetivo reduzir o estresse causado a muda durante a fase de aclimatização.

Aos 30, 60 e 90 dias após o transplântio, foram obtidos dados de comprimento da parte aérea (cm), diâmetro da base (cm) e número de folhas.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software Sisvar (Ferreira, 2003).



**Figura 1.** Mudanças de sisal antes da aclimatização. A – Cultivo *in vitro* e B – Mudanças retiradas do tubo de ensaio.



**Figura 02.** Detalhe do processo de aclimatização. A – Garrafas fechadas (microclima); B – Garrafas abertas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

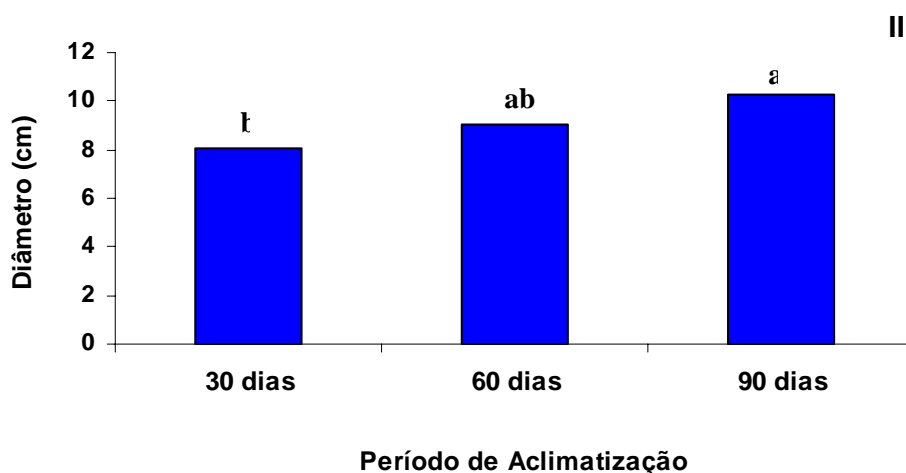
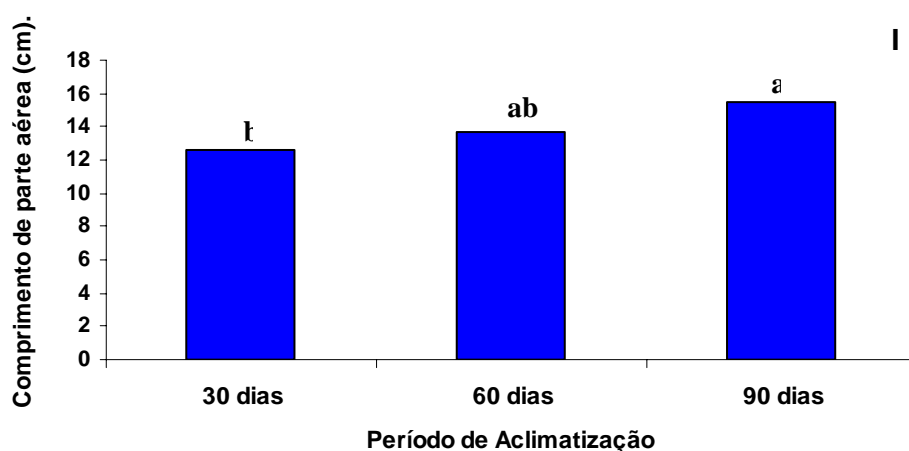
De modo geral, verificou-se através das variáveis avaliadas, que as plantas neste período inicial de aclimatização apresentaram um crescimento lento e desuniforme. Para a variável comprimento da parte aérea, pode-se observar que as plantas cresceram em média 1 cm por mês até o 90º dia. Com 90 dias as plantas mediam entre 10 e 23,9 cm de comprimento.

Neste Pré-teste de aclimatização as mudas de sisal *A sisalana* não apresentaram problemas quanto a sua adaptação ao ambiente e obtiveram uma taxa de 100% de sobrevivência, cresceram normalmente e apresentaram um excelente desenvolvimento.

O substrato utilizado (Terra Vegetal + Areia na proporção - 1:1) também mostrou-se favorável para a aclimatização de mudas de *Agave sisalana*.

Observou-se também nesse período que as folhas apresentavam espinhos nas bordas das folhas, que desapareceram com o tempo de cultivo.

A utilização das garrafas como recipiente na aclimatização das mudas, mostrou-se como uma metodologia eficiente, propiciando excelentes percentagens de sobrevivência. Isto foi possível porque as garrafas possibilitam manter um microambiente, inicialmente, com altas umidades relativas do ar, que foi reduzida progressivamente. A perda excessiva de água pelas mudas produzidas *in vitro* é apontada como um dos principais fatores envolvidos na aclimatização (Hoffmann, 2002), tendo em vista que a remoção das mudas das condições *in vitro* provoca um estresse crítico sendo então necessário manter a umidade alta e a temperatura amena (Silva *et al.*, 1995).



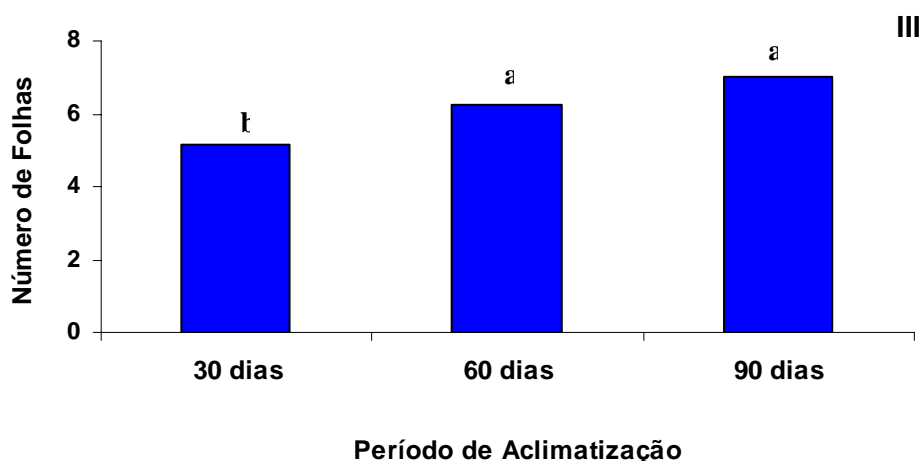


Figura 3. Média geral para comprimento da parte aérea (I), diâmetro (II) e número de folhas (III) de plantas de sisal aclimatizadas durante 90 dias.

#### CONCLUSÃO

Neste Pré-teste de aclimatização as mudas de sisal (*A. sisalana*), crescidas *in vitro* não apresentaram problemas quanto a sua adaptação ao ambiente e obtiveram uma taxa de 100% de sobrevivência.

Os resultados obtidos sugerem que a umidade relativa no microambiente propiciado pelas garrafas pet contribuiu para as condições adequadas para a aclimatização das mudas de sisal.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAINERD, K.E.; FUCHIMGAMI, L.H. Acclimatization of asptically cultured plants to low relatively humidity. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.106, n.4, p.515- 518, july. 1981.

FERREIRA, D. F. **SisVar – Versão 4.3**. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO,M.A. Micropropagação. In:TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília:ABCTP/EMBRAPA-CNPQ, 1990. p.99-170.

HOFFMANN, A. Aclimatação de mudas produzidas *in vitro* e *in vivo*. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.23, n.216,p.21-24, 2002.

MURASHIGE, T.& SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 15, 473-497, 1962.

SILVA, A.T.; PASQUAL, M.; ISHIDA, J.S.; ANTUNES, L.E.C. Aclimatação de plantas provenientes da cultura *in vitro*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p.49-53, 1995.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Agave sisalana* Perrine, micropropagação, estabelecimento *in vitro*, aclimatização.



## Aspectos da germinação *in vitro* de sementes de maracujazeiro *Passiflora gibertii* N. E. Brown.

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>3</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>4</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [fernandapereirasoares@yahoo.com.br](mailto:fernandapereirasoares@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

O estabelecimento dos bancos ativos de germoplasma (BAGs) *in vitro* tem sido bem sucedido para algumas espécies de maracujazeiro, especialmente as que exigem produção de matrizes livres de vírus, com a vantagem da economia de espaço e simplificação nos procedimentos de intercâmbio e quarentena de plantas. A falta de protocolos de regeneração e conservação *in vitro* não tem permitido, ainda, o uso extensivo deste processo de manejo de germoplasma (Meletti et al., 2004; Passos et al., 2004). A necessidade de repetidas subculturas, a exigência de infra-estrutura e de mão-de-obra especializadas e a freqüente contaminação fitossanitária têm dificultado o processo (Meletti et al., 2004).

A espécie *Passiflora gibertii* N. E. Brown possui grande potencial de utilização como porta-enxerto e também no melhoramento, pela sua resistência à morte prematura, à cladosporiose, à bacteriose, à antracnose e a nematóides (Junghans et al., 2006b; Junqueira et al., 2005; Oliveira & Ruggiero, 1998; Sharma et al., 2005). Plântulas germinadas *in vitro* podem constituir ótima fonte de explantes para estudos de morfogênese. Todavia, sementes do maracujazeiro apresentam problemas de dormência sob condições *in vitro*, ocasionando taxas de germinação baixas e desuniformes (Junghans et al., 2006a).

Para a cultura do maracujazeiro, não existem informações suficientes sobre a germinação *in vitro*. Isto demonstra a importância deste tipo de estudo para contribuir no sucesso da fase de estabelecimento da micropropagação por meio de sementes. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi estudar aspectos da germinação *in vitro* de sementes de maracujazeiro *Passiflora gibertii* N. E. Brown.

### MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal, foram utilizados frutos maduros de maracujazeiro *Passiflora gibertii* N. E. Brown - acesso CPAC MJ-22-01 da coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados (CPAC), Planaltina, DF, coletados em julho de 2006.

Após a abertura dos frutos, as sementes foram lavadas em água corrente e posteriormente, colocadas para secar à sombra por quatro dias (sementes secas). Após quatro dias, novos frutos foram abertos isolando-se as sementes que foram lavadas em água corrente (sementes frescas).

Os dois grupos de sementes foram transferidos para câmara de fluxo laminar, no qual, foram imersas em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 1% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 20 minutos e lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Foram testados diferentes tipos de escarificação (ausência de escarificação, retirada da ponta da semente com pinça e bisturi e retirada da ponta da semente com lixa, manualmente).



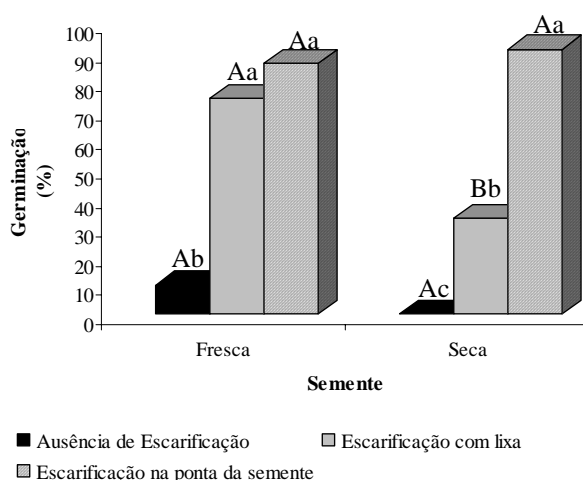
Sementes cujas pontas foram escarificadas com lixa, foram imersas em álcool 70% (v/v), por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 1% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito), por 10 minutos e lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada. Após escarificadas manualmente, foram imersas novamente em NaOCl, com 1% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito), por 10 minutos e lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada. Após escarificação, sementes foram inoculadas em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (0; 28,87; 57,74; 86,61 e 115,47 µM), sacarose (3%) e solidificado com ágar (0,5%). O pH do meio foi ajustado para 5,8±1 antes da autoclavagem, a 120°C, durante 20 minutos. Após inoculadas, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, temperatura de 25±2°C e fotoperíodo de 16 horas.

A avaliação foi realizada em intervalos de dois dias, durante 45 dias, sendo observados a percentagem de sementes germinadas e o índice de velocidade de germinação (IVG), em cada tratamento. Foi considerada germinada a semente que apresentava a radícula protundida.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial triplo 3x2x5 (tipo de escarificação, tipo de semente e concentração de GA<sub>3</sub>), com quatro repetições por tratamento, cada uma composta por cinco tubos de ensaio, cada tubo contendo uma semente. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software estatístico Sisvar®, sendo as médias dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey, com significância fixada em 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as observações, o melhor resultado para a variável percentagem de germinação foi obtido com a utilização de escarificação da ponta das sementes secas (91%) (Figura 1). Observa-se que, para as sementes frescas, não houve diferença estatística entre escarificação da semente com lixa (74%) e retirada da sua ponta (86%). Porém, esta última, apresentando maior percentagem, tanto para sementes frescas como para sementes secas, pode ser indicada como a melhor forma de escarificação para a quebra de dormência das sementes de *Passiflora gibertii in vitro*. A ausência de escarificação proporcionou as menores taxas de germinação, tendo, para as sementes secas, havido ausência de germinação e para sementes frescas apenas 10% (Figura 1). Estes resultados permitem concluir que a espécie *Passiflora gibertii* possui dormência extra-embriônica, superada facilmente pela quebra da ponta da semente, ou seja, por ação mecânica.

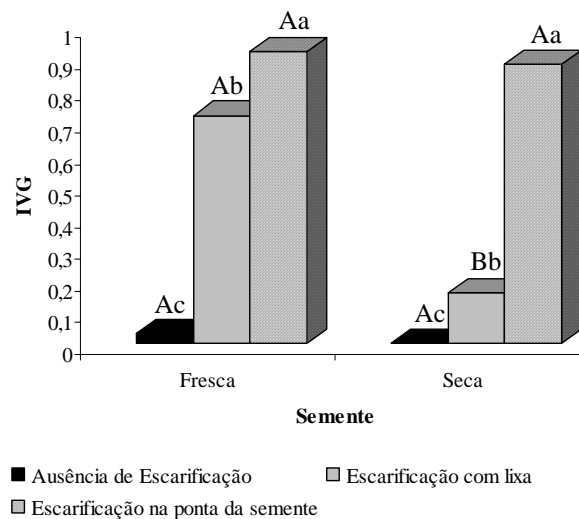


**FIGURA 1.** Percentagem de germinação *in vitro* de sementes de *Passiflora gibertii* provenientes de diversos métodos de quebra de dormência. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com Junghans et al. (2006a) que recomendam a retirada parcial do tegumento das sementes de *Passiflora gibertii* para a obtenção de plântulas *in vitro*. No entanto, os autores obtiveram, com o tratamento mecânico, 58% de germinação *in vitro*, que é considerado baixo, enquanto que, no atual trabalho, o maior percentual de germinação obtido foi de 91%. Provavelmente, os autores citados utilizaram método de escarificação que não expõem o embrião, como ocorre quando se retira a ponta do tegumento ou coletaram frutos em época diferente da utilizada no presente trabalho.

De maneira geral, as sementes frescas obtiveram maior percentagem de germinação (56,67%) que as secas (41,33%), porém, com maior percentagem de germinação para sementes secas (91%), quando se utilizou escarificação da ponta da semente.

O maior índice de velocidade de germinação (IVG) foi obtido para sementes frescas com escarificação de suas pontas (0,92) (Figura 2). Para sementes secas, foi observado resultado semelhante (0,88). Assim como os resultados obtidos para percentagem de germinação *in vitro*, a ausência de escarificação obteve a velocidade mais lenta para sementes frescas (0,03) e secas (0) (Figura 2), corroborando com os resultados anteriores.



**FIGURA 2.** Índice de velocidade de germinação *in vitro* de sementes de *Passiflora gibertii* provenientes de diversos métodos de quebra de dormência. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Melo et al. (2000) afirmam que é muito comum a baixa germinação de espécies não domesticadas de maracujazeiro. Até que se chegue ao ponto expressivo de germinação, é necessário avaliar e desenvolver técnicas, daí a grande importância de realizarem-se pesquisas com estas espécies. A médio e longo prazos, o melhoramento genético vegetal deverá selecionar plantas dentro das populações, considerando a taxa de germinação das sementes, juntamente com outras características agrônômicas.

## CONCLUSÕES

Melhores resultados para as variáveis percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação são obtidos com a utilização de escarificação da ponta das sementes com bisturi. As sementes frescas obtêm maior percentagem de germinação que as secas, porém, com maior percentagem de germinação para sementes secas, quando se utiliza escarificação da ponta da semente. A espécie nativa *Passiflora gibertii* N. E. Brown possui dormência extra-embriônica mecânica, que é superada com a escarificação da ponta da semente com bisturi.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- JUNGHANS, T. G.; VIANA, A. J. C.; JUNGHANS, D. T. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de maracujá *gibertii* com e sem tegumento parcialmente removido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio-RJ. **Palestras e resumos...** Cabo Frio-RJ: SBF/UENF/UFRuralRJ, 2006a. p. 191.
- JUNGHANS, T. G.; VIANA, A. J. C.; JUNGHANS, D. T. Período de armazenamento e tratamento mecânico na germinação de sementes de maracujá *gibertii*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio-RJ. **Palestras e resumos...** Cabo Frio-RJ: SBF/UENF/UFRuralRJ, 2006b. p. 191.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-106.
- MELETTI, L. M. M.; BARBOSA, W.; VEIGA, R. F. A. **Criopreservação de sementes de três espécies de maracujazeiro**. 2004. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/centros/fruticultura/trabalhosmaracujacrio.htm>. Acesso em 02/01/2007.
- MELO, A. L.; OLIVEIRA, J. C.; VIEIRA, R. D. Superação de dormência em sementes de *Passiflora nitida* H. B. K. com hidróxido de cálcio, ácido sulfúrico e ácido giberélico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 260-263, Ago. 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal, SP: FUNEP, 1998. p. 291-310.
- PASSOS, I. R. da S.; MATOS, G. V da C.; MELETTI, L. M. M.; SCOTT, M. D. S.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. A. R. Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida* Kunth germinadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 380-381, ago. 2004.
- SHARMA, R. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; GOMES, A. C. Reação de espécies de *Passiflora* a nematóides-das-galhas. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PINTO, A. C. Q.; SOUSA, E. S. (Ed.). **Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro: trabalhos apresentados**, 4. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 183-186.

## PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; maracujá nativo; cultura de tecidos; dormência de sementes.

## Calogênese de *Passiflora gibertii* a partir de segmentos cotiledonares.

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>3</sup>; Souza, Ana Cristina<sup>4</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Auxiliar de laboratório do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [acstina@yahoo.com.br](mailto:acstina@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

Na tentativa de otimizar os métodos de propagação de *Passiflora gibertii*, a embriogênese somática apresenta-se como uma das melhores opções, por apresentar algumas vantagens como alta taxa de multiplicação; escalonamento da produção pela manutenção de embriões em meios de cultura; plantio direto da muda sem necessidade de enxertia; além de possibilitar a transferência de genes (Barros, 1999).

O tipo de regulador vegetal bem como as concentrações utilizadas são certamente aspectos importantes no processo de embriogênese somática. De modo geral, auxinas e citocininas são consideradas as duas classes de reguladores vegetais mais importantes para a regulação do crescimento e desenvolvimento organizado em cultura de tecidos (Gaspar et al., 1996). Especificamente quanto ao processo de embriogênese somática *in vitro*, as auxinas desempenham papel essencial na indução do embrião somático em cultura e posterior desenvolvimento desse embrião (Zimmerman, 1993). O regulador mais utilizado com esse propósito é o 2,4-D (Dornellas et al., 1992; Zuo et al., 2002), que pode vir acompanhado de citocininas, como a cinetina. Outro regulador interessante a ser estudado é a auxina picloram, que promove alta indução de calos (Figueiredo et al., 2000; Rosal, 2004; Stella & Braga, 2002).

O objetivo deste trabalho foi determinar um protocolo de indução de calogênese a partir de segmentos foliares cotiledonares em maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal foram utilizadas plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* - acesso CPAC MJ-22-01 germinadas *in vivo* e mantidas em sala de crescimento, a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons de 43 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. Foram utilizadas plantas com 45 dias.

Para a obtenção de calos embriogênicos, foram utilizadas folhas cotiledonares que para serem desinfestadas, foram levadas para câmara de fluxo laminar e imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), com 0,5% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 10 minutos e, posteriormente, lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Após desinfestação, as folhas foram excisadas em diâmetros de ≈ 1 cm<sup>2</sup>. Os explantes receberam pequenos cortes por toda a superfície, com bisturi e foram inoculados com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

O meio de cultura utilizado foi MS (Murashige & Skoog, 1962), contendo metade da concentração de sais, suplementado com sacarose (3%) e diferentes concentrações de picloram (0; 2,07; 4,14; 6,21 e 8,28 µM) ou 2,4-D (0; 2,26; 4,52; 6,79 e 9,05 µM) combinadas com cinetina (0 e 0,46 µM). O pH do meio foi ajustado para 5,8±1, antes da autoclavagem, a

120°C, durante 20 minutos. Depois de inoculados, explantes foram mantidos no escuro, à temperatura de 25±2°C por 30 dias.

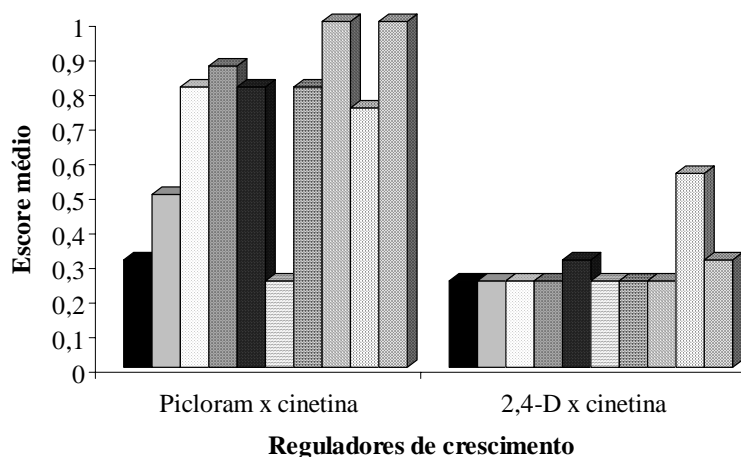
Para análise estatística, a calogênese foi classificada nas seguintes categorias: 0 = ausência de calos; 1 = explantes intumescido; 2 = início da calogênese; 3 = 50% do explante coberto por calos; 4 = mais que 50% do explante coberto por calos e 5 = explante totalmente coberto por calos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 12 repetições por tratamento. Os resultados foram analisados no programa estatístico SAS®, pela correlação de Spearman, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis e obtendo-se o escore médio de formação de calos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela Figura 1, observa-se que, de maneira geral, a presença de picloram e cinetina no meio de cultura proporcionou maior formação de calos que a utilização de 2,4-D e cinetina.

Melhores resultados para calogênese a partir de segmentos foliares cotiledonares foram observados com a utilização de 4,14 e 8,28 µM de picloram combinado com 0,46 µM de cinetina, com escore médio de 1. Piores resultados de indução de calos (0,31 e 0,25) foram obtidos na ausência de picloram, independente de cinetina. O regulador 2,4-D induziu uma pequena formação de calos, com maior escore de 0,56, na concentração de 6,79 µM, combinada com 0,46 µM de cinetina.



- Picloram 0 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 0 µM x cinetina 0 µM
- ▒ Picloram 2,07 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 2,26 µM x cinetina 0 µM
- Picloram 4,14 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 4,52 µM x cinetina 0 µM
- ▓ Picloram 6,21 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 6,79 µM x cinetina 0 µM
- Picloram 8,28 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 9,05 µM x cinetina 0 µM
- ▒ Picloram 0 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 0 µM x cinetina 0,46 µM
- ▓ Picloram 2,07 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 2,26 µM x cinetina 0,46 µM
- ▒ Picloram 4,14 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 4,52 µM x cinetina 0,46 µM
- ▓ Picloram 6,21 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 6,79 µM x cinetina 0,46 µM
- ▒ Picloram 8,28 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 9,05 µM x cinetina 0,46 µM

**FIGURA 1.** Indução de calos em segmentos foliares cotiledonares de *P. gibertii* em meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais e suplementado com diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento, aos 30 dias de cultivo.

De acordo com Vietz & San-José (1996), citados por Nicioli (2006), em muitos casos, é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a calogênese.

A interação entre auxinas e citocininas é, muitas das vezes, responsável pela alta indução de calos. Em *Rudgea jasminoides*, Stella & Braga (2002) verificaram que a maior ocorrência de calos foi observada em meio MS suplementado com 2,22 µM de cinetina, associado a 2,07 µM de picloram.

Rosal (2004) utilizou segmentos foliares jovens, oriundos de plântulas com 60 dias de cultivo *in vitro* e *seedlings*, como explantes, em um trabalho de indução de calos em candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac Leish). A autora estudou o efeito de picloram e 2,4-D, em combinação ou não com as citocininas BAP e cinetina e chegou à conclusão de que o picloram, em geral, apresenta melhores respostas para a formação de calos, em comparação ao 2,4-D. Resultados semelhantes foram obtidos por Figueiredo et al. (2000), que estudaram diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento na indução de calos em explantes foliares de *Rollinia mucosa*. Os autores concluíram que o meio acrescido de picloram foi o que mais induziu calos.

O presente estudo está de acordo com os autores citados, tendo o picloram, associado à cinetina, promovido maior formação de calos que 2,4-D e cinetina.

## CONCLUSÃO

A adição de picloram e cinetina ao meio de cultura promove maior formação de calos em explantes foliares cotiledonares de *P. gibertii* que 2,4-D e cinetina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, L. M. Embriogênese somática. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, p. 36-43, 1999.
- DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Histological Analysis of organogenesis and somatic embryogenesis induced in immature tissues of *Stylosanthes scabra*. **Annals of Botany**, London, v. 70, n. 5, p. 477-482, Nov. 1992.
- FIGUEIREDO, S. F. L.; SIMÕES, C.; ALBARELLO, N.; VIANA, V. R. C. *Rollinia mucosa* cell suspension cultures: establishment and growth conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 63, n. 2, p. 85-92, 2000.
- GASPAR, T.; KEVERS, C.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; REID, D.M.; THORPE, T.A. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, v. 32, n. 4, p. 272-289, 1996.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NICIOLI, P. M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) - Coville]**. 2006. 89 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ROSAL, L. F. **Germinação, indução de calos, micropropagação e anatomia foliar da candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac Leish)**. 2004. 106 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- STELLA, A.; BRAGA, M. R. Callus and cell suspension cultures of *Rudgea jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 68, n. 3, p. 271-276, Mar. 2002.

ZIMMERMAN, J. L. Somatic embryogenesis: a model for early development in higher plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1411-1423, Oct. 1993.

ZUO, J. R.; NIU, Q. W.; FRUGIS, G.; CHUA, N. The WUSCHEL gene promotes vegetative-to-embryonic transition in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 349–359, May 2002.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; indução de calos; regulador de crescimento.

## Germinação *in vitro* de *Discocactus catingicola* (Cactaceae).

Emília Machado Sherlock<sup>1</sup>; José Geraldo de Aquino Assis<sup>2</sup>; Luciana Veiga Barbosa<sup>1</sup> e Moema Cortizo Bellintani<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – UFBA, <sup>2</sup> Laboratório de Citogenética Vegetal – UFBA. Rua Barão de Geremoabo s/n, Instituto de Biologia, Campus Universitário de Ondina, Salvador-Bahia, fone: (71) 3263-6546; [mi\\_msherlock@yahoo.com.br](mailto:mi_msherlock@yahoo.com.br); [mcbellintani@yahoo.com.br](mailto:mcbellintani@yahoo.com.br).

A família Cactaceae apresenta ampla distribuição pelo território brasileiro. O gênero *Discocactus* pertence à subfamília Cactoideae e agrupa espécies que encontram-se em maior ou menor grau ameaçadas de extinção. O número de populações conhecidas para cada espécie é reduzido, e em geral são de tamanho pequeno, o que torna estas populações extremamente vulneráveis à destruição de seus habitats e à coleta de plantas para satisfazer o comércio de plantas ornamentais. Como resultado, o gênero inteiro foi listado no Apêndice 1 de CITES (Convenção Internacional sobre o Comércio de Espécies Silvestres). Este trabalho objetivou o avaliar a germinação *in vitro* das sementes de *Discocactus catingicola*. Sementes coletadas em Juazeiro – Ba foram encaminhadas para laboratório e armazenadas em recipientes plásticos fechados sob temperatura ambiente. Decorridos 100 dias do armazenamento as sementes foram desinfestadas com hipoclorito 1,5% (15 minutos) + álcool 70% (1 minuto). Após a desinfestação as sementes passaram por quatro lavagens em água estéril e foram colocadas para germinar em ágar 0,8% ou meio MS com  $\frac{1}{2}$  ou  $\frac{1}{4}$  da concentração salina, sob temperatura constante ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Foram feitas cinco repetições de 20 sementes por tratamento. A germinação foi acompanhada por 20 dias após a germinação da primeira semente. As taxas de germinação foram baixas para todos os tratamentos avaliados, sendo observado 3% de germinação em ágar e MS  $\frac{1}{4}$  e 2% em MS  $\frac{1}{2}$ . A germinação ocorreu entre o 20º e o 22º dia no ágar, entre o 20º e o 21º dia no MS  $\frac{1}{4}$  e entre o 21º e o 22º dia no MS  $\frac{1}{2}$ . Não foram observadas diferenças significativas nos índices de contaminação entre os três tipos de meio utilizados. Apenas 1% das sementes foram perdidas por contaminação com fungos. Devido às baixas taxas de germinação obtidas, tornam-se importantes à realização de novos estudos que avaliem a quebra de dormência e também a germinação de sementes recém coletadas.

### PALAVRAS-CHAVES

*Discocactus catingicola*; Cactaceae; Cacto; germinação *in vitro*; sementes.

---

\* Apoio financeiro FAPESB



## Assepsia de rizomas e inoculação de ápices caulinares de *Curcuma alismatifolia* *in vitro*

Rodrigues, Tatiana Michlovská<sup>1</sup>; Luz, José Magno Queiroz<sup>2</sup>; Lino, Leandro de Oliveira<sup>3</sup>; Rodrigues, Carlos Ribeiro<sup>4</sup>; Melo, Geraldo Batista de<sup>5</sup>

Engenheira Agrônoma, Dr<sup>a</sup> em Fitotecnia, Pós-doutoranda na Universidade Federal de Uberlândia/UFU - Instituto de Ciências Agrária/ICIAG, Av. Amazonas,s/n BL 2E, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlândia/MG, e-mail: [tatiana\\_mrodrigues@yahoo.com.br](mailto:tatiana_mrodrigues@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr em Fitotecnia, Professor do Instituto de Ciências Agrária, UFU-ICIAG; <sup>3</sup> Acadêmico do Curso de Agronomia da UFU-ICIAG; <sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr em Solos e Nutrição de Plantas, Pós-doutorando na UFU-ICIAG, e-mail: [carlos\\_rrodrigues@yahoo.com.br](mailto:carlos_rrodrigues@yahoo.com.br); <sup>5</sup> Odontólogo, Dr. em Genética e Bioquímica, Professor do Instituto de Ciências Biomédicas, UFU-ICB.

### INTRODUÇÃO

O cultivo de flores tropicais tem-se tornado uma atividade agrícola cada vez mais importante no Brasil, devido à alta demanda do mercado de plantas ornamentais. Dentre as famílias com potencial para expansão deste mercado, está a Zingiberaceae que possui o gênero *Curcuma* como destaque. Este gênero tem espécies que são utilizadas como tempero e também apresentam propriedades medicinais, óleos essenciais, além de serem utilizadas como flor de corte, de vaso e como plantas aplicadas ao paisagismo. Como produto ornamental, a *C. alismatifolia* é comercializada no mercado externo como flor de corte e como rizoma (Pinto & Graziano, 2003).

A propagação do gênero *Curcuma* é basicamente por divisão de touceiras rizomatosas. Devido a esta prática de propagação vegetativa tradicional, existe a preocupação de disseminação de doenças causadas pelos agentes *Ralstonia solanacearum* (Thammakijawat, et al., 1999; Vudhivanich, 2002), *Meloidogyne incognita*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizoctonia solani* (Lins & Coelho, 2004).

Neste contexto, com a propagação *in vitro*, estes problemas são minimizados, pois esta técnica possibilita a aquisição de material propagativo vegetal livre de fitopatógenos. Além disso, através da micropropagação pode-se obter maior quantidade de mudas em um curto período de tempo, quando comparado com a propagação vegetativa tradicional.

A primeira etapa da micropropagação é o estabelecimento *in vitro* do material a ser multiplicado e para tanto, tem de se determinar a melhor metodologia para desinfestação dos explantes a serem inoculados.

Em muitos casos a presença de fungos e bactérias ocorre poucos dias após a inoculação. Em alguns casos a presença de bactérias e fungos nas plantas é detectada após algum tempo de cultivo, geralmente quando um grande número de plantas já está em produção. Além disso, por serem de difícil visualização, são facilmente transmitidas de um material para outro durante a manipulação dos explantes para a inoculação *in vitro*. Quando as condições do meio de cultura (nutrição, pH) tornam-se favoráveis ao seu desenvolvimento, os fitopatógenos passam a competir por nutrientes minerais e carboidratos do meio de cultura, comprometendo a multiplicação e o desenvolvimento dos explantes, podendo levá-los rapidamente à morte. Esta deterioração dos explantes está relacionada com a produção de metabólitos fitotóxicos pelos fitopatógenos, tais como os ácidos láctico e acético, cianeto (Pereira et al., 2003).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo de determinar uma assepsia específica dos rizomas de *C. alismatifolia* reduzindo a contaminação *in vitro* por fitopatógenos, além de detectar a presença de fungos e bactérias e identificá-los por meio de coloração de Gram.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil. Após aquisição dos rizomas de *C. alismatifolia* em vasos, estes foram mantidos em casa de vegetação para sua manutenção até momento da retirada dos explantes (ápices caulinares).

Para a montagem do experimento os rizomas foram lavados em água corrente, fazendo uso de detergente neutro e escova para retirada do excesso de solo, tomando cuidado para não danificar o tecido do rizoma. Logo em seguida foi realizada uma pré-asepsia que consistiu em imersão dos rizomas em água a 52°C durante 10 minutos, de forma que possa contribuir para a redução da contaminação bacteriana. Em seguida, foram imersos em álcool 70% por 2 minutos e posterior imersão destes em solução comercial de hipoclorito de sódio a 20% (v.v<sup>-1</sup>) por 5 minutos acrescido de 2 gotas de detergente neutro.

O material vegetal previamente limpo foi colocado imediatamente em frascos contendo água destilada e autoclavada e levados à câmara de fluxo laminar para aplicação dos tratamentos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 8 com quatro repetições, sendo cinco diferentes períodos de imersão dos brotos em solução comercial de hipoclorito de sódio (0; 10; 20; 30 e 40 minutos) e oito concentrações deste (0; 10; 20; 30; 40; 50; 60 e 70% v v<sup>-1</sup>). Após imersão nos tratamentos, os rizomas foram enxaguados três vezes em água destilada e autoclavada. Cada tubo de ensaio continha um ápice caulinar e este considerado uma parcela e cada repetição foi composta por quatro parcelas.

O meio de cultura utilizado foi o de Murashige & Skoog (1962) (MS) contendo 2 mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP) acrescido de 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e o pH será ajustado para 5,8. Posteriormente realizou-se autoclavagem à 121°C, 1 atm por 20 minutos, e após o resfriamento e solidificação do meio inoculou-se os ápices caulinares que foram extraídos dos rizomas com auxílio de uma lupa. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1°C e com fotoperíodo de 16 horas de luz durante 30 dias.

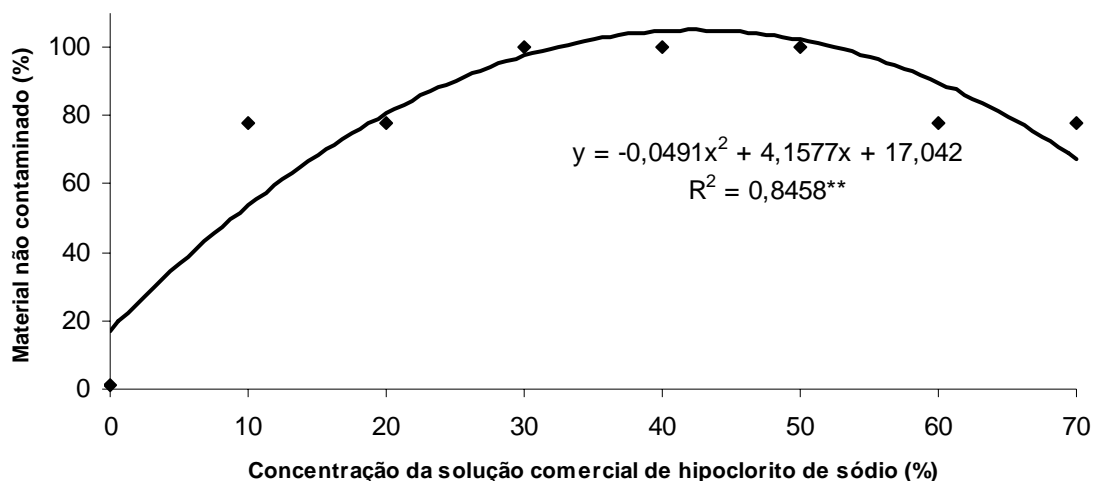
A variável analisada após 30 dias da inoculação foi a porcentagem de material não contaminado. O resultado obtido foi submetido à análise de variância com o auxílio do programa SISVAR<sup>®</sup>. Os dados em porcentagem por não apresentarem homogeneidade e normalidade, foram transformados para:  $\arcsen \sqrt{x/100}$  (Banzatto & Krocka, 1992).

Observou-se também o tipo de contaminantes (fungo e/ou bactéria) e sua identificação e separação por grupo, respectivamente. As colônias bacterianas foram isoladas com base nas características fenotípicas (pigmentação) e realizou-se o teste bacteriológico de coloração de Gram (Humphries, 1974).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de interação entre o tempo de imersão e a concentração da solução comercial de hipoclorito de sódio houve efeito significativo de 1% de probabilidade pelo teste F.

Somente nos tratamentos onde os rizomas permaneceram por 40 minutos em imersão, obteve-se resposta significativa de 1% de probabilidade e tendo uma curva quadrática. A concentração da solução comercial de hipoclorito de sódio em porcentagem que proporcionou melhor resultado de assepsia foi em torno de 40% (v v<sup>-1</sup>), como mostra a Figura 1.



**FIGURA 1** – Porcentagem de material não contaminado em relação à concentração da solução comercial de hipoclorito de sódio (%v v<sup>-1</sup>) no tempo de 40 minutos em imersão de rizomas de *C. alismatifolia*.

Trabalhos foram feitos com brotos de *Curcuma zedoaria*, onde se preparava o rizoma, cultivando-o até formação dos brotos e estes eram desinfestados. A concentração da solução comercial de hipoclorito de sódio aplicada foi de 20% e imersão em 20 minutos (Mello et al., 2000). A diferença entre os resultados de *Curcuma zedoária* e da *C. alismatifolia* aqui desenvolvido, deve-se a diferentes tecidos vegetais em que se extraiu o explante. Em *Curcuma zedoária*, Mello et al., (2000) fez uso de tecido novo e tenro, porém, para que isto ocorra é necessário esperar que os ápices caulinares presentes nos rizomas se desenvolvam até a formação dos brotos e então realizar a retirada do ápice caulinar. Já na *C. alismatifolia*, foi utilizado tecido mais velho, que ficou diretamente em contato com o substrato, as remoções dos ápices caulinares ocorreram diretamente do rizoma, desta maneira, o período de espera da formação dos brotos não é mais necessário.

No presente trabalho foi realizada a remoção dos ápices caulinares diretamente do rizoma, sem a espera de formação de brotações, para agilizar o processo de instalação do material vegetal no cultivo *in vitro*. Trabalho similar foi realizado por Debiasi et al., (2003) em que se retirou uma porção do rizoma que continha o ápice caulinar, reduzindo o tamanho inicial do explante da espécie de *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) para a assepsia.

Após o período de trinta dias de inoculação não foi detectado a contaminação dos explantes por fungos, mostrando que todos os tratamentos testados foram eficientes no combate à estes fitopatógenos. Desta maneira, pelos resultados obtidos, somente a realização da pré-assepsia foi suficiente para que o explante ficasse isento de contaminantes fúngicos. Porém foi notada a presença de bactérias, as quais se desenvolviam em torno do explante, o que mostra ser uma bactéria endofítica presente nos tecidos vegetais.

Um dos maiores problemas no cultivo *in vitro* de tecidos vegetais são as contaminações bacterianas. Pereira et al., (2003) verificaram a contaminação por bactérias endofíticas na micropropagação de batata.

Em alguns casos não se evidencia de imediato a presença de bactérias nas plantas, sendo detectada somente após algum tempo de cultivo, geralmente quando um grande número de plantas já está propagado. Além disso, por serem de difícil visualização, são facilmente transmitidas de um material para outro durante a manipulação dos explantes.

A identificação das colônias bacteriana foram tanto Gram negativas (coloração em rosa) e Gram positivas (coloração em azul) e ambas em formato de bastonetes longos.

Se faz necessário mais estudos na identificação das bactérias, com o intuito de se utilizar antibióticos específicos durante o cultivo *in vitro*, para a inibição e o combate do

crescimento e desenvolvimento dessas bactérias que estão presentes nos tecidos vegetais e/ou oriundas por manipulação do explante, durante o procedimento de inoculação.

## CONCLUSÃO

Para a assepsia de rizomas de *C. alismatifolia* o melhor tratamento foi o de 40 minutos de imersão numa solução comercial de hipoclorito de sódio à concentração de 40% (v v<sup>-1</sup>).

Não foi detectado a presença de agentes fúngicos no cultivo *in vitro* de ápices caulinares de *C. alismatifolia*, porém ocorreu o surgimento de bactérias em torno do explante, indicando que a bactéria é de origem endofítica. Foram encontradas tanto bactérias Gram positivas como negativas em forma de bastonetes.

São necessários mais estudos sobre a identificação de bactérias, de forma que possa minimizar a desinfestação dos explantes e favorecer o estabelecimento de ápices caulinares de *C. alismatifolia*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANZATTO, D. A. & KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal, FUNEP, 1992.

DEBIASI, C.; FELTRIN, F.; MICHELUZZI, F. de C. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **R. Bras. Agrocência**, v. 10, n. 1, p. 67-70, jan-mar, 2004.

HUMPHRIES, J. **Bacteriology**. London: J. Murray, 1974. 92 p.

LINS, S. R. O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v 29, n. 3, Brasília, May/June, p. 332-335, 2004.

MELLO, M. O.; AMARAL, A. F. C.; MELO, M. Quantificação da micropropagação de *Curcuma zedoaria* ROSCOE. **Scientia Agrícola**, v.57, n.4, Piracicaba Oct./Dec, 2000.

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

PEREIRA, J. E.S.; MATTOS, M. L. T.; FORTES, G. R. de L. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 827-834, jul. 2003. et al., 1991).

PINTO, A. C. R. & GRAZIANO, T. T. Potencial ornamental de *Curcuma*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 2, p.99-109, 2003.

THAMMAKIJJAWAT, P.; THAVEECHAI, N.; PARADHONUWAT, A.; WANNAKAIROJ, S.; SUTHIRAWUT, S. Bacterial rhizome rot of patumma and detection of seed-borne rhizome. **In: 37th Kasetsart University Annual Conference**, 3-5 February, 1999. Ed. Oates, C. G. Text and Journal Publication Co, Ltd, Bangkok, Thailand:.. 295-302. [Thai]

VUDHIVANICH, S. Effect of Soil Amendment with Urea and Calcium Oxide on Survival of *Ralstonia solanacearum*, the Causal Agent of Bacterial wilt or Rhizome Rot of Ginger. **The Kasetsart Journal (Natural Sciences)**, v. 36, p. 242-247, 2002.

PALAVRAS-CHAVES

*Curcuma alismatifolia*, desinfestação, micropropagação, Zingiberaceae

## **Influência de diferentes tipos de citocininas na organogênese direta de *Orthophytum mucugense*.**

Lima, Carolina Oliveira de Cerqueira<sup>1,2\*</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>2</sup>; Bellintani, Moema Cortizo<sup>3\*</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (UEFS) cerqueira.carolina@gmail.com; <sup>2</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana- Avenida Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana – BA, fone: (75) 3625-2300; <sup>3</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, campos Universitário de Ondina, Salvador – BA, fone: (71) 3263-6544. mcbellintani@yahoo.com.br.

*Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição é uma Bromeliaceae de inflorescência sésstil que possui rosetas pequenas, suas folhas estreitas de coloração verde tornam-se parcial ou completamente vermelhas, no período de floração, conferindo notável valor ornamental. O Objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes tipos de citocininas na organogênese direta, sobre a influência de dois tipos de selamento. O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais -UEFS. Como explantes, foram utilizados rizomas estiolados durante 30 dias. Após a remoção do ápice os rizomas foram inoculados em meio MS/2 suplementado com 87,64 mM, de sacarose. Foram utilizados três tipos de citocininas (BAP, CIN e TDZ) em duas concentrações (2,22 e 4,44 µM) e dois tipos de selamento (PVC e algodão). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x2x2 (tipos de citocinina x concentração do regulador de crescimento x selamento) com 15 amostras por tratamento e o controle sem presença de regulador. Após 60 dias foram avaliados o número de brotos produzidos por explante, o tamanho dos brotos e o número de explantes responsivos. Os melhores resultados encontrados em relação ao número de brotos e número de explantes responsivos foram para os tratamentos com TDZ. Já quanto ao tamanho dos brotos, apresentaram melhor desempenho: CIN 2,22 e 4,44 e BAP 2,22, todos selados com PVC (média de 12,45; 9,93 e 9,23mm respectivamente). O maior tamanho dos brotos nos tratamentos selados com PVC pode decorrer do fato da planta não despende energia para a formação de estruturas de proteção quanto à perda de água, o que não é observado no tratamento com algodão que permite trocas gasosas entre a cultura e o meio, levando à necessidade do desenvolvimento de tais estruturas.

**PALAVRAS-CHAVE:**

*Orthophytum mucugense*; Bromeliaceae; Tipos de citocinina; Propagação *in vitro*.

---

\* Apoio FAPESB

## Desenvolvimento *in vitro* de brotos micropropagados de *Orthophytum mucugense* por organogênese direta, em diferentes fontes de carbono.

Lima, Carolina Oliveira de Cerqueira<sup>1,2\*</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de <sup>2</sup>; Bellintani, Moema Cortizo <sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (UEFS) cerqueira.carolina@gmail.com; <sup>2</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual de Feira de Santana. Avenida Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana – BA, fone: (75) 3625-2300; <sup>3</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, Campus Universitário de Ondina, Salvador – BA, fone: (71) 3263-6544. mcbellintani@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

O Estado da Bahia, como o Nordeste de uma forma geral, possui uma flora bastante rica, com espécies pertencentes a diversas famílias com grande potencial para exploração econômica. Muitas destas inclusive já são exploradas de forma extrativista, o que vem acarretando uma perda genética significativa.

A família Bromeliaceae possui espécies com grande poder econômico no mercado alimentício e ornamental. Com cerca de 3.000 espécies constitui a maior família de plantas essencialmente americana, distribuindo-se do sul dos Estados Unidos até o Chile, com uma única exceção encontrada no Golfo da Guiné (Lema e Marigo, 1993; Kunha, 1995).

*Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição pertencente à família Bromeliaceae destaca-se dentro do grupo de espécies de inflorescência séssil por possuir rosetas pequenas, folhas estreitas, atingindo aproximadamente 4mm de largura, presença de estolões, formando densas populações em paredões rochosos verticais, em beira de rios e cachoeiras (Wanderley e Conceição, 2006). Suas folhas de coloração verde tornam-se parcial ou completamente vermelhas, no período de floração, conferindo notável valor ornamental.

Apesar de formar densas populações e ocorrer em Unidade de Conservação, *O. mucugense* pode ser categorizada como vulnerável por ser encontrada em uma única localidade – Mucugê/BA (Wanderley e Conceição, 2006), o que salienta a importância de estudos que permitam a produção da espécie em grande escala.

A cultura de tecidos vegetais vem expandindo fronteiras nas pesquisas básicas possibilitando sua aplicação em diversas áreas, tais como melhoramento genético de plantas, farmacologia, obtenção de culturas isentas de doenças, micropropagação e conservação de germoplasma (Cid, 2001). O sucesso para uma boa produção em larga escala de plantas micropropagadas é resultado do estabelecimento de protocolos eficientes de multiplicação, desenvolvimento e de aclimatização das mudas. A condição *in vitro* é desfavorável para a realização de fotossíntese por plantas micropropagadas, sendo essas plantas praticamente heterotróficas e necessitando de fontes exógenas de carbono (Caldas; Haridasam; Ferreira, 1998).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fontes de carbono no desenvolvimento de brotos micropropagados via organogênese direta.

### METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

Foram utilizados brotos provenientes de organogênese direta, regenerados a partir de rizomas de *Orthophytum mucugense*. O meio de cultura utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962), com metade da concentração salina (MS/2) e 7g.L<sup>-1</sup> de agar.

Utilizou-se cinco fontes de carbono na concentração de 87,64 mM: a sacarose, maltose, glicose, açúcar cristal e açúcar mascavo. O pH dos meios de cultura foi ajustado

---

\* Apoio FAPESB

para 5,8 antes da autoclavagem Os brotos foram inoculados em frasco de 250mL contendo 80 mL de meio autoclavado sob a temperatura de 120°C por 15 minutos.

Após a inoculação os frascos do experimento foram fechados com película polivinilcloreto (PVC) e mantidos em laboratório sob a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16h de luminosidade/dia e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de  $40 \text{ mol. } \mu\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  durante 60 dias.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado utilizando 12 repetições com cinco amostras cada. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey (0,05), utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.3, desenvolvido pela UFPA.

Decorridos dois meses da inoculação foram avaliados: o tamanho da parte aérea e da raiz, e o peso seco da parte aérea e da raiz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cinco tipos de fonte de carbono avaliados não apresentaram diferenças significativas em relação ao crescimento e ao ganho de matéria seca da parte aérea durante os 60 dias de avaliação (Tabela1).

Nos brotos desenvolvidos em meio com presença de açúcar mascavo como fonte de carbono foi observada uma diferença na coloração das folhas novas em relação as antigas. As folhas desenvolvidas após a exposição dos brotos ao meio de cultura com açúcar mascavo apresentaram coloração verde clara quando comparadas com as folhas antigas e de outros tratamentos, que apresentaram coloração verde escura (Figura 1B - F). Em bananeira também foi observada uma alteração na coloração das plantas desenvolvidas na presença de açúcar mascavo quando comparadas com plantas procedentes de meio com açúcar cristal ou sacarose (Bernardi, *et al.*, 2004).

Sacarose e açúcar cristal apresentaram o melhor resultado para a variável tamanho da raiz (Tabela 1). Na figura 1.G pode ser observado em destaque a raiz de uma broto desenvolvida em meio com sacarose. Quanto à matéria seca das raízes, não foram observadas diferenças para os tratamentos utilizados.

Tabela1. Valores médios para tamanho inicial dos brotos, tamanho final dos brotos, crescimento dos brotos (tamanho final – inicial), tamanho da raiz, matéria seca dos brotos e matéria seca das raízes de *Orthophytum mucugense* em função de diferentes fontes de carbono.

Fonte de Carbono	Tam. inicial brotos (mm)	Tam. final brotos (mm)	Crescimento brotos (mm)	Tamanho da raiz (mm)	Matéria seca brotos (g)	Matéria seca raiz (g)
Sacarose	7,65a	22,05a	14,40a	16,65a	0,03a	0,007a
Glicose	7,65a	19,03a	11,38a	8,65b	0,08a	0,004a
Maltose	7,43a	18,50a	11,07a	8,77b	0,03a	0,006a
Açúcar cristal	6,38a	21,84a	15,46a	13,83ab	0,03a	0,007a
Açúcar mascavo	6,22a	16,85a	10,63a	9,42b	0,02a	0,006a

Média seguida pela mesma letra minúscula, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Dentro da cultura de tecidos vegetais tem se observado cada vez mais o interesse na diminuição dos altos custos apresentados a produção de muitas micropropagadas (Kozai e Kubota, 2001) O bom desenvolvimento observado nos brotos cultivados em meio com açúcar cristal permite a substituição da sacarose por essa fonte de carbono comercialmente mais acessível. No Brasil a diferença no preço entre o açúcar comercial e a sacarose é de 45 vezes e a substituição da sacarose P.A. por açúcar cristal reduz em 50,2% o custo de produção de 1L de meio de cultura (Bernardi, *et al.*, 2004).

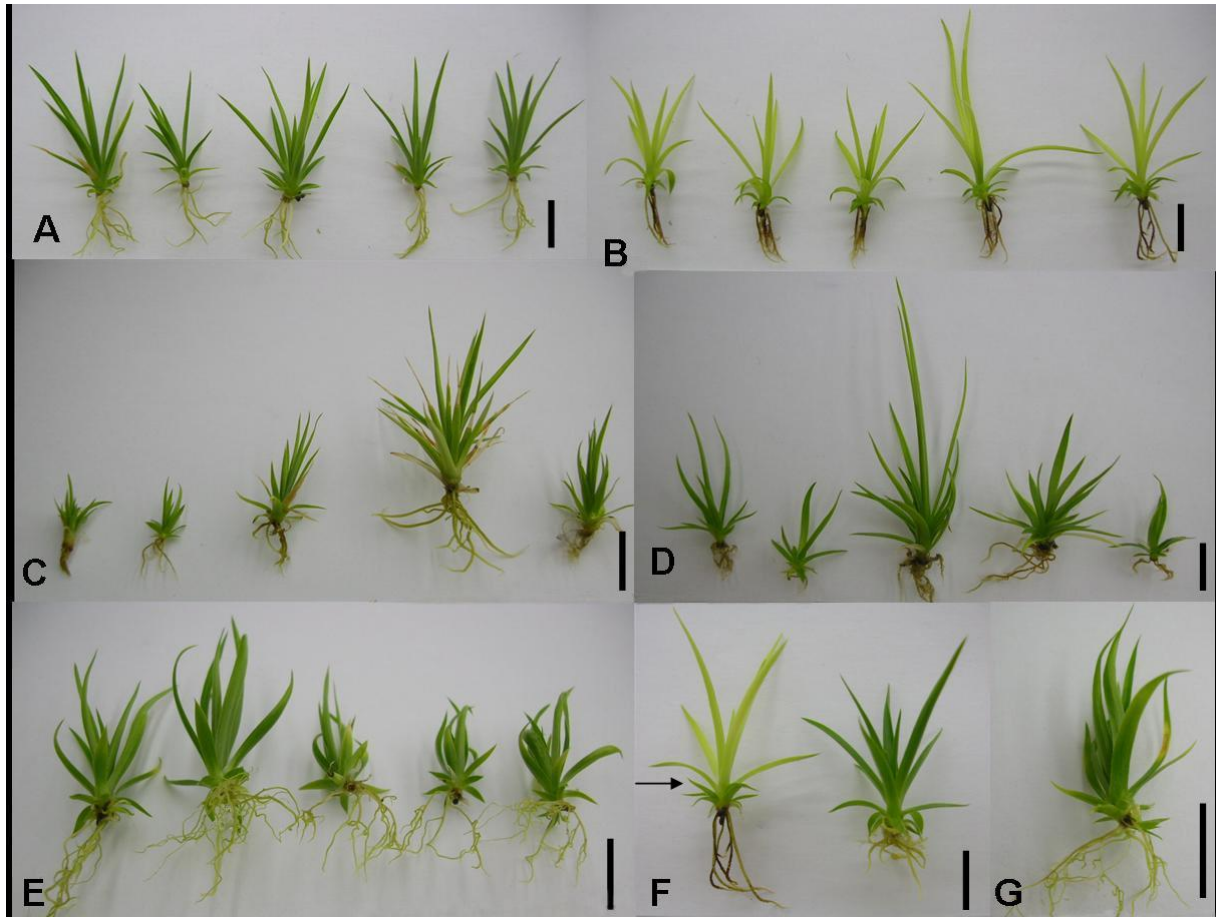


Figura 1. Brotos de *Orthophytum mucugense* desenvolvidas em meio de cultura MS/2 na presença de diferentes fontes de carbono na concentração de 87,64 mM. A - Açúcar cristal; B - Açúcar mascavo; C - Maltose; D - Glicose; E - Sacarose; F - diferença na coloração das plantas desenvolvidas em meio com açúcar mascavo; G: Destaque da raiz do meio com sacarose. As barras representam 1cm.

## CONCLUSÕES

A espécie *Orthophytum mucugense* não apresentou diferença significativa em relação ao crescimento da parte aérea em função das fontes de carbono estudadas (sacarose, maltose, glicose, açúcar cristal e mascavo). A sacarose e o açúcar cristal mostraram ser as melhores fontes de carbono para brotos micropropagados de *Orthophytum mucugense* por proporcionar o maior desenvolvimento do sistema radicular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, Walter Fernando; RODRIGUES, B. I.; CASSIERE NETO, P.; ANDO, A.; TULMANN NETO, A.; CERAVOLO, L. C. & MONTES, S. M. N. M.. Low cost of micropropagation of banana cv. Maçã in media with different carbon source and evaluation of performance of shoot production in field. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, 2004.



CALDAS, L. S.; HARIDASAM, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa/SPI, 1998. v.1, p. 87-132.

CID, L. Pedro Barrueto. A Propagação *in vitro* de plantas, o que é isso? **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**. Ano 3, nº 19, mar-abr., 16-21, 2001.

KOZAI, T; KUBOTA, C. Developing a photoautotrophic micropropagation system for woody plants. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v.114, p.525-537, 2001

KUNHA, N. **América das Bromélias**. Nova ciências, 26:32-39, 1995.

LEME, E.M.C., & MARIGO, L.C., **Bromeliads in the Brazilian wilderness**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação visual. 183p, 1993.

WANDERLEY, Maria das Graças Lapa & CONCEIÇÃO, Abel Augusto. Notas Taxonômicas e uma nova espécie do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 6, n. 1, p.3-8, 2006.

PALAVRAS-CHAVE:

*Orthophytum mucugense*; Bromeliaceae; Fonte de carbono; crescimento *in vitro*.

## **Organogênese direta de *Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição a partir de plântulas em diferentes idades, submetidas a diferentes concentrações de ANA na presença de BAP.**

Lima, Carolina Oliveira de Cerqueira<sup>1,2\*</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>2</sup>; Carneiro, Cláudia Elena<sup>3</sup>; Bellintani, Moema Cortizo<sup>4\*</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (UEFS) cerqueira.carolina@gmail.com; <sup>2</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana- Avenida Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana – BA, fone: (75) 3625-2300; <sup>3</sup> Laboratório de Micromorfologia Vegetal Av. Universitária, s/n - Km 03 da BR 116 Campus Universitário <sup>4</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, campos Universitário de Ondina, Salvador – BA, fone: (71) 3263-6544. mcbellintani@yahoo.com.br

### **INTRODUÇÃO**

A primeira bromélia identificada até o momento é um fóssil da data de mais de 36 milhões de anos encontrado na Costa Rica, denominado *Karatophillum bromelioides*. O primeiro registro em nossa civilização data de 1493, na segunda viagem de Cristóvão Colombo à América. De acordo com documentos, os nativos da ilha de Guadalupe, nas Antilhas, utilizavam uma planta muito saborosa como alimento, denominada por eles “karatas” – hoje o tão comum abacaxi (*Ananás comosus*). Desde então o abacaxi foi levado para a Europa e disseminado por todo o mundo. No final do século XVII, um padre francês, Charles Plumier, batizou as até então chamadas “karatas”, com o nome de bromélia, em homenagem ao botânico Olaf Bromel (PAULA e SILVA, 2004).

Durante incontáveis anos, diversas espécies de bromélias têm sido amplamente utilizadas como alimento ou na extração de fibras por populações nativas das três Américas. Há décadas, as bromélias são apreciadas como plantas ornamentais, especialmente nos EUA, na Europa e na Austrália, onde seu cultivo movimenta uma economia considerável, absorvendo, direta ou indiretamente, grande número de mão-de-obra (LEME, 1998; PAULA e SILVA, 2004).

A espécie *Orthophytum mucugense*, possui roseta foliar típica do gênero (*ortho*= reto; *phytum*= folha), ou seja, com presença de folhas geralmente patentes, formando um ângulo reto com o eixo da planta. As folhas são verdes e, na época de floração, tornam-se parcial ou completamente vermelhas, conferindo notável valor ornamental a esta espécie, como para a maioria dos representantes do gênero *Orthophytum* com inflorescência sésstil (Wanderley e Conceição, 2006).

Métodos de cultura *in vitro* têm sido aplicados na conservação e multiplicação de genótipos específicos de bromélias. Esta técnica é muito importante para a indústria agrícola por proporcionar a rápida propagação, e disponibilizar uma grande quantidade de mudas com características homogêneas, independente da estação do ano (Carneiro & Mansur, 2004; Droste et al., 2005).

O sucesso da micropropagação em qualquer espécie depende da identificação dos tecidos mais adequados. De forma geral, explantes oriundos de tecidos jovens e com maior atividade metabólica são os mais competentes e possuem maior potencialidade morfogenética (Pinto et al., 1994).

De acordo com Guerra et al. (1999), as condições que interferem no processo de organogênese podem ser classificadas em determinantes e permissivas. Nas primeiras salientam-se as “condições fisiológicas dos explantes” e o tipo e concentração de regulador de crescimento a ser utilizado como sinal químico para a indução/ativação da morfogênese. As chamadas condições permissivas incluem a composição geral dos meios de cultura e as condições físicas, tais como temperatura e fotoperíodo.

O objetivo desse trabalho foi o de avaliar o potencial organogênico de plântulas de *O. mucugense* em diferentes idades de desenvolvimento e diferentes concentrações do regulador de crescimento ANA.

---

\* Apoio FAPESB.

## METODOLOGIA

Sementes de *Orthophytum mucugense*, foram coletadas no Parque Municipal Sempre – Viva, localizado no Município de Mucugê-BA. Os experimentos foram desenvolvidos na Unidade Experimental Horto Florestal no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

As sementes foram retiradas de frutos maduros e colocadas para secar sobre papel filtro durante três dias a temperatura ambiente. As sementes secas foram desinfestadas em álcool 70% durante um minuto e hipoclorito 3% por 15 minutos com posteriores lavagens em água destilada autoclavada por duas vezes. A germinação ocorreu em meio com água destilada gelificada com ágar (7g.L).

Após a emissão dos primórdios foliares as plântulas foram transferidas para o MS com metade das concentrações salinas suplementado com 87,64mM de sacarose até atingirem a idade de desenvolvimento desejada.

Para avaliar a capacidade de multiplicação da espécie foram utilizadas plântulas com três idades de desenvolvimento (7,14 e 21 dias).

O meio utilizado para a multiplicação foi o MS/2 suplementado com 87,64 mM de sacarose, BAP a 2,22  $\mu\text{M}$ , diferentes concentrações de ANA (0,65; 1,3  $\mu\text{M}$ ) e 7g.L<sup>-1</sup> de ágar (Bellintani 2006). O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi realizada sob a temperatura de 120°C por 15 minutos.

Durante todo o experimento os frascos foram fechados com película de polivinilcloreto (PVC) e mantidos em laboratório sob a temperatura de 25  $\pm$  2°C, fotoperíodo de 16h e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de 40 mol.  $\mu\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Com o termino do experimento foi retirada uma amostra por tratamento para ser avaliada através de estudos anatômicos por microscopia óptica com registros fotográficos. Trabalho realizado no Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) na UEFS.

Para análise histológica as amostras foram fixadas em álcool 70% e com auxilio de lâminas de barbear foram realizados corte a mão livre. Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a 3% por 15', corados com safrablau e analisados em microscópio óptico e fotografados.

Decorridos 60 dias da inoculação foram avaliados: o número de brotos por explante, percentual de explantes responsivos, tamanho dos brotos formados e registro anatômico.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x3 (concentração do regulador de crescimento x idade dos explantes) utilizando 12 repetições com cinco amostra cada. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey (0,05), utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.3, desenvolvido pela UFLA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plântulas com 14 dias de idade apresentaram o melhor resultado nas três variáveis analisadas, exceto para o número de brotos na presença de 0,65  $\mu\text{M}$  de ANA, situação na qual não foram observadas diferenças significativas entre as plântulas com 7 e 14 dias (Tabela1 e Figura 1.F). Entre as concentrações de reguladores de crescimento utilizadas, a combinação de 1,3  $\mu\text{M}$  de ANA com 2,22  $\mu\text{M}$  de BAP apresentou melhores resultados para o número de brotos formados e para o percentual de explantes responsivos, em plântulas com 14 dias de idade (Tabela1 e Figura 1F).

A espécie em estudo apresentou um baixo número de explantes responsivos o que pode justificar a baixa média encontrada no número de brotos formados. Provável influência da dominância apical, visto a espécie possui uma elevada taxa de auxina interna, comprovada pela facilidade de enraizamento que os brotos formados *in vitro* possuem (Bellintani, 2006).

O inicio da formação de brotos ocorreu entre a terceira e quarta semana após inoculação. Resultado semelhante ao encontrado por Bellintani (2006) ao estudar a resposta regenerativa de explantes caulinares na espécie *O. mucugense*. Considerando o número de brotos formados, Bellintani (2006) obteve uma maior média, provavelmente devido ao maior

tempo que os explantes permaneceram na presença de reguladores de crescimento (180 dias), enquanto o presente trabalho foi realizado em 60 dias. Mostrando a possibilidade de um maior rendimento caso o tempo do experimento fosse prolongado.

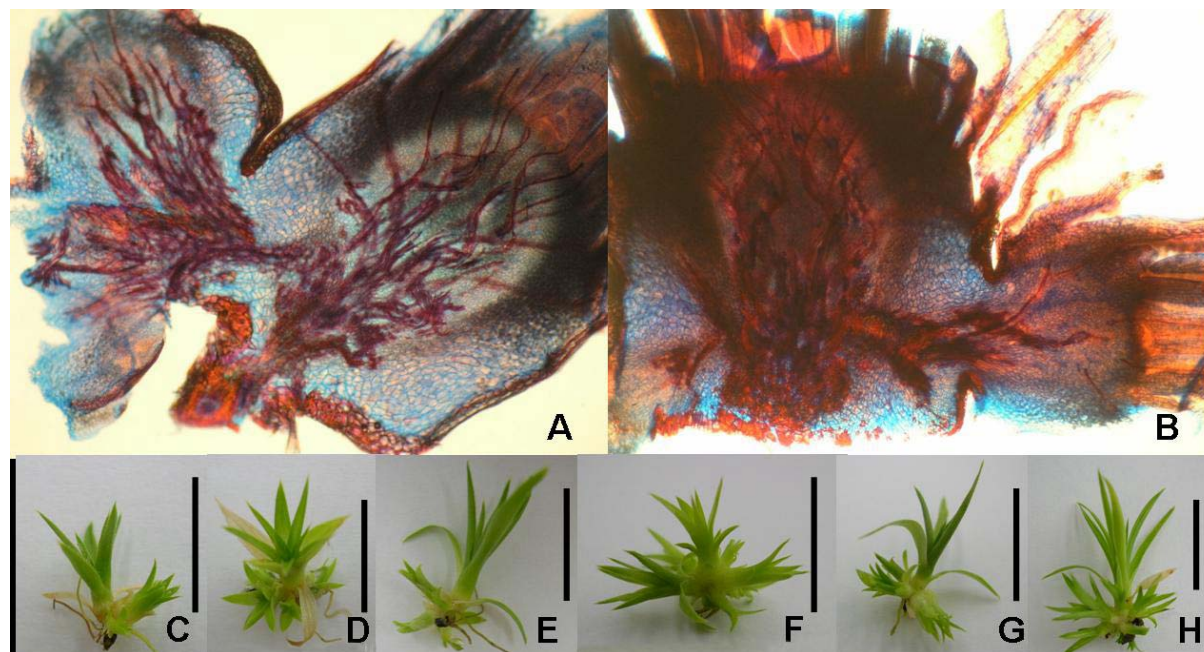
Tabela 1 - Média do número de brotos e comprimento dos brotos micropropagados por organogênese direta e porcentagem de explantes responsivos em função da idade do explante e da concentração de ANA na presença de 2,22  $\mu\text{M}$  de BAP na espécie *Orthophytum mucugense*. Feira de Santana, 2006.

Concentração de ANA	Número de brotos		Tamanho dos brotos (mm)		% exp responsivos	
	0,65	1,3	0,65	1,3	0,65	1,3
7 dias	0,27Aab	0,27Ab	1,57Ab	1,92Ab	16,67Ab	18,33Ab
14 dias	0,67Ba	1,3Aa	4,11Aa	4,24Aa	38,33Ba	56,67Aa
21 dias	0,10Ab	0,40Ab	0,98Ab	1,71Ab	3,33Ab	20,00Ab

<sup>w</sup> - Média seguida pela mesma letras maiúsculas na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

<sup>z</sup> - Média seguida pela mesma letras minúsculas na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A partir da análise anatômica (figura 1A-B) das plântulas micropropagadas foi possível confirmar a ocorrência de organogênese direta através da ligação existente entre os vasos condutores da planta mãe e dos brotos formados. Uma das diferenças encontradas entre organogênese e embriogênese é que a última possui sistema vascular fechado sem conexão com os vasos condutores do explante de origem (Peres, 2002).



**Figura 1.** Plântulas de *Orthophytum mucugense* micropropagadas em diferentes concentrações de ANA na presença de BAP a 2,22  $\mu\text{M}$ . A - anatomia de plântulas com 14 dias e suas brotações (ANA 0,65 $\mu\text{M}$ ); B - anatomia de plântulas com 21 dias e suas brotações (ANA 1,3  $\mu\text{M}$ ); C - plântula com 7 dias e suas brotações (ANA 0,65 $\mu\text{M}$ ); D - plântula com 7 dias e suas brotações (ANA 1,3  $\mu\text{M}$ ); E - plântulas com 14 dias e suas brotações (ANA 0,65 $\mu\text{M}$ ); F - plântulas com 14 dias e suas brotações (ANA 1,3  $\mu\text{M}$ ); G - plântulas com 21 dias e suas brotações (ANA 0,65 $\mu\text{M}$ ); H - plântulas com 21 dias e suas brotações (ANA 1,3  $\mu\text{M}$ ). As barras representam 1cm

Alguns estudos de micropropagação realizados com Bromeliaceae mostram grande potencial de responsividade. Barboza e Caldas (2001) utilizaram plântulas estioladas, com 5 a 7 cm sem folhas e, mostraram a importância do estiolamento na multiplicação de abacaxi onde obtiveram, na presença de 2mg/L de BAP, uma alta taxa de propagação (10,4 brotos por plântula).

#### CONCLUSÕES

Plântulas de *Orthophytum mucugense* com 14 dias na presença de BAP 2,22 µM e ANA 1,3 µM, apresentaram o melhor resultado considerando as variáveis analisadas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOZA, Sarah Brandão Santa Cruz; CALDAS, Linda Styer. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 36, n. 3, 2001.

BELLINTANI, Moema Cortizo. **Estudos da propagação *in vitro* e *ex vitro* de *Neoregelia mucugensis* Leme, *Orthophytum mucugense* Wand e Conceição e *Orthophytum albopictum* Philcox, espécies de Bromeliaceae endêmicas da Bahia**. Tese de doutorado – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2006.

CARNEIRO, L. A.; MANSUR, E. Contribuição de metodologias *in vitro* para a conservação de Bromeliaceae. **Vidalia** 2(1) p. 12- 20, 2004.

DROSTE, A.; SILVA, A.M.; MATOS, A. V.; ALMEIDA, J. W. *In vitro* culture of *Vriesea gigantea* and *Vriesia philippocoburgii*: two vulnerable bromeliads native to southern Brazil. **Brazilian Archives of biology and Technology** 48 (5), p. 717-722, 2005.

LEME, E.M.C., Canistropsis - **Bromélias da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Salamandra, 143p, 1998.

PAULA, Cláudio Coelho de & SILVA, Helena M. Peregrino da. **Cultivo prático de bromélias**. Viçosa: UFV, 3ed., 2004.

PERES, Lazaro E. P. Bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. nº 23, mar-abr, 2002.

PINTO, J.E.B.P., ARELLO, E.F., PINTO, C. A. B. P., BARBOSA, M.H.P. Uso de Explantes e Concentrações de Benzilaminopurina na Multiplicação *in Vitro* de brotos de *Kielmeyera coriacea*. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v 29, n.6, p.867-873. Jun. 1994.

WANDERLEY, Maria das Graças Lapa & CONCEIÇÃO, Abel Augusto. Notas Taxonômicas e uma nova espécie do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 6, n. 1, p.3-8, 2006.

#### PALAVRAS-CHAVE:

*Orthophytum mucugense*; Bromeliaceae; Organogênese direta.

## **Propagação *in vitro* de Tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum* Meyer, Arecaceae).**

Paulo Hercílio Viegas Rodrigues<sup>1</sup>; Arlena Maria Guimarães Gato<sup>2</sup>; Flávio Freires Ferreira<sup>2</sup>; José Augusto da Silva Cabral<sup>4</sup>; Imar César do Araújo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Coord. Tec. do Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA) - [phrviegas@hotmail.com](mailto:phrviegas@hotmail.com); <sup>2</sup> Doutoranda PPGG-UFAM - Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), Av. Danilo Areosa, 690 – Dist. Industrial – Manaus – cep 69075-351 – fone (92-3237-3870) - [gato.cba@suframa.gov.br](mailto:gato.cba@suframa.gov.br); <sup>3</sup> Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA) - [lllferreira@bol.com.br](mailto:lllferreira@bol.com.br); <sup>4</sup> Coord. Geral do Lab. de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA) – [cabral.cba@suframa.gov.br](mailto:cabral.cba@suframa.gov.br); <sup>5</sup> Diretor de Implantação do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA) – [imar.cba@suframa.gov.br](mailto:imar.cba@suframa.gov.br)

A palmeira *Astrocaryum aculeatum* Meyer, ou Tucumã do Amazonas apresenta crescimento monopodial, arborescente e monóica. Frequentemente associada à ambientes degradados, ocorre em ecossistemas de terra firme da Amazônia Central e Ocidental. Seus frutos, ricos em vitaminas A e C, possuem polpa com 3,5 % de proteínas totais e muito apreciadas em toda região Amazônica. Da polpa e da semente podem ser extraídos diferentes tipos de óleos comestíveis e propícios para a síntese do biodiesel. Cultura predominantemente de atividade extrativista, apresenta em condições naturais, tempo de germinação de suas sementes que varia de 730 a 1044 dias. A dificuldade na germinação das sementes e, portanto, conseqüente escassez de mudas, contribui para o pouco desenvolvimento da cultura. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a possibilidade de empregar a cultura de tecidos vegetais na produção de mudas de Tucumã. Foram avaliados 48 frutos maduros (três repetições de 16 frutos) e a mesma quantidade para frutos imaturos. Os embriões extraídos foram inoculados em tubos de ensaio de 2,0 cm de diâmetro por 20,0 cm de altura, contendo meio de cultivo de MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 'Phytigel' (2,0 g L<sup>-1</sup>); mio-inositol (100 mg L<sup>-1</sup>); tiamina HCl (5,0 mg L<sup>-1</sup>); piridoxina (1,5 mg L<sup>-1</sup>); ácido nicotínico (0,9 mg L<sup>-1</sup>); biotina (0,25 mg L<sup>-1</sup>); glicina (2,0 mg L<sup>-1</sup>); sacarose (30,0 g L<sup>-1</sup>); e pH ajustado para 5,8 com concentrações de 0; 2,0; 3,5 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de 6-benziladenina (6-BA). Os embriões imaturos apresentaram melhor resultado no estabelecimento *in vitro* e observou-se resultado promissor, com diferença significativa ao controle para o tratamento de 3,5 mg L<sup>-1</sup>, o que indica a possibilidade de utilizar a cultura de tecidos vegetais na propagação do Tucumã e assim acelerar a produção de mudas para essa cultura.

Palavras chave:

Micropropagação, cultura de tecidos, biodiesel

## **Efeito de diferentes doses de ANA e BAP na multiplicação *in vitro* de crisântemo (*Dentratheuma grandiflora*).**

**Marco Locarno<sup>1</sup>; Gabriel Mascarenhas Maciel<sup>1</sup>; Vanisse de Fátima Silva<sup>1</sup>, Tales Antônio Amaral<sup>2</sup>; Moacir Pasqual<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Eng. Agr°. Pos-graduação em Fitotecnia/UFLA, Professor UNIPAC Barbacena/MG; <sup>2</sup>UFLA, Departamento de Fisiologia Vegetal, <sup>3</sup> Eng. Agr° Dr., Professor Dep. De Agricultura – UFLA. Lavras-MG; C.P 37 – 37200-000 Lavras/MG. email: [marcolocarno@unipac.br](mailto:marcolocarno@unipac.br); [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br)

### **RESUMO**

O crisântemo é propagado através de estacas, mas têm apresentado sérios problemas por infecção de viroses, ocasionando prejuízos a viveiristas e produtores. A utilização da cultura de tecidos para a obtenção de plantas matrizes sadias com o objetivo de melhorar a produção. A combinação de tipo e concentração de reguladores de crescimento é fundamental para o desenvolvimento *in vitro*. O objetivo do trabalho foi avaliar as diferentes concentrações de BAP e ANA no crescimento *in vitro* do crisântemo. O meio de cultura básico foi o MS acrescido de ANA (0; 0,5 e 1,0 mg/L) e BAP (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/L) em todas as combinações possíveis. O delineamento foi o inteiramente casualizado. Com relação à influência das doses de BAP no crescimento da parte aérea, pôde-se verificar que na maioria dos tratamentos a ausência de BAP conferiu os maiores comprimentos na parte aérea. A ausência de BAP também influenciou o número de brotos nos mesmos tratamentos, T1 (0,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T5 (0,5 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP) e T9 (1,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP).

**Palavras- chave:** Reguladores de crescimento, indução, hormônio

### **INTRODUÇÃO**

O crisântemo é propagado convencionalmente através de estacas (MAY & TRIGIANO, 1991), mas as plantas assim produzidas têm apresentado sérios problemas por infecção de viroses, ocasionando prejuízos aos viveiristas e produtores. A utilização da cultura de tecidos para a obtenção de plantas matrizes sadias com o objetivo de melhorar a produção, torna-se fundamental à redução dos custos de produção e aumento de produtividade (QUERALT et al., 1991).

As auxinas e citocininas são substâncias reguladoras essenciais para o desenvolvimento dos explantes e estão intimamente relacionadas com a divisão celular e o crescimento do meristema. Uma relação elevada de citocinina/auxina é requerida para a indução direta de brotações nos explantes (TAIZ & ZEIGER, 1991). A combinação de tipo e concentração de reguladores de crescimento é fundamental para o desenvolvimento *in vitro* (MALAURE et al., 1991). EVANS et al. (1981) fazem referência ao uso das auxinas AIA ou ANA nas concentrações de 0,01 a 5 mg L<sup>-1</sup> em cultura de tecidos de várias espécies cultivadas produzindo brotações. A biossíntese de auxinas ocorre em ápices jovens (HU & WANG, 1983) e induzem o alongamento celular em raízes e brotos, a formação de raízes adventícias e em altas concentrações podem causar a desorganização do crescimento (PIERIK, 1987).

Levando-se em consideração a grande demanda de crisântemo em nível mundial e nacional, bem como o alto custo de produção das mudas aliado aos problemas fitossanitários, a multiplicação *in vitro* é uma técnica viável no que diz respeito à obtenção de plantas matrizes sadias e que serão utilizadas posteriormente na propagação convencional. O objetivo do trabalho foi avaliar as diferentes concentrações de BAP e ANA no crescimento *in vitro* do crisântemo.



## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras, Minas Gerais. A cultivar utilizada, já se encontrava estabelecida "in vitro". Os explantes se constituíram de microestacas, contendo 2 gemas, oriundas da região mediana. Em cada tubo de ensaio (25 x 150 mm) contendo aproximadamente 15 ml de meio, foi colocada uma microestaca. Esse processo foi realizado em sala asséptica, utilizando câmara de fluxo laminar. O meio de cultura básico utilizado foi o MS (1962), as concentrações de ANA e BAP foram variadas nas seguintes concentrações em 12 tratamentos: T1 (0,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T2 (0,0 mg/l de ANA e 1,0 mg/l de BAP), T3 (0,0 mg/l de ANA e 2,0 mg/l de BAP), T4 (0,0 mg/l de ANA e 4,0 mg/l de BAP), T5 (0,5 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T6 (0,5 mg/l de ANA e 1,0 mg/l de BAP), T7 (0,5 mg/l de ANA e 2,0 mg/l de BAP), T8 (0,5 mg/l de ANA e 4,0 mg/l de BAP), T9 (1,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T10 (1,0 mg/l de ANA e 1,0 mg/l de BAP), T11 (1,0 mg/l de ANA e 2,0 mg/l de BAP), T12 (1,0 mg/l de ANA e 4,0 mg/l de BAP). O meio foi solidificado com 0,7 % de ágar, sendo o pH ajustado para  $5,7 \pm 1$ , utilizando NaOH ou HCl, antes do processo de autoclavagem (121°C, 1 atm, por 20 minutos). Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 12 tratamentos e 4 repetições e os dados foram tabulados no aplicativo SISVAR (Ferreira,2000). O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas de luz, com intensidade luminosa de 2500 lux. A avaliação do experimento foi efetuada 30 dias após a instalação, através do número de brotos obtidos, ausência ou presença de raiz, tamanho da planta (cm), e o peso seco das mesmas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à influência das doses de BAP no crescimento da parte aérea, pôde-se verificar que na maioria dos tratamentos a ausência de BAP conferiu os maiores comprimentos na parte aérea. A ausência de BAP também influenciou no número de brotos nos mesmos tratamentos, tratamento 1, tratamento 5 e tratamento 9. O número de brotos foi aumentado com a presença das doses de BAP, sendo que a combinação de BAP e ANA realizada no tratamento 2 resultou em um maior número de brotos (6,16). Dados insatisfatórios foram obtidos a partir da combinação realizada no tratamento 10 onde se utilizou uma proporção de 1:1 de BAP e ANA. O peso seco não foi influenciado por nenhuma das combinações de BAP e ANA, não se diferenciando estatisticamente. Foi verificado que na ausência de BAP ocorreu à formação de raízes.

**Tabela 1-** Comprimento da parte aérea, número de brotos, peso seco e presença ou ausência de raiz de crisântemo cultivado in vitro. Lavras-MG, UFLA, 2007.

Tratamentos	Comprimento parte aérea (cm)	Nº brotos	Peso seco (g)	Presença de raiz*
1	6,25 b	1,41 a	0,0414 a	S
2	1,93 a	6,16 b	0,0396 a	N
3	1,48 a	5,08 b	0,0317 a	N
4	0,98 a	5,75 b	0,0183 a	N
5	5,46 b	1,54 a	0,0451 a	S
6	3,03 a	4,75 b	0,0428 a	N
7	2,33 a	3,58 b	0,0216 a	N
8	0,92 a	3,75 b	0,0157 a	N
9	6,19 b	1,00 a	0,0366 a	S
10	0,06 a	5,87b	0,0263 a	N
11	2,21 a	3,08 a	0,0182 a	N
12	1,33 a	1,00 a	0,0218 a	N

Teste Scott-Knott com a mesma letra na coluna não diferem significativamente a 5%.

\* S – presença; N - ausência



## REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; FLICK, C.E. Growth and behaviour of cell culture. In: THORPE, T.A. (ed.). **Plant Tissue Culture: Methods and applications in agriculture**. Academic Press, New York: p.45-113, 1981.

FERREIRA, D.F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0 In: **45ª Reunião Anual da região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45 2000**, São Carlos. Anais ... São Carlos, SP.p.225-258, Jun 2000.

HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; et al. ed. **Handbook of Plant Cell Culture**. Vol. I: Techniques for propagation and breeding. p.177- 227, New York, Macmillan, 1983..

PIERIK, R.L.M. **In Vitro Culture of Higher Plants**. Dordrecht:Martinus Nyhoff Publisher, 344p, 1987.

MAY, R.A.; TRIGIANO, R.N. Somatic Embryogenesis and plant regeneration from leaves of *Dendrathera grandiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.116, n.2, p.366-371, 1991.

MALAURE, R.S.; BARCLAY, G.; POWER, J.B. et al. The production of novel plants from florets of *Chrysanthemum morifolium* using tissue culture. 1. Shoot regeneration from ray florets and somaclonal variation exhibited by regenerated plants. **Journal of Plant Physiology**, London, v.139, p.8-13, 1991.

MURASHIGE T; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plant** 15:473–497 (1962).

QUERALT, M.C; BERUTO, M.; VANDERSCHAEGHE, A. et al. Ornamentals. In: DEBERGH, M.C.; ZIMMERMAN, R.H. (ed.). **Micropropagation - Tecnology and Aplication**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.215-230.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Redwood City, CA: Benjamin/Cummings, Publishing Company, 1991. 559p.

## **Desinfestação de meio de cultura e recipientes por hipoclorito de sódio em micropropagação de bananeira.**

Matsumoto, kazumitsu<sup>1</sup>; Coelho, Marly Catarina Felipe<sup>2</sup>; Teixeira, João Batista<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – PqEB – Final - Av.W5 Norte – 70770-900 Brasília-DF, fone (61) 3448-4700, email: [kazumoto@cenargen.embrapa.br](mailto:kazumoto@cenargen.embrapa.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [marlyc@cenargen.embrapa.br](mailto:marlyc@cenargen.embrapa.br); <sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, email: [batista@cenargen.embrapa.br](mailto:batista@cenargen.embrapa.br).

Em micropropagação de plantas, uma quantia enorme de meio de cultura e recipiente é usada e normalmente desinfestada por meio de autoclavação. Porém, este procedimento de desinfestação é caro e não aplicável para materiais destrutíveis com alta temperatura. A utilidade de hipoclorito de sódio (NaOCl) em substituição para autoclavação foi então estudada. Em vez de autoclavação, ao meio de cultura líquido ou semi-sólido de MS foram adicionados 0,002% de NaOCl provido por água sanitária. Em seguida à adição, em uma câmara asséptica, o meio líquido foi colocado em recipientes que foram previamente enxaguados pela solução de NaOCl de mesma concentração. O meio semi-sólido que contém 0,002% NaOCl e 2 g/L de Phytigel foi dissolvido em forno de microonda e distribuído aos recipientes. Brotos de bananeira cultivados *in vitro* foram transplantados para avaliação de fitotoxicidade do NaOCl. Nenhuma contaminação microbiana foi observada nos meios de cultura com NaOCl. Por outro lado, todas as culturas nas quais NaOCl não foi adicionado foram contaminadas por fungos ou bactérias. Crescimento de brotos de bananeira foi inicialmente reduzido nos meios de cultura com NaOCl, mas recuperou durante os dias seguintes. Nenhuma fitotoxicidade significativa foi observada depois de um mês de cultivo. Os resultados mostram que podemos substituir autoclavação, pelo menos em parte, pela adição de NaOCl, embora estudos mais detalhados de fitotoxicidade e surgimento de micróbios resistentes a NaOCl sejam precisos para saber o efeito de usos sucessivos do produto. A desinfestação por NaOCl torna possível usar muitos tipos de recipientes plásticos que derretem por alta temperatura, como garrafas plásticas recicláveis de refrigerantes ou pacotes plásticos de sobremesa.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Musa sp.*; água sanitária; cultivo *in vitro*; contaminação.

## Cultura de embriões zigóticos e indução de embriogênese somática em *Campomanesia guasumifolia* Berg (sete-capotes).

Michel, Adriano<sup>1</sup>; Augustin, Lizete<sup>2</sup>; Calvete, Eunice O.<sup>3</sup>; Suzin, Marilei<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Biólogo; MSc. Produção Vegetal, Prof. da Escola Agrotécnica Federal de Sertão (EAFS), Engenheiro Luis Englert, RS 135-Km 25, CEP 99170-000, Sertão - RS. Fone: (54) 3345-1341 E-mail: adriano.michel@bol.com.br

<sup>2</sup>Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>. MSc em Fitotecnia Prof. da FAMV/UPF;

<sup>3</sup>Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. em Fitotecnia Prof. da FAMV/UPF;

<sup>4</sup>Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>. MSc em Fitotecnia Prof. da FAMV/UPF.

### INTRODUÇÃO

A *C. guasumifolia* Berg., conhecida popularmente por sete-capotes apresenta-se distribuída por quase todos os estados do Brasil, sendo encontrada do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul. É uma árvore de pequeno a médio porte, de copa irregular, com casca adstringente muito rica em tanino. A madeira é usada para carpintaria, lenha e carvão. Os frutos são do tipo baga subglobosa e muitos saborosos. Apresenta crescimento lento, desuniformidade na germinação das sementes e curta viabilidade das mesmas o que dificulta a obtenção de mudas para a utilização em grandes plantios (Corrêa, 1978; Longhi 1995). Por ser uma espécie nativa merece destaque, sendo considerada uma espécie de elevado potencial para uso em programas de melhoramento genético, como planta ornamental e medicinal.

Há uma grande carência de informações sobre o cultivo *in vitro* de espécies arbóreas, principalmente as nativas. Portanto, o conhecimento gerado através desta pesquisa vem contribuir para o desenvolvimento de trabalhos futuros de micropropagação em espécies nativas semelhantes a *C. guasumifolia* Berg.

O presente trabalho teve por objetivos: (1) verificar o potencial morfogênico de embriões para o cultivo *in vitro*; (2) avaliar a taxa de sobrevivência dos embriões zigóticos durante o cultivo *in vitro*; (4) desenvolver um protocolo de indução de embriogênese somática em *Campomanesia guasumifolia* Berg., utilizando diferentes concentrações de auxina e embriões de diferentes estádios de desenvolvimento visando acelerar a produção de mudas através da micropropagação.

### MATERIAL e MÉTODOS

O trabalho constituiu-se de duas etapas: 1) Avaliação do desenvolvimento dos frutos do sete-capotes; 2) Cultura de tecidos. Para a cultura de tecidos utilizou-se embriões de três diferentes genótipos, em três diferentes estádios de desenvolvimento, onde utilizou-se dois procedimentos: Procedimento I: Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e Procedimento II: Indução de embriogênese somática

#### \* Procedimento I – Cultura de embriões zigóticos imaturos e maduros

Embriões imaturos foram resgatados dos frutos após a assepsia em álcool 70% (10 segundos) e hipoclorito de sódio 1,25% de cloro ativo por 15 minutos. Após os frutos foram lavados em água destilada e esterilizada. Para o resgate dos embriões maduros foram utilizadas sementes submetidas ao mesmo processo de assepsia. Após a assepsia os embriões foram inoculados em placas de Petri contendo meio MS, as quais foram mantidas em câmara de cultivo a uma temperatura de  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas/luz. O desenvolvimento dos embriões foi analisado através da porcentagem de germinação dos embriões em três estádios de desenvolvimento.

#### \* Procedimento II – Indução de embriogênese somática

Os embriões foram inoculados em placas de Petri contendo meio MS suplementado com diferentes concentrações de 2,4-D (1; 2 e 3 mg.L<sup>-1</sup>) além de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6g.L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado antes da autoclavagem para 5,8. Em cada placa

de Petri, foram inoculados cinco embriões. O resgate dos embriões foi feito através da retirada do tegumento da semente com o auxílio de bisturi e pinça. Os explantes foram mantidos em câmara de cultura a uma temperatura média de 25°C e um fotoperíodo de 16 horas/luz. O desenvolvimento dos embriões e a produção de embriões somáticos foram avaliados mediante observações periódicas.

## RESULTADOS e DISCUSSÃO

### Avaliação do desenvolvimento dos frutos de sete-capotes

Observou-se que a espécie *C. guasumifolia* Berg. apresenta suas sementes alojadas dentro de lóculos os quais possuem paredes protegidas por uma camada de glândulas oleaginosas. A fecundação não ocorre no mesmo instante em todos os lóculos, de forma que, em um mesmo fruto pode-se encontrar embriões em diferentes estádios: embriões alongados e com distinta diferenciação entre epicótilo e hipocótilo (medindo cerca de 02 - 03 mm) e embriões apresentando forma globular, medindo menos que 01 mm<sup>3</sup>. Não verificou-se sincronia na fecundação, ou seja, a fecundação não segue um sentido determinado (horário ou anti-horário) já que embriões mais e/ou menos desenvolvidos se encontravam dispostos de forma intercalada.

Em todos os frutos foi constatada a ocorrência de aborto de embriões. Cerca de 10% do total de óvulos de cada fruto foi abortado durante o seu desenvolvimento. Isso pode estar relacionado a abscisão precoce dos frutos antes de completar o seu desenvolvimento. Porém, se houver ao menos um embrião viável no seu interior, o fruto permanece aderido à planta. Provavelmente, o controle da abscisão é feito por algum tipo de fitorregulador produzido pelo lóculo ou pelo próprio embrião, durante o desenvolvimento. Essas informações concordam com as descrições feitas por Landrum (1982), o qual afirma que o aborto de todos os óvulos, exceto um em cada lóculo, bem como a transformação da parede interna do lóculo em um tecido glandular protetor e, o aumento no número de lóculos por ovários, são características únicas do gênero *Campomanesia*. Assim, o aborto dos óvulos deve iniciar pela "ordem" da planta mãe em direcionar seus recursos para determinados lóculos. (Figura 1).

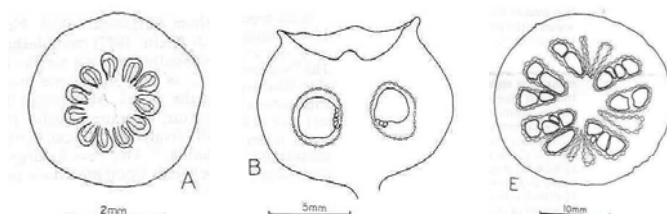


Figura 1. Esquema da disposição dos lóculos dentro do fruto e os lóculos onde foram abortados os embriões, adaptado de Landrum (1982).

### Procedimento I: Cultura de embriões zigóticos

Não se observou influência do genótipo sobre a formação de plântulas, havendo diferenças somente com relação à época de florescimento, formação de sementes e maturação dos embriões.

Tabela 1: Porcentagem de plântulas obtidas a partir de embriões zigóticos em diferentes estádios de desenvolvimento.

Estádio	N.º de Embriões inoculados	Plântulas obtidas (%)
T <sub>1</sub>	05	0%
T <sub>2</sub>	05	80%
T <sub>3</sub>	05	95%

T<sub>1</sub>- Embriões de frutos medindo 14-15 mm de diâmetro; T<sub>2</sub> Embriões de Frutos medindo 20-25 mm de diâmetro; T<sub>3</sub> Embriões maduros.

Os embriões zigóticos, mostraram-se responsivos a cultura *in vitro*, especialmente os que se encontravam nos estádios mais avançados de desenvolvimento.

Os embriões no estágio  $T_1$  de desenvolvimento não apresentaram modificações morfológicas em nenhum dos meios utilizados. Quinze dias após a inoculação, 20% do total de embriões imaturos apresentaram desidratação. Essa pode ser atribuída à composição do meio de cultura e a carência de uma cutícula bem formada na superfície dos embriões em virtude de seu rudimentar estágio de desenvolvimento, deixando-os suscetíveis em uma alta concentração osmótica. Já os embriões do estágio  $T_2$ , sofreram um acentuado aumento de volume, alongação em toda a sua extensão e, 60 dias após a inoculação, a maior parte deles encontravam-se totalmente modificados quanto ao seu padrão fenológico. Não foi observado nenhum sinal de desidratação, o que reforça a hipótese de que, conforme o estágio de desenvolvimento do embrião há maior desenvolvimento da cutícula.

No estágio  $T_3$ , duas semanas após a inoculação, os embriões já se encontravam esverdeados, principalmente na região do epicótilo e, nitidamente mais alongados. A partir deste ponto os embriões se desenvolveram rapidamente, aumentando seu comprimento e diâmetro, sendo que 80 dias após a inoculação observou-se o desenvolvimento de plântulas com aproximadamente cinco centímetros (Figura 2). Contudo, o tempo de vida das plântulas parece não exceder os 100 dias, período esse em que começam a apresentar sinais de necrose nas folhas, necrosando totalmente dentro de uma ou duas semanas.

A morte das plântulas deve estar associada a carência nutricional, uma vez que as plântulas cultivadas *in vitro* apresentam baixa taxa fotossintética, ocasionando o consumo total das reservas embrionárias. Aliado a isso, por se tratar de uma espécie lenhosa, durante esta fase tem início o processo de lignificação dos tecidos, prejudicando a absorção dos nutrientes, uma vez que não há a formação de um sistema radicular eficaz. Porém, em alguns casos, ocorre a formação de uma única raiz que rapidamente se alonga, onde até podem ser visualizados segmentos epicotiledonares. Contudo, não foi possível observar diferenças significativas na sobrevivência das plântulas enraizadas espontaneamente.

## Procedimento II: Indução de Embriogênese Somática

Todos os embriões do estágio  $T_1$  não apresentaram modificações morfológicas, sendo que pôde-se constatar a necrose de alguns explantes devido a desidratação.

Os embriões  $T_2$  apresentaram modificações morfológicas, aumentaram de volume e emitiram várias estruturas semelhantes a raízes, todas ricamente recobertas por tricomas. Estas modificações foram observadas somente no hipocótilo do embrião. As estruturas semelhantes a raízes não ultrapassaram 0,5 cm de comprimento e não se mostraram funcionais. O índice de embriões formados foi praticamente nulo, sendo que apenas os explantes de um dos genótipos apresentaram resposta favorável ao processo, quando cultivados no meio contendo  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de 2,4-D.

Embriões  $T_3$  sofreram aumento de volume seguido de alongação e intenso processo de rizogênese em todos os meios utilizados. Todas as concentrações de 2,4-D se mostraram eficazes no processo de indução de embriogênese somática. As estruturas embriogênicas formaram-se próximo a região de inserção do pecíolo e ao longo da nervura central das folhas cotiledonares (Figura 2).

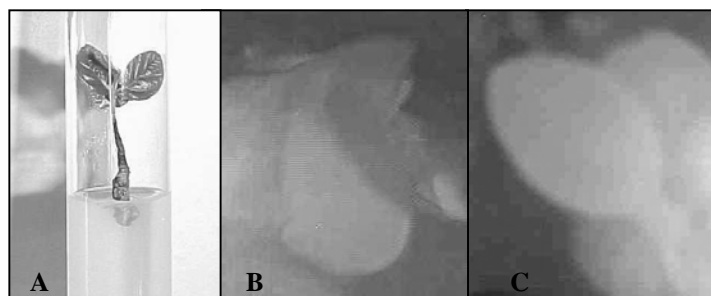


Figura 2. A) Embrião de sete-capotes germinado em meio MS. B) Embrião somático formado a partir de células da nervura central de folhas de embriões zigóticos; C) Embriões somáticos formando um aglomerado sobre a região cotiledonar de embriões zigóticos.

O estágio de desenvolvimento do embrião influencia de maneira significativa na taxa de embriões somáticos formados. A alta intensidade de formação de raízes adventícias, que ocorre a partir do estágio T<sub>2</sub>, deve ser influenciada presença de 2,4-D, uma vez que este é considerado uma auxina forte. O fato das raízes surgirem ao longo de todo o explante parece indicar que os embriões submetidos à cultura perdem o padrão básico de desenvolvimento, de forma que o crescimento celular deixa de seguir uma simetria definida para dar origem a um aglomerado de células totipotentes de crescimento independente – os pró-embriões. A Tabela 2 mostra a porcentagem de estruturas embriogênicas formadas.

Tabela 2: Porcentagem estruturas embriogênicas obtidas de embriões de diferentes estádios de desenvolvimento.

Estádio	N.º de embriões inoculados	Taxa de estruturas embriogênicas
T <sub>1</sub>	15	0%
T <sub>2</sub>	15	60%
T <sub>3</sub>	15	95%

\* T<sub>1</sub>- Embriões de frutos medindo 14-15 mm de diâmetro; T<sub>2</sub> Embriões de Frutos medindo 20-25 mm de diâmetro; T<sub>3</sub> Embriões maduros.

\* Não levou-se em conta a concentração de 2,4-D no meio de cultura.

## CONCLUSÕES

Embriões zigóticos maduros germinaram facilmente quando cultivados no meio MS, comprovando o potencial morfogênético destes explantes;

A embriogênese somática pode ser obtida através do cultivo *in vitro* de embriões zigóticos em meio MS suplementado com o ácido 2,4-D, desde que estes já se encontrem próximo ao estágio de maturação;

Torna-se necessária a realização de mais pesquisas para o desenvolvimento de um protocolo eficaz para a multiplicação *in vitro* de *C. guasumifolia* Berg.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORRÊA, M. Pio; **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**, v. VI (S-Z), p.112-115; 1978.
- LANDRUM, L. R.; **The development of the fruits and seed of *Campomanesia* (Myrtaceae)**. New York Botanical Garden, 1982.
- LONGHI, R. A.; **Árvores e Arvoretas do Sul**, Editora L & PM Editores S/A. Porto Alegre, 1995.

## Influência de tipos de explantes e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de genótipos de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.).

Fonseca, Valéria Oliveira<sup>1</sup>; Costa, Andréa Santos da<sup>1</sup>; Oliveira, Ana Catarina Lima de<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fátima<sup>2</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>UFS - Cidade universitária prof. José Aloísio de Campos - DEA, 49100-000 São Cristóvão-SE. Email: [valeriaoff81@uol.com.br](mailto:valeriaoff81@uol.com.br); <sup>2</sup>UFS -Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de ciências Biológicas - Itabaiana - SE. Email: [arrigoni@ufs.br](mailto:arrigoni@ufs.br) (Apoio: CNPq).

### INTRODUÇÃO

A hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L. - Lamiaceae) é uma espécie aromática, originária do sul da China cujo óleo essencial se distingue de outras mentas pela ausência de cineol e por elevado teor de mentol. O mentol é empregado como flavorizante e aromatizante de alimentos, bebidas, perfumes, produtos de higiene bucal e preparações farmacêuticas, no tratamento de problemas respiratórios e gastrointestinais (Kumar *et al.*, 2002).

A micropropagação é uma técnica efetiva para multiplicação rápida de espécies nas quais é necessário obter alta uniformidade de progênie. Para o sucesso de métodos de micropropagação é necessária a seleção dos explantes adequados, estabelecendo-se condições de desinfestação e cultura; o estabelecimento das condições físicas e fisiológicas de desenvolvimento dos explantes e o enraizamento das partes aéreas formadas após subcultivos sucessivos (Grattapaglia e Machado, 1998). Na propagação *in vitro* a composição e a concentração dos reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores determinantes para o crescimento e padrão de desenvolvimento da maioria dos sistemas de cultivo *in vitro*.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes na micropropagação de quatro genótipos de *Mentha arvensis* L.

### MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe.

Como fonte de explantes foram utilizados segmento nodal, foliar e internodal provenientes de quatro genótipos de *M. arvensis* (UFC, IAC-701-01, IAC-701-02 e IAC-701-04) estabelecidos *in vitro*. O meio de cultivo utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 0,1 e posteriormente autoclavado (121°C e 1,05 atm) por 20 minutos. Após a inoculação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz, temperatura de 25±2°C e intensidade luminosa de 60 µmol. m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, utilizando-se o meio MS (controle) (T1); MS suplementado com cinetina (9,3 µM) + BAP (8,9 µM) + AIA (2,2 µM) (T2); MS + BAP (8,9 µM) + ANA (5,4 µM) (T3) e MS+ AIA (4,4 µM) (T4), sendo 6 repetições com quatro frascos contendo dois explantes cada frasco. Aos 35 dias após implantação do ensaio as variáveis, regeneração (%), número de brotos, comprimento de brotos (cm), número de folhas e raízes (%) foram avaliadas. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes segmentos utilizados apresentaram diferenças significativas para todas as variáveis analisadas, sendo o segmento nodal o único que proporcionou regeneração de plantas. Resultados diferentes foram obtidos por Shasany et al. (1998), onde os segmentos internodais foram eficientes na regeneração de *M. arvensis* cultivares Himalaia e Kalka. Isto sugere que mesmo dentro de uma mesma espécie, podem ocorrer respostas diferentes dependendo do local de cultivo, cultivares entre outros. Já o segmento nodal, os genótipos IAC-701-01 e UFC não apresentaram diferenças significativas, exceto pelo tratamento BAP (8,9 µM) + ANA (5,4 µM) (T3) do genótipo IAC-701-01 que ficou abaixo da média. O maior número de brotações foi observado no tratamento AIA (4,4 µM) (T4), genótipos IAC-701-02. (Tabela 1).

Tabela 1. Número médio de brotos formados em explantes de *M. arvensis*, genótipos UFC, IAC-701-01, IAC-701-02, IAC-701-04, cultivados em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Reguladores de crescimento (µM)	Genótipos			
	IAC-701-01	IAC-701-02	UFC	IAC-701-04
..... Segmento Foliar .....				
Controle	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,166 aAβ
9,3CIN + 8,9BAP+2,2AIA	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
4,4AIA	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
..... Segmento Nodal .....				
Controle	1,569 aAα	1,694 bAα	1,916 aAα	2,027 bAα
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	1,708 aAα	1,930 bAα	1,875 aAα	1,805 bAα
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 bBα	1,916 bAα	1,875 aAα	0,666 cBα
4,4AIA	1,500 aCα	4,408 aAα	2,000 aBCα	2,569 aBα
..... Segmento Internodal .....				
Controle	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
9,3CIN + 8,9BAP+2,2AIA	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
4,4AIA	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ	0,000 aAβ
CV(%)	14,73			

\* Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, maiúsculas nas linhas e gregas entre segmentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Quanto à massa seca de caule proveniente de segmentos nodais, o genótipo UFC foi o que apresentou as menores médias em todos os tratamentos (Tabela 2). Analisando cada genótipo, a utilização de 9,8 µM de BAP + 5,4 µM de ANA, foi o que proporcionou menores valores para os genótipos IAC-701-01 e UFC, enquanto que o genótipo UFC não houve diferenças significativas entre os diferentes reguladores de crescimento (Tabela 2).

Em relação à massa seca de folha não houve diferença significativa entre os genótipos IAC-701-01, IAC-701-02 e IAC-701-03 quando foi utilizado o meio MS na ausência de reguladores de crescimento, enquanto que o genótipo UFC foi o que obteve os menores valores. A utilização de BAP (8,9 µM) + ANA (5,4 µM) promoveu a maior massa seca de folha no genótipo IAC-701-04. (Tabela 3).

Analisando cada genótipo, nota-se que o genótipo UFC, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto que o genótipo IAC-701-04 a ausência de reguladores de crescimento e a adição de BAP (8,9 µM) + ANA (5,4 µM) proporcionaram as maiores médias. Já os genótipos IAC-701-01 e IAC-701-02 o meio MS sem reguladores de crescimento e suplementado com AIA (4,4 µM) mostraram mais eficiente no acúmulo de massa seca de folhas (Tabela 3).



Tabela 2. Massa seca (mg) de caule de *M. arvensis* genótipos UFC, IAC 701-01, IAC-701-02 e IAC 701-04 cultivados em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento ( $\mu\text{M}$ )	Genótipos			
	IAC-701-01	IAC-701-02	UFC	IAC-701-04
	..... Segmento Foliar .....			
Controle	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
9,3CIN + 8,9BA P+ 2,2AIA	0,000 aA $\gamma$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
4,4AIA	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
	..... Segmento Nodal .....			
Controle	2,863 aA $\alpha$	2,850 bA $\alpha$	0,004 aB $\alpha$	3,032 aA $\alpha$
9,3CIN + 8,9BAP+2,2AIA	3,170 aB $\alpha$	6,402 aA $\alpha$	0,004 aD $\alpha$	2,015 bC $\alpha$
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 bB $\alpha$	2,455 cA $\alpha$	0,003 aB $\alpha$	2,398 abA $\alpha$
4,4AIA	3,554 aA $\alpha$	3,737 bA $\alpha$	0,003 aC $\alpha$	2,123 abB $\alpha$
	..... Segmento Internodal .....			
Controle	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
4,4AIA	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
CV(%)	18,45			

\* Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, maiúsculas nas linhas e gregas entre segmentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 3. Massa seca de folha de *M. arvensis* para genótipos UFC, IAC-701-01, IAC-701-02 e IAC-701-04 cultivados em diferentes reguladores de crescimento. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Tratamento ( $\mu\text{M}$ )	Genótipos			
	IAC-701-01	IAC-701-02	UFC	IAC-701-04
	..... Segmento Foliar .....			
Controle	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	0,000 aA $\gamma$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
4,4AIA	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
	..... Segmento Nodal .....			
Controle	2,583 abA $\alpha$	2,087 abA $\alpha$	0,004 aB $\alpha$	2,184 aA $\alpha$
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	2,050 bA $\alpha$	1,904 bA $\alpha$	0,003 aB $\alpha$	1,438 bA $\alpha$
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 cB $\alpha$	0,533 cB $\alpha$	0,003 aB $\alpha$	1,922 aA $\alpha$
4,4AIA	3,025 aB $\alpha$	5,775 aA $\alpha$	0,004 aD $\alpha$	1,690 bC $\alpha$
	..... Segmento Internodal .....			
Controle	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
9,3CIN + 8,9BAP + 2,2AIA	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
8,9BAP + 5,4ANA	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
4,4AIA	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\beta$	0,000 aA $\alpha$	0,000 aA $\beta$
CV(%)	19,30			

\* Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, maiúsculas nas linhas e gregas entre segmentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

Segmentos nodais foram efetivos na indução de brotos em genótipos de *M. arvensis*. A utilização de 4,4  $\mu\text{M}$  de AIA promoveu o maior número de brotos por explante, no genótipo IAC-701-02, a partir de segmentos nodais.

O maior acúmulo de massa seca de caule e folha foi obtido pelo genótipo AC-701-02, quando o meio MS foi suplementado com 9,3 µM de cinetina + 8,9 µM de BAP + 2,2 µM de AIA e 4,4 µM de AIA, respectivamente.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA - CNPH, 1998. p.183-260.

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

SHASANY, A. K.; KHANUJA, S. P. S.; DHAWAN, S.; YADAV, U.; SHARMA, S.; KUMAR, S. High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes. **Indian Academy of Sciences**, n.5, p. 641-646,1998.

KUMAR SJR; BAHL RP; BANSAL AK; GUPTA V; SINGH SS. 2002. High economic returns from companion and relay cropping of bread wheat and menthol mint in the winter-summer season in north Indian plains. **Industrial Crops and Products**, 15:103-114.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Mentha arvensis*; Lamiaceae; cultivo *in vitro*; genótipos, segmento nodal, foliar e internodal

## Efeito de doses de BAP na multiplicação *in vitro* de *Zantedeschia cv Neroli* em recipientes plásticos.

Castro, Lívia Mendes <sup>1</sup>; Marques, Daniela Argollo<sup>2</sup>; Segeren, Monique Inês <sup>3</sup>; Fonseca, Aline Segeren <sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Divisão de Biologia Fitotécnica, Seção de Genética, Fazenda Santa Elisa – Campo Experimental, Recursos Genéticos Vegetais, [liviamdecastro@yahoo.com.br](mailto:liviamdecastro@yahoo.com.br) <sup>2</sup> Pesquisadora Científica da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) - Pólo Regional Centro Sul, Caixa Postal: 28 - CEP: 13400-970, e-mail: [d.argollo@apta regional.sp.gov.br](mailto:d.argollo@apta regional.sp.gov.br) <sup>3</sup> Coordenadora Projeto PIPE – FAPESP (FASE II); <sup>4</sup> Laboratório ProClone Biotecnologia e Produção de Mudanças Matrizadas de Laboratório LTDA, Rua dos Girassóis, 70, Caixa Postal 157, CEP. 13.825-970 Holambra - SP, fone (19) 3802-1787, e-mail: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br);

### INTRODUÇÃO

A produção de flores se constitui num enorme potencial ao Agribusiness brasileiro. No entanto, para se ter acesso ao competitivo mercado de flores, é necessário vencer algumas barreiras. Uma das barreiras à expansão de algumas espécies ornamentais, como por exemplo, *Zantedeschia spp.*, é a deficiência na micropropagação de mudas saudáveis, com qualidade e produtividade, a um preço acessível.

Para o setor da Floricultura, a micropropagação ou propagação clonal *in vitro* é uma biotecnologia que vêm sendo amplamente empregada para um grande número de espécies. Isso porque este processo, principalmente quando iniciado a partir de cultura de ápices meristemáticos promove significativa limpeza de diversos patógenos, resultando em mudas de excepcional qualidade, além da uniformidade e manutenção da identidade genética dos híbridos de alto valor comercial clonados. No entanto, o alto custo do atual processo de micropropagação que vem sendo utilizado, prejudica a constância na entrega de volume de qualidade em quantidade, num determinado tempo (produtividade), impossibilitando assim, a atuação das biofábricas brasileiras em mercados maiores e mais lucrativos, inclusive no mercado de exportação. Este alto custo deve-se, principalmente, à produção por sistemas de autoclavagens artesanais, as quais demandam grandes consumos de energia elétrica e tempo e à falta de recipientes específicos (mais eficientes em trocas gasosas) em substituição aos vidros utilizados na autoclavagens.

O aumento da eficiência do processo produtivo também está relacionado à adequação do meio de cultura através da utilização de níveis ótimos de fitoreguladores vegetais para a micropropagação de uma determinada espécie ou variedade. As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas na cultura de tecidos. A formação de raiz, parte aérea e calo em cultura de tecidos são regulados pela disponibilidade e interação destas duas classes de reguladores de crescimento (Skoog & Miller, 1957, citado por Caldas et al., 1990). Segundo Pasqual (2001), as citocininas abrangem uma classe de reguladores de crescimento que estimulam a síntese protéica. Por esta razão, elas podem promover a maturação de cloroplastos e atrasar a senescência das folhas destacadas. A aplicação de citocinina em um órgão da planta faz com que o órgão tratado se torne um centro de convergência de aminoácidos, que então migram para a região próxima. Adicionadas à cultura de brotações, estas substâncias reduzem a dominância apical e liberam gemas laterais da dormência. Possuem um efeito oposto ao da auxina endógena. As citocininas naturais 2-iP e zeatina, não são empregadas por laboratórios comerciais rotineiramente devido ao seu alto custo. Diversos análogos químicos de citocininas naturais têm sido isolados e são muito ativos como citocininas. As citocininas sintéticas mais comumente usadas em cultura de tecidos vegetais são Cinetina (6-furfurilamino-purina) e o BAP (6-benzilaminopurina). O BAP induz a formação de grandes números de brotos e alta taxa de multiplicação em sistemas de micropropagação (Hu & Wang, 1983, citado por Caldas et al, 1990). As concentrações de citocininas podem variar bastante em função da espécie e do tipo de explante. Concentrações da ordem de décimos de miligrama são mais comuns para o cultivo de ápices caulinares, enquanto que

segmentos nodais e ápices inteiros são submetidos a concentrações maiores (Grattapaglia & Machado, 1990).

O objetivo principal deste trabalho científico foi desenvolver e comparar protocolos específicos para micropropagação da cultivar comercial Neroli tolerante a bactéria *Erwinia carotovora* visando a otimização do processo produtivo para ganho de escala. Para tanto, foram utilizados dois tipos de sistemas de esterilização de meios de cultura: 1) pelo sistema tradicional usando autoclave e frascos de vidros como recipientes e 2) pelo novo sistema no qual o meio de cultura é esterilizado na máquina e distribuído em diferentes potes de plástico (“com respiro” e “sem respiro”) já esterilizados por plasma. Protocolos de esterilização dos explantes meristemáticos, método de isolamento destes explantes, composição nutricional e de fitoreguladores dos meios de cultura foram comparados visando demonstrar a eficiência de produção dentro destes dos dois sistemas propostos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório ProClone Biotecnologia e Produção de Mudanças Matrizadas. Os ápices meristemáticos da variedade Neroli desenvolvidos em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem fitoreguladores foram transferidos para os diferentes recipientes contendo meio de multiplicação que consistiu do meio MS ¼ (Meio MS modificado para micropropagação de *Zantedeschia spp.*) acrescido das seguintes doses de BAP (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg.L<sup>-1</sup>). Após 35 dias, o meio acrescido da dose ideal de BAP foi então distribuído em dois tipos de potes plásticos transparentes (PET): com filtro na tampa ou sem filtro na tampa. O respiro referido consiste em uma pequena abertura na tampa protegida por membrana millipore, a qual impede a passagem de patógenos, mas permite uma maior troca gasosa. Concomitantemente, para efeito de comparação, preparou-se, distribuiu-se e esterilizou-se o mesmo meio de cultura pelo processo de autoclavagem tradicional. Cada recipiente continha 20 explantes. Foi analisado o desenvolvimento dos explantes em cinco frascos com filtro e cinco frascos sem filtro e cinco frascos de vidro autoclavados. O desenvolvimento dos propágulos foi comparado através da análise dos seguintes parâmetros: número brotos, comprimento de brotos; número de raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dose ideal de BAP para a fase de multiplicação dos propágulos de *Zantedeschia* foi 1 mg.L<sup>-1</sup> (Tabela 1). Os brotos obtidos foram então colocados em meio MS acrescido de 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP distribuído nos diferentes potes PET: “com filtro na tampa” e “sem filtro na tampa”. Os propágulos mantidos nos potes “sem respiro” apresentaram estiolamento e menor taxa de multiplicação. Nos potes com respiro, a altura média dos propágulos obtidos foi de 4,0 ± 0,22 cm; o número médio de brotos obtidos foi de 2,3 ± 0,25 por explante e o número médio de raízes foi de 7,2 ± 0,31. Nos potes “sem respiro” a altura média dos propágulos obtidos foi de 6,0 ± 0,19; o número médio de brotos obtidos foi de 1,8 ± 0,23 por explante e o número médio de raízes foi de 6,1 ± 0,45. Propágulos desenvolvidos em frascos de vidro pelo sistema tradicional mostraram-se semelhantes aos propágulos mantidos em potes “sem respiro”: a altura média dos propágulos obtidos foi de 6,2 ± 0,36; o número médio de brotos obtidos foi de 1,9 ± 0,27 por explante e o número médio de raízes foi de 5,9 ± 0,23.

Tabela 1. Efeito de doses de BAP na multiplicação *in vitro* do cultivar Neroli de *Zantedeschia*: N° brotos (número de brotos por propágulo); N° raízes (Número de raízes por propágulo); N° folhas (número de folhas por broto).

BAP(mg/L)	N° brotos	N° raízes	N° folhas
0,0	1,8	6,0	4
0,5	2,1	6,1	5
1,0	2,3	6,2	5,1
1,5	2,4	5,9	5,9

## CONCLUSÃO

A dose ideal de BAP para a micropropagação desta variedade de *Zantedeschia* foi de 1 mg.L<sup>-1</sup>. Os potes adaptados com sistema de filtro Millipore permitiram uma maior troca de CO<sub>2</sub> e etileno com O<sub>2</sub> de dentro dos potes com o ar ambiente externo. Esta troca gasosa possibilitou às plantas um melhor desenvolvimento, melhorando assim, a produtividade do setor de micropropagação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALDAS,L.S.;HARIDASAN,P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In. TORRES,A.C.;CALDAS,L.S. (eds.).**Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1990. 433 p.p.29-36.

GRATTAPAGLIA, D. ; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, p. 99 – 170. 1990. 433 p.

MURASHIGE, T. ; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth e bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

PASQUAL, M. Meios de Cultura. In: PASQUAL, M. (ed.) **Curso de pós-graduação “lato sensu” (especialização) à distância cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

## PALAVRAS-CHAVES

*Zantedeschia spp.*; micropropagação, fitoreguladores, Araceae.

## **Avaliação do desenvolvimento e propagação de mudas *in vitro* de *Zantedeschia spp.* em recipientes plásticos com filtro e sem filtro inseridos na tampa.**

Castro, Lívia Mendes<sup>1</sup>; Segeren, Monique Inês<sup>2</sup>; Fonseca, Aline Segeren<sup>3</sup>; Marques, Daniela Argollo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Pós-graduanda do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Divisão de Biologia Fitotécnica, Seção de Genética, Fazenda Santa Elisa – Campo Experimental, Recursos Genéticos Vegetais, [liviamdecastro@yahoo.com.br](mailto:liviamdecastro@yahoo.com.br). <sup>2</sup> Coordenadora Projeto PIPE – FAPESP (FASE II); <sup>3</sup> Laboratório ProClone Biotecnologia e Produção de Mudanças Matrizadas de Laboratório LTDA., Rua dos Girassóis, 70, Caixa Postal 157, CEP. 13.825-970 Holambra - SP, fone (19) 3802-1787, e-mail: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br); <sup>4</sup> Pesquisadora da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) Regional Centro Sul, Caixa Postal: 28 - CEP: 13400-970, e-mail: [d.argollo@apta regional.sp.gov.br](mailto:d.argollo@apta regional.sp.gov.br).

O mercado mundial de produção de flores movimenta em toda a sua cadeia produtiva, cerca de US\$100 bilhões por ano. Desse total, os produtores são responsáveis por valores próximos a US\$ 16 bilhões. A Holanda detém importante parcela do mercado internacional (45,3%) e é o principal importador e exportador mundial de flores e plantas ornamentais. O gênero *Zantedeschia* pertence à família Araceae. O copo-de-leite colorido é originário da variedade *Zantedeschia aethiopica* (L) Spreng. Para atender o exigente e competitivo mercado de flores, a limpeza de vírus e fornecimento de matrizes de laboratório é estratégia para se manter no mercado. Em cultura de tecidos a *Zantedeschia* apresenta um fator de crescimento de 2 a 3 a cada quatro semanas. O recipiente plástico para cultura de tecidos, tem o propósito e atender o ganho de escala e deve ter a melhor transparência possível. A adição de um filtro especial na tampa proporciona alguma passagem para troca de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> e especialmente saída de etileno. Foram avaliados, após quatro semanas de cultivo, o comportamento e crescimento de mudas *in vitro* de *Zantedeschia spp.*, mantidos em sala de crescimento a 25 ° C, 16 horas de luz. O meio de cultura (sólido), para o experimento, foi padronizado em macro e micro nutrientes conforme Murashige & Skoog (1962) e 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (Benzilaminopurina). Foi concluído que o filtro inserido na tampa do recipiente plástico contribuiu favoravelmente, no sentido de produzirem mudas menos estioladas e mais vigorosas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MURASHIGE, T. ; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth e bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

### PALAVRAS-CHAVES

*Zantedeschia spp.*; cultivo *in vitro*; Araceae.

## **Análise da concentração de BAP (Benzylaminopurina) no crescimento *in vitro* do mangarito (*Xanthosoma mafaffa* Schott).**

Rezende, Fabrício Luiz de<sup>1</sup>; Silva Neto, Sebastião Pedro da<sup>2</sup>; Borges, Luiz Flávio Vieira<sup>2</sup>; Rabelo, André Luiz<sup>2</sup>; Freitas, Álvaro Domingos de Lima<sup>1</sup>; Souza, Daniel Luiz Moura de<sup>1</sup>; Santos, Julianderson<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Graduando em Agronomia (UEG Unidade Universitária de Ipameri), Rod. GO 330 km 241 Anel Viário, CEP: 75780-000, Ipameri Goiás, Telefax 0\*\*64-3491-1556, e-mail: [agrsebastiao@campo.com.br](mailto:agrsebastiao@campo.com.br); [operefabricio@yahoo.com.br](mailto:operefabricio@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Pesquisador da Campo Biotecnologia Vegetal Ltda. Rod. LMG 658 km 55, Ala Biotec, zona rural, Paracatu – MG, CEP: 38600-000, telefax: 038-3504-4000, e-mail:

A família Araceae, inclui muitas espécies comestíveis, entretanto o mangarito (*Xanthosoma mafaffa* Schott) é uma das mais difundidas e cultivadas. Há carência de material propagativo de boa qualidade, sendo esta uma necessidade que pode ser atendida pelo uso da micropropagação para a produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária. Este trabalho teve como objetivo a determinação do efeito da concentração da citocinina BAP (Benzylaminopurina) no desenvolvimento de explantes de mangarito. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com 7 tratamentos (0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 mg/l de BAP) e 10 repetições. A parcela experimental consistiu de um tubo de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura MS, adicionado de 30 g/l de sacarose e 6 g/l de agar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C e 1 kgf/cm<sup>2</sup>. O explante consistiu de gemas *in vitro* obtidas em estabelecimento anterior isento de regulador de crescimento, e foram incubados a 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz por 8 horas de escuro. As avaliações foram feitas de 15 em 15 dias, com estabilização aos 60 dias. A altura dos explantes foi avaliada aos 60 dias de incubação. Os resultados obtidos foram: 6,5; 2,7; 2,5; 2,6; 2,4; 2,2; 1,8 cm, respectivamente aos tratamentos 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 mg/l de BAP. Verificou-se que o aumento da concentração de BAP proporcionou inibição do crescimento do explante. Considerando que a citocinina BAP tem como função a proliferação de gemas e que ao final da fase de multiplicação *in vitro* é necessário que o explante tenha suficiente tamanho para que tenha boa performance na aclimação, os resultados deste trabalho indicam que as concentrações entre 1 e 5 mg/l não afetam significativamente o crescimento do explante.

**PALAVRAS CHAVES:** *Xanthosoma mafaffa*, cultivo *in vitro*; BAP (Benzylaminopurina); micropropagação; crescimento; meio de cultura.

## Micropropagação fotoautotrófica *in vitro* de cana-de-açúcar em diferentes concentrações de sacarose.

Dias, André Luís de França<sup>1</sup>; Silva, Karime Soares da<sup>2</sup>; Rivas, Rebeca<sup>1</sup>; Alves, Gilberto Dias<sup>1</sup>; Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50.100-010, fone (81) 3416-4000, email: [andreluisfd@hotmail.com](mailto:andreluisfd@hotmail.com), [rebecarivas@gmail.com](mailto:rebecarivas@gmail.com), [alvesgd@icb.upe.br](mailto:alvesgd@icb.upe.br); <sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) - Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE, telefone: (81) 3320-6003, email: [karyagronomia@hotmail.com](mailto:karyagronomia@hotmail.com). <sup>3</sup>Pesquisadora da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Biologia Molecular, Av. Gal. San Martin, 1371, Bongi, CEP 50761-000, Recife/PE, Caixa Postal: 1022, fone (81) 2122-7200, email: [laureenhk@yahoo.com](mailto:laureenhk@yahoo.com).

### INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar tem um alto valor econômico, devido à sacarose contida em seu caule. O Brasil é hoje o principal produtor de cana-de-açúcar do mundo e seus produtos são amplamente utilizados na produção de açúcar, álcool e mais recentemente, o biocombustível (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Cana-de-a%C3%A7%C3%BAcar>).

A micropropagação em cana-de-açúcar é muito empregada em associação aos programas de melhoramento genético. Neste caso, a clonagem *in vitro* permite a rápida multiplicação do material selecionado mantendo-se a fidelidade genética em relação ao explante inicial (Cidade, 2006). No cultivo convencional, existem dificuldades, como a necessidade de grandes áreas para o cultivo, dependência de fatores climáticos e grande risco de doenças (Erig, 2005). A viabilidade comercial desta metodologia está associada aos custos de produção (Altman, 1999). Existem vários fatores que estão correlacionados aos custos da micropropagação como: ocorrência de contaminação *in vitro*, difícil adaptação na aclimação *ex vitro*; mão-de-obra capacitada (Kurata & Kozai, 1992; Kozai & Kubota, 2001) e gastos financeiros para funcionamento e manutenção das salas de crescimento, onde apresenta iluminação e temperatura artificial controlada (Standaert de Metsenaere, 1991; Kodym & Zapatarías, 1999). Utilização da micropropagação fotoautotrófica associada à luz natural e a substituição de alguns componentes do meio de cultura como a sacarose, o ágar, fonte de nitrogênio, mostram alternativas para a redução de custos na micropropagação (Bernardi, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar em casa-de-vegetação, reduzindo a quantidade de sacarose necessária para o desenvolvimento das plantas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Biologia Molecular da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA). Utilizou-se gemas axilares de cana-de-açúcar da cultivar RB932520, mantidas *in vitro*.

Em câmara de fluxo laminar, as gemas axilares foram inoculadas em 4 meios de cultura diferentes. A composição do meio de cultura comum a todos os tratamentos utilizados na propagação *in vitro* de propágulos de cana-de-açúcar foi os sais e vitaminas de MS (Murashige e Skoog, 1962), inositol 0,1g.L<sup>-1</sup>, glicina 0,002g.L<sup>-1</sup>, BAP 0,2mg.L<sup>-1</sup>, KIN 0,1mg.L<sup>-1</sup>. Foram testadas diferentes concentrações de sacarose nos meios de cultura [0g.L<sup>-1</sup> (T1), 5g.L<sup>-1</sup> (T2), 10 g.L<sup>-1</sup> (T3) e 20 g.L<sup>-1</sup> (T4)]. O pH do meio foi de 5,8, ajustado antes da autoclavagem (15 minutos à 120 °C). Após a inoculação dos ápices caulinares nos meios de cultura, os frascos foram lacrados com papel de filtro. Em relação ao fator 1 (quantidade de sacarose no meio de cultura), o experimento apresentou um total de 12 frascos por tratamento com dois explantes



por frasco, totalizando 24 repetições/tratamento e 96 explantes. Em relação ao ambiente (fator 2), 24 frascos (6 frascos/tratamento) permaneceram na sala de crescimento (SC). Os outros 24 frascos foram mantidos na casa-de-vegetação (CV) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco. Os meios foram renovados a cada 15 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com avaliação semanal, observando os parâmetros: presença/ausência de brotação, número de brotos, morte do explante, presença/ausência de raiz. Nos parâmetros que apresentam presença/ausência foi atribuído valor 1 à presença e valor 0 à ausência. Os valores paramétricos foram transformados em dados que possibilitassem a análise estatística, através da fórmula  $\sqrt{X + 0,5}$ , onde X indica o valor paramétrico. Os dados foram submetidos à análise de variância, e por apresentar dois fatores (concentração de sacarose e ambiente de cultivo), utilizou-se um modelo estatístico duplo fatorial, complementadas pelo teste de médias de Tukey, realizada com o auxílio do programa ASSISTAT versão 7.4 beta (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira análise (8 dias) tanto do fator 1 (quantidade de sacarose no meio de cultura) quanto do fator 2 (ambiente), não foi observada diferença entre os tratamentos, independente da característica analisada (tabela 1). No entanto, aos 15 dias, foi observado que apenas o fator 1 (quantidade de sacarose) interferiu em dois parâmetros analisados (Média de brotos e média de mortalidade). No entanto, a diferença observada ocorreu entre o meio desprovido de fonte de sacarose, em relação aos meios com sacarose (tabela 2). Não houve diferença entre os parâmetros analisados nos meios que foram suplementados com sacarose. Este resultado indica que a quantidade de sacarose utilizada não interfere no desenvolvimento *in vitro* de ápices caulinares de cana-de-açúcar. A penas a ausência da fonte de carbono interfere no desenvolvimento *in vitro*. O tratamento 3 (10 g.L<sup>-1</sup>) mantido na casa-de-vegetação apresentou a melhor média de brotação tanto do 8º quanto no 15º dia.

Apesar das porcentagens de brotação não terem apresentado diferenças estatísticas, foi observada uma brotação maior no tratamento 3 (10 g.L<sup>-1</sup>) no 8º dia e nos tratamentos 2 (5 g.L<sup>-1</sup>) e 3 (10 g.L<sup>-1</sup>) no 15º dia. Com relação ao ambiente (fator 2), os resultados indicam que a ausência de controle de temperatura ou de fotoperíodo não interferem no desenvolvimento *in vitro* de ápices caulinares de cana. Este resultado está de acordo com o que foi descrito anteriormente na literatura. Em Cuba a utilização da luz natural em “Bio-fábricas” foi um sucesso, utilizando as casas das vilas em laboratórios de cultura do tecido (Baezas-Lopez, 1995).

Tabela 1. Média de brotos, porcentagem de brotação, média de mortalidade e porcentagem de enraizamento referentes ao 8º dia de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (cv. RB932520).

Fator	Tratamento	Média de brotos	Brotação(%)	Média de mortalidade	Enraizamento (%)
Sacarose	(1) 0 g.L <sup>-1</sup>	0,20	20,83	1,22	0
	(2) 5 g.L <sup>-1</sup>	0,66	41,66	1,22	0
	(3)10 g.L <sup>-1</sup>	0,79	45,83	1,22	0
	(4)20 g.L <sup>-1</sup>	0,37	25	1,22	0
Ambiente	SC	0,47	37,50	1,22	0
	CV	0,54	29,16	1,22	0

\* SC – Sala de crescimento, CV – Casa-de-vegetação.

Tabela 2. Média de brotos, porcentagem de brotação, média de mortalidade e porcentagem de enraizamento referentes ao 15º dia de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB932520).

Fator	Tratamento	Média de brotos	Brotação(%)	Média de mortalidade	Enraizamento (%)
Sacarose	(1) 0 g.L <sup>-1</sup>	0,00 b <sup>1</sup>	0,00	0,70 b	0
	(2) 5 g.L <sup>-1</sup>	2,54 a	87,50	1,17 a	0
	(3) 10 g.L <sup>-1</sup>	3,54 a	87,50	1,22 a	0
	(4) 20 g.L <sup>-1</sup>	2,08 a	79,16	1,22 a	0
Ambiente	SC	1,87	56,25	1,06	0
	CV	2,20	70,83	1,09	0

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. \* SC – Sala de crescimento, CV – Casa-de-vegetação.

A média de mortalidade não diferiu estatisticamente no 8º dia, demonstrando a viabilidade de todos os tratamentos em ambos ambientes. No entanto, no 15º dia observou-se morte total dos explantes do tratamento 1 (0 g.L<sup>-1</sup>). Este resultado indica que ausência de sacarose inviabilizou o desenvolvimento *in vitro* independentemente do ambiente de cultivo. No entanto, plantas com cloroplastos funcionais podem crescer em meios de cultura sem sacarose, desde que o ambiente *in vitro* da micropropagação seja adaptado para permitir a fotossíntese (Kozai e Iwanami, 1988). A ausência de desenvolvimento radicular foi observada em ambos fatores, tanto no 8º quanto no 15º dia, ou seja, a sacarose não interfere no desenvolvimento do sistema radicular.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que a micropropagação fotoautotrófica pode reduzir as concentrações padrões de sacarose que são fornecidas no meio MS sem haver prejuízo para o desenvolvimento *in vitro* de cana-de-açúcar. Da mesma forma, este estudo indicou que o cultivo *in vitro* sem condições controladas de fotoperíodo e temperatura (casa-de-vegetação) é viável para a micropropagação de cana-de-açúcar.



Figura 1. Explantes de cana-de-açúcar (RB932520) propagadas *in vitro* na casa de vegetação, submetidas ao contato direto com o ambiente natural (não controlado).

## CONCLUSÃO

O uso da luz natural e o cultivo sem controle de temperatura e fotoperíodo têm efeito similar na micropropagação de cana-de-açúcar (RB932520) em sala de crescimento. A redução

da quantidade de sacarose não interfere no desenvolvimento dos ápices caulinares de cana independente se há ou não controle das condições de cultivo (fotoperíodo, temperatura).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTMAN, A. Plant biotechnology in the 21<sup>st</sup> century: the challenges ahead. **EJB Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, v.2, n.2, p 51-55, 1999.

Baezas-Lopez, P. 1995. Cubans enlist the sun in virus-free propagation. *Ceres* 156: 15-16.

BERNARDI, W.F. et al. Micropropagação de baixo custo em bananeira cv. Maçã em meios com diferentes fontes de carbono e avaliação da performance em campo das mudas produzidas. **Rev. Bras. Frutic.**, Dez 2004, vol.26, no.3, p.503-506.

CIDADE, D.A.P. et al. Morfogênese in vitro de variedades brasileiras de cana-de-açúcar. **Pesq. agropec. bras.** vol.41 no.3 Brasília Mar. 2006.

ERIG, Alan Cristiano and SCHUCH, Márcia Wulff. Photoautotrophic micropropagation and use of the natural light. **Cienc. Rural**, July/Aug. 2005, vol.35, no.4, p.961-965. ISSN 0103-8478.

KODYM, A.; ZAPATARIAS, F.J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv, 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v.55, p.141-145, 1999.

KOZAI, T; KUBOTA, C. Developing a photoautotrophic micropropagation system for woody plants. **Journal of Plant Reseach**, Tokjo, v.114, p.525-537, 2001.

KOZAI, T; IWANAMI, Y. Effects of CO<sub>2</sub> enrichments and sucrose concentration under high photosynthetic photon fluxes on growth of carnation in tissue culture during the preparation stage. **J. Jap. Soc. Hort. Sci.** 57: 279-288, 1988.

KURATA, K.; KOZAI, T. (eds). **Transplant production systems**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1992. 299p.

MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n. 4, p.473-497, 1962.

Sugarcane, Wikipedia, The Free Encyclopedia 2007. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Cana-de-a%C3%A7%C3%BAcar>. Acesso em 20 de maio de 2007.

STANDAERT DE METSENAERE, R.E.A. Economic considerations. In: DEBERGH, PC.; ZIMMERMAN, R.H. (eds). **Micropropagation**. Dordrecht : Kluwer Academie, 1991. p.131-140.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Saccharum officinarum*, cultivo *in vitro*, fotoautotrofismo, baixo-custo, açúcar.

## Enraizamento *in vitro* e aclimação de propágulos de *Vanilla planifolia*.

Moura, Elisa Ferreira<sup>1</sup>, Manfio, Candida Elisa<sup>2,6</sup>, Carvalho, Mychelle<sup>3,6</sup>, Dias, José Maria Moreira<sup>4</sup>, Oliveira, Márcio Antonio Rocha<sup>5,6</sup>.

<sup>1</sup>Bolsista Embrapa Café, Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, BIOAGRO, UFV Av. Ph Rholfs s/n CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-2916, e-mail: [ferrmoura@yahoo.com.br](mailto:ferrmoura@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Doutoranda em Genética e Melhoramento, bolsista CAPES; e-mail: [cemanfio@yahoo.com.br](mailto:cemanfio@yahoo.com.br);

<sup>3</sup>Doutoranda em Fitotecnia/UFV, bolsista FAPEMIG, e-mail: [mcav78@yahoo.com.br](mailto:mcav78@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia/UFV Setor Fruticultura Av. Ph Rholfs s/n CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1345, e-mail: [jmmdias@ufv.br](mailto:jmmdias@ufv.br);

<sup>5</sup>Técnico laboratorista UFV; <sup>6</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais, Departamento de Fitotecnia, UFV Av. Ph Rholfs s/n CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-2643.

### INTRODUÇÃO

Dentre as plantas aromáticas cultivadas, destaca-se a baunilha, nome comum de diversas espécies do gênero *Vanilla*. A espécie comercialmente mais importante é *Vanilla planifolia* Andrews, originária do México.

Bicalho (1969) menciona que a baunilha apresenta-se como uma cultura de expressivo valor econômico para o Brasil. No entanto apesar de possuir grande potencial e condições edafoclimáticas favoráveis para produzir e exportar baunilha em grande escala, o Brasil figurava em 1996 como importador (Reis, 2000). Já existem protocolos de propagação *in vitro* de *V. planifolia*, mas para genótipos indianos (Geetha & Shetty, 2000; Giridhar et al., 2001).

Considerando a importância econômica da cultura de *V. planifolia* e o pequeno acervo de informações técnicas sobre a sua propagação *in vitro*, neste estudo avaliou-se o enraizamento *in vitro* de propágulos de *V. planifolia* provenientes de micropropagação.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais do departamento de Fitotecnia da UFV. Foram utilizados como explantes propágulos provenientes da micropropagação *in vitro* de *V. planifolia* (Figura 1A). Os propágulos foram inoculados em tubos de ensaio de dimensão de 25 x 150 mm contendo 10 mL de meio. O meio foi constituído de sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962), 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol e solidificado com 8 g.L<sup>-1</sup> de agar. Foram testados dois tipos de auxina (ANA e AIB) em duas concentrações (2 e 5 µM). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 15 repetições e parcela de um tubo. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 0,01 antes da esterilização à 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Os tubos foram incubados a 25°C ± 2, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 40 µmol m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Os parâmetros avaliados após 45 dias de cultivo foram o número de raízes e a porcentagem de enraizamento.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas auxinas (ANA e AIB) foram eficientes no enraizamento *in vitro* de propágulos de *V. planifolia*. As raízes não apresentaram raízes secundárias. Os propágulos também apresentaram alongamento e não ocorreu multiplicação de brotos adventícios. Houve diferença quanto ao efeito das concentrações das duas auxinas, já que o AIB foi mais eficiente na maior concentração e o ANA na menor concentração (Tabela 1). A concentração de 5 µM de ANA gerou a menor porcentagem de enraizamento (74%), além de gerar número menor de raízes, em comparação com 2 µM de ANA. Giridhar et al. (2001) verificaram que essas mesmas auxinas foram eficientes no enraizamento de *V. planifolia* e viram que o AIB foi superior com relação ao número e comprimento de raízes formadas. Os mesmos autores também verificaram que o AIB foi mais eficiente nas concentrações mais altas, o mesmo verificado no presente trabalho (Tabela 1).

Após mais 15 dias de cultivo, completando 60 dias, os propágulos foram transferidos para sacos plásticos contendo mistura de substrato comercial e terra (1:1). Os propágulos

foram mantidos por duas semanas em nebulizador e posteriormente foram transferidas para casa de vegetação. Os propágulos tiveram taxa de pegamento razoável, de 50%, e vêm se desenvolvendo até o presente momento (Figura 1B). Essa taxa indica que ainda são necessários ajustes no processo de aclimatização.

Tabela 1. Número de raízes e porcentagem de enraizamento em propágulos de *Vanilla planifolia* cultivadas *in vitro* sob efeito de diferentes concentrações de ANA e AIB após 45 dias.

Tratamentos	Número de raízes	Porcentagem de enraizamento (%)
2 $\mu$ M ANA	3,47	95
5 $\mu$ M ANA	2,37	74
2 $\mu$ M AIB	2,31	87
5 $\mu$ M AIB	3,17	100



Figura 1. Micropropagação de *Vanilla planifolia*. A: Propágulos gerados *in vitro* utilizados como explante para enraizamento. B: Aclimação em casa de vegetação dos propágulos enraizados *in vitro* após 60 dias.

## CONCLUSÕES

As auxinas ANA a 2  $\mu$ M e AIB a 5  $\mu$ M podem ser utilizadas na formação de raízes de *Vanilla planifolia*. A aclimação dos propágulos de *V.planifolia* ainda deve sofrer ajustes, já que 50% das plantas não vingaram.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BICALHO, H. D. Cultivo e bases para o melhoramento da baunilheira. In: Kerr, W. E. **Melhoramento e genética**. São Paulo: EDUSP/Melhoramentos, 1969. p. 169-185.

GEETHA, S.; SHETTY, S.A. *In vitro* propagation of *Vanilla planifolia*, a tropical orchid. **Current Science**, v.79, n.6, p. 886-889, 2000.

GIRIDHAR, P.; REDDY, B.O.; RAVISHANKAR, G.A. Silver nitrate influences *in vitro* shoot multiplication and root formation in *Vanilla planifolia* Andr. **Current Science**, v.81, n.9, p. 1166-1170, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, 1962.

REIS, C.A.M. **Biologia reprodutiva e propagação vegetativa de *Vanilla chamissonis* Klotzsch: subsídios para o manejo sustentável**. 2000. 67p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

**Palavras-chave:** cultura de tecidos vegetais; Orchidaceae; reguladores de crescimento vegetais.



## Multiplicação *in vitro* de duas frutíferas de clima temperado sob influência do carvão ativado e do BAP.

Ribeiro, Márcia de Nazaré Oliveira<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Assis, Franscinely Aparecida<sup>3</sup>; Silva, Andrieli Leão Pereira<sup>4</sup>; Santos, Jean Carlos de Souza<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mrribeiro@ufla.br](mailto:mrribeiro@ufla.br); <sup>2</sup>Professor Titular do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup>Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG; <sup>4</sup>Aluna de graduação em Agronomia, Cesur, Rondonópolis, MT, e-mail: [andrielileao@hotmail.com](mailto:andrielileao@hotmail.com)

### INTRODUÇÃO

No Brasil, a amoreira-preta vem sendo cultivada por pequenos produtores do Rio Grande do Sul (principal produtor brasileiro), Santa Catarina e Paraná, objetivando a exportação dos frutos (Antunes & Raseira, 2004). O Sul de Minas Gerais tem apresentado elevado potencial para esta fruta e um aumento na área plantada, destacando-se o município de Caldas. A cultura da videira (*Vitis* spp. L.), pela sua extensa área plantada no Brasil e pelo seu potencial de utilização, constitui uma importante fruteira de clima temperado, ocupando o terceiro lugar quanto ao valor de produção.

A propagação da amoreira-preta se faz através de estacas de raízes, ou ainda por brotos (rebentos), originados de plantas cultivadas e estacas herbáceas (Antunes & Raseira, 2004). Além destes, com a micropropagação, é possível obter plantas livres de vírus, geneticamente uniformes e em curto espaço de tempo (6 meses), sendo assim uma alternativa viável.

As citocininas são utilizadas para quebrar a dormência apical dos brotos, e aumentar a taxa de multiplicação. Dentre os reguladores de crescimento comumente usados no cultivo *in vitro* da videira estão a citocinina BAP, em concentrações que variam de 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 2,0 mg L<sup>-1</sup>. A adição de auxinas ao meio de cultura não é recomendada, pois estes provocam a formação indesejável de raízes e calos, além de reduzirem o número de brotações produzidas por explante (Gray & Fisher, 1986).

Peixoto & Pasqual (1992), obtiveram maiores taxas de multiplicação e crescimento dos segmentos nodais de 'P1103', com o emprego de 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e na ausência de ANA. Para a amoreira-preta, os reguladores de crescimento comumente usados no cultivo *in vitro* são a 6-benzilaminopurina (BAP) e o ácido indolbutírico (AIB) (Donnelly et al., 1986).

O carvão ativado normalmente é adicionado ao meio de cultura em concentrações que variam de 0,2% a 3% (Beyl, 2000), porém sua presença pode promover ou inibir o crescimento *in vitro*, dependendo da espécie e tecido utilizado. Vários são os trabalhos que citam a utilização de carvão ativado na micropropagação de espécies frutíferas tais como videira, ameixeira, framboeseira, morangueiro e macieira. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de concentrações de carvão ativado e do BAP na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cv. Ébano e do porta-enxerto de videira 'P1103'.

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de plantas de amoreira-preta (*Rubus* spp.) cv. Ébano e do porta-enxerto de videira (*Vitis* spp. L.) 'P1103', com 2 cm, de plantas preestabelecidas *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio constituído dos sais minerais do meio MS e de metade dos sais do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), respectivamente, combinados com cinco concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e cinco de carvão ativado (0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 g L<sup>-1</sup>). O pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem e solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar (Merck®).

Posteriormente foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1°C, irradiância de 35 μ mol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> fornecida por tubos fluorescentes de 20W (Osram®), luz do dia especial e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 70 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições constituídas de três explantes. As variáveis analisadas para o porta-enxerto de videira foram número de folhas, comprimento da parte aérea e peso da matéria fresca e seca da parte aérea e, para a amoreira-preta cv. Ébano foram avaliados o número de folhas, número de raízes, comprimento da maior raiz, comprimento da parte aérea, peso da matéria fresca e seca da parte aérea. Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo utilizado regressão polinomial para concentrações de carvão ativado e de BAP e nível de significância de 0,05% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se com a adição de carvão ativado ao meio de cultura, nas concentrações utilizadas, a inibição da multiplicação dos brotos, o crescimento da parte aérea e do sistema radicular do segmento nodal inicialmente inoculado das duas frutíferas de clima temperado estudadas. Não houve a formação de calos em nenhum tratamento, diferindo assim dos resultados observados em figueira cv. Roxo de Valinhos micropropagada, onde se verificou essa formação apenas na presença de 0,5 a 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (Fráguas, 2003).

Para o comprimento da parte aérea, comprimento da maior raiz, número de folhas e raízes das plantas de amoreira-preta cv. Ébano e, para o peso da matéria fresca houve interação significativa entre BAP e carvão ativado, constatando-se que os efeitos dos fatores são dependentes. Com incrementos nas concentrações de carvão ativado, verificou-se decréscimo no número de folhas das duas frutíferas estudadas de forma quadrática até certo ponto. O inverso foi observado em porta-enxerto de *Prunus persica* x *P. amygdalus*, onde maior número de folhas ocorreu com a adição de carvão ativado no meio de cultura (Sotiropoulos & Fotopoulos, 2005).

Mesmo na ausência de carvão ativado foi verificada a presença de folhas em plantas de amoreira-preta e no porta-enxerto de videira, onde seu maior número (15,168 e 5,76) deu-se com 0,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, respectivamente. Isto pode ser atribuído ao fato do carvão ativado associado ao BAP favorecerem a formação de maior número brotos, porém, de tamanho reduzido, apresentando menor número de segmentos nodais e folhas.

Em função da análise de variância para comprimento da parte aérea das plântulas do porta-enxerto de videira, não se verifica a interação entre os fatores BAP e carvão ativado. Incremento nas concentrações de carvão e de BAP acarretaram num aumento de forma quadrática no comprimento da parte aérea. O comprimento da parte aérea atingiu o valor máximo (3,02 g) com a utilização de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e com 3,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado (3,16 g) e a partir deste ponto o regulador de crescimento BAP e/ou o carvão ativado passaram a inibir o desenvolvimento das plântulas, apresentando um decréscimo no comprimento.

Para plantas de amoreira-preta, verificou-se interação significativa entre os fatores estudados. Por meio do teste F, verificou-se resultado significativo em relação às concentrações de carvão ativado, exceto na ausência de BAP. O maior comprimento da parte aérea (6,188 cm) foi observado com 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP associado a 1,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado, porém, a diferença observada nos outros níveis de carvão é muito pequena. Rápida proliferação de gemas axilares de amoreira-preta cultivares Thornless Boysenberry e T. Youngberry foi obtida em meio MS acrescido de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA (Skirvin et al., 1981).

Vários autores relatam o efeito do carvão ativado no alongamento das brotações em diversas espécies. Kowalski & Staden (2001) citam que a utilização de 2,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado no meio de cultura WPM proporcionou melhor crescimento das brotações de *Podocarpus henkelii*. Concentrações elevadas do regulador de crescimento pode ter dificultado o desenvolvimento da parte aérea, mesmo utilizando-se a maior concentração de carvão ativado, resultando em menor comprimento da parte aérea. Pasqual (2001) cita que altas taxas de citocininas podem reduzir o tamanho das brotações e estimular a ocorrência de hiperidricidade e formação de folhas anormais.



Comprimento da maior raiz de amoreira-preta foi observado mesmo na ausência de carvão ativado em todas as concentrações do regulador de crescimento. Maior comprimento (1,713 cm) foi verificado com 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP associado a 3,0 g L<sup>-1</sup> de carvão.

Com o aumento das concentrações de carvão, houve acréscimo seguindo o modelo quadrático, tanto para comprimento da maior raiz quanto para seu número. Porém, para número de raízes, verificou-se maior número (1,925) com a mesma concentração de carvão para comprimento de raiz (3,0 g L<sup>-1</sup>), porém com baixa dosagem do regulador (0,5 mg L<sup>-1</sup>).

Esses resultados corroboram com Barbosa et al. (1992) que verificou um aumento de qualidade e quantidade de raízes formadas de figueira 'Roxo de Valinhos' com a adição de 3,0 g L<sup>-1</sup> de carvão em meio de cultura MS. Porém divergem de Fráguas (2003) quando cita que a adição de 1,0 g L<sup>-1</sup> de carvão aumentou o número de raízes em plantas de figueira da mesma cultivar multiplicadas em meio WPM.

Não se verificou interação significativa entre os fatores BAP e carvão ativado para peso fresco da parte aérea de plantas de amoreira-preta. Incremento nas concentrações de carvão ativado acarretaram numa diminuição no peso fresco das plântulas de amoreira-preta. O inverso foi observado para concentrações de BAP. O peso da matéria fresca da parte aérea atingiu o valor máximo (0,797 g) com a utilização de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e na ausência de carvão ativado (0,812 g) e a partir deste ponto o BAP passou a inibir o desenvolvimento das plantas *in vitro*, apresentando um decréscimo no seu peso.

Por meio do teste F, verificou-se resultado significativo em relação às concentrações de carvão ativado e às de BAP para o peso da matéria fresca da parte aérea do porta-enxerto. A diferença observada nos níveis de carvão para o peso fresco da parte aérea foi muito pequena. Na análise de variância, verifica-se que, para o peso fresco e seco da parte aérea do porta-enxerto de videira, apenas a interação entre carvão e os níveis 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP foram significativos.

Verifica-se que maior peso da matéria fresca e seca da parte aérea ocorre com a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP na ausência de carvão ativado. Com o incremento das concentrações de carvão ativado houve diminuição no peso fresco e seco da parte aérea de forma quadrática, combinado com 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. O efeito não-seletivo do carvão ativado pode proporcionar resultados negativos na micropropagação (Pan & Staden, 1998).

Na análise de variância, verifica-se que apenas a interação entre carvão e o nível 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP para a amoreira-preta foi significativa. Com o incremento das concentrações de carvão ativado houve diminuição no peso seco da parte aérea de forma quadrática. Verifica-se na Figura 6B, que o maior peso seco da parte aérea de amoreira-preta (1,03 g) ocorre na ausência de carvão ativado associado a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

As concentrações mais elevadas do regulador de crescimento podem ter dificultado o desenvolvimento da parte aérea, mesmo utilizando-se a maior concentração do carvão ativado, resultando em menor peso da matéria fresca e seca da parte aérea. Apesar da utilização de citocinina ser essencial à multiplicação da parte aérea, o seu excesso é tóxico e pode resultar, entre outros efeitos, na redução do tamanho das folhas e encurtamento dos entrenós (Leshen, 1988).

## CONCLUSÕES

A adição de carvão ativado inibe a multiplicação das brotações das duas frutíferas de clima temperado. Maior peso da matéria fresca da parte aérea das duas frutíferas estudadas foi obtido na ausência de carvão ativado e com a adição de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Maior número e comprimento de raízes de amoreira-preta cv. Ébano e melhor crescimento da parte aérea do porta-enxerto 'P1103' foram proporcionados com 3,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado. Maior número de folhas e de raízes de amoreira-preta foi obtido com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Melhor meio de cultura utilizado na multiplicação das duas frutíferas de clima temperado é o meio adicionado de BAP, na ausência de carvão ativado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. **Aspectos Técnicos da Cultura da Amora-Preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.13. Embrapa Clima Temperado (Documentos, 122).

BARBOSA, W.; CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; OJIMA, M.; MARTINS, F. P.; BOVI, V.; CASTRO, J. L. de. Produção de mudas da figueira 'Roxo de Valinhos' através da cultura *in vitro*. **O Agrônomo**, Campinas, v.44(n.1, 2, 3), p.6-18, jan./dez. 1992.

BEYL, C. A. Getting started with tissue culture - media preparation, sterile technique, and laboratory equipment. In: TRIGIANO, R. N.; GRAY, D. J. (Ed.). **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises**. London: CRC Press, 2000, p.21-38.

DONNELLY, D. J.; STACE-SMITH, R.; MELLOR, F. C. *In vitro* culture of three *Rubus* species. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.112, p.69-75, 1980.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000, p.255-258.

FRÁGUAS, C. B. **Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira 'Roxo de Valinhos' em diferentes ambientes**. 2003. 110 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRAY, D.J.; FISHER, L.C. *In vitro* shoot propagation of grape species, hybrids and cultivars. In: ANNUAL MEETING OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAE SOCIETY, 98, 1985. **Proceedings ...** Gainesville: Florida State Horticultural Society, 1986, p.172-174.

KOWALSKI, B.; STADEN, J. van. Micropropagation of *Podocarpus henkelii* and *P. elongates*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.67, n.2, p.362-366, 2001.

LESHEN, B.; WERKER, E.; SHALEV, D.P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, n.3, p.271-276, 1988.

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

PAN, M.J.; STADEN, J. van. The use of charcoal *in vitro* culture - A review. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.26, n.3, p.155-163, Dec. 1998.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PEIXOTO, P.H.P.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* de brotações do porta-enxerto de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.4, p.617-622, abr. 1992.

SKIRVIN, R. M.; CHU, M. C.; GOMEZ, E. *In vitro* propagation of Thornless trailing blackberries. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.3, p.310-312, 1981.

SOTIROPOULOS, T.E.; FOTOPOULOS, S. *In vitro* propagation of the PR 204/84 peach rootstock (*Prunus persica* x *P. amygdalus*): the effect of BAP, GA(3), and activated charcoal on shoot elongation. **European Journal of Horticultural Science**, v.70, n.5, p.253-255, 2005.

PALAVRAS-CHAVE: amoreira-preta, videira, regulador de crescimento.

## **Efeito do enriquecimento de meio nutritivo por complexos orgânicos e morfogênese *in vitro* de *Cattleya walkeriana* Gardner (ORCHIDACEAE).**

Galdiano Júnior, Renato Fernandes<sup>1</sup>; Gomes, Elisângela Soares<sup>2</sup>; Santos, Jaime Maia dos<sup>3</sup>; Lemos, Eliana Gertrudes de Macedo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Genética e Melhoramento de Plantas (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo (16) 3209 2600, e-mail: [renatofgaldianojr@yahoo.com.br](mailto:renatofgaldianojr@yahoo.com.br); <sup>2</sup>aluna do curso de Graduação em Ciências Biológicas da FCAV-UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo (16) 3209 2600, e-mail: [trinkabio2005@yahoo.com.br](mailto:trinkabio2005@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professor Assistente do Departamento de Fitossanidade (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo (16) 3209 2643, e-mail: [jmsantos@fcav.unesp.br](mailto:jmsantos@fcav.unesp.br); <sup>4</sup>Professora titular do Departamento de Tecnologia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo (16) 3209 2675 ramal 217, e-mail: [egerle@fcav.unesp.br](mailto:egerle@fcav.unesp.br).

### **INTRODUÇÃO**

*Cattleya walkeriana* é de hábito epifítico, nativa da região central do Brasil, ocorrendo do Norte e Nordeste do Estado de São Paulo, Sul de Minas Gerais e Sudoeste de Goiás e destaca-se na flora brasileira pela beleza de suas flores e o tamanho reduzido de seus órgãos vegetativos, características que despertam interesse de colecionadores e comerciantes (SILVA e MILANEZE-GUTIERRE 2004). É considerada uma orquídea em vias de extinção e atribui-se a isto a destruição do hábitat pelas atividades antrópicas, tais como a coleta predatória e derrubada das matas que dão lugar à agropecuária.

O pequeno tamanho das sementes das orquídeas e a relativa indiferenciação de seus embriões oferecem material ideal para estudos morfogênicos e de nutrição (ARDITTI, 1967). Sob condições naturais, o processo de germinação pode ser estimulado pela formação de uma associação micorrízica ou, sob condições experimentais, por meio de cultura das sementes sobre meio definido (PRITCHARD, 1985).

As orquídeas crescem muito lentamente, e os métodos de multiplicação vegetativa usuais são pouco eficientes. São necessários aproximadamente cinco anos entre a semeadura e o florescimento de espécies de *Cattleya*, sendo a redução deste tempo de grande importância para cultivadores comerciais de orquídeas. Diversas mudanças de padrão de meios nutritivos foram propostas com o objetivo de otimizar o crescimento *in vitro*.

Os objetivos deste trabalho foram documentar a morfogênese de sementes de *Cattleya walkeriana* por microscopia eletrônica de varredura e avaliar o crescimento *in vitro* desta espécie de grande interesse comercial e ecológico, a partir do meio de cultura MS modificado por meio de suplementação com aditivos orgânicos recomendados para o cultivo *in vitro* de orquídeas.

### **METODOLOGIA**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e plantas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista utilizando-se sementes de plantas oriundas do acervo do Orquidário da FCAV-UNESP. Cápsulas de sementes maduras foram desinfestadas no interior de câmara asséptica utilizando o protocolo de STANCATO e FARIA (1996). Em seguida, as cápsulas foram abertas no sentido de sua deiscência e uma pequena quantidade de sementes (0,1g) foi inoculada em frascos de 280 mL contendo 40 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) modificado, contendo 10 plântulas por frasco sob cinco repetições, totalizando 800 plântulas, entre os tratamentos que constam na tabela 1.

**Tabela 1.** Tratamentos utilizados e seus respectivos componentes

Trat.	Componentes
1	MS completo
2	MS completo + água de coco (20%)
3	MS completo + homogeneizado de banana (4%)
4	MS completo + carvão ativado (0,2%)
5	MS completo + água de coco (20%) + homogeneizado de banana (4%)
6	MS completo + água de coco (20%) + carvão ativado (0,2%)
7	MS completo + homogeneizado de banana (4%) + carvão ativado (0,2%)
8	MS completo + água de coco (20%) + homogeneizado de banana (4%) + carvão ativado (0,2%)
9	MS reduzido
10	MS reduzido + água de coco (20%)
11	MS reduzido + homogeneizado de banana (4%)
12	MS reduzido + carvão ativado (0,2%)
13	MS reduzido + água de coco (20%) + homogeneizado de banana (4%)
14	MS reduzido + água de coco (20%) + carvão ativado (0,2%)
15	MS reduzido + homogeneizado de banana (4%) + carvão ativado (0,2%)
16	MS reduzido + água de coco (20%) + homogeneizado de banana (4%) + carvão ativado (0,2%)

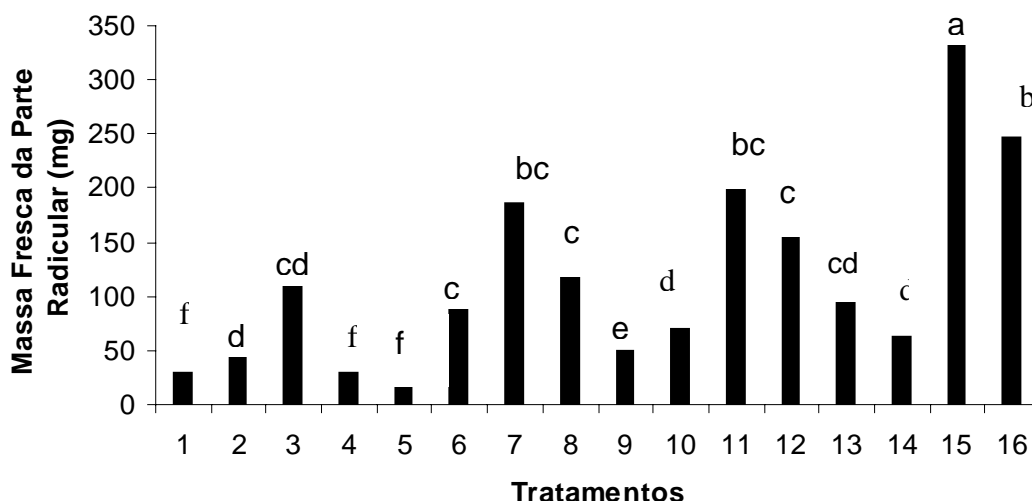
A partir dos 90 dias após a sementeira, plântulas de *Cattleya walkeriana* foram repicadas para outros frascos contendo os diferentes tratamentos. Passados 60 dias (ou 150 após o início do experimento), as plântulas foram novamente repicadas para o respectivo meio e permaneceram neste por mais 50 dias, quando então foram retiradas para as análises biométricas e de massa (200 dias depois do início do experimento).

Após a inoculação das sementes, os frascos foram vedados com filme de polietileno, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado e mantidos em câmara de crescimento à temperatura de 25°C, sob iluminação artificial e fotoperíodo de 16 horas de luz durante 200 dias, quando as plântulas foram retiradas dos frascos e mensuradas o número e comprimento da maior raiz, pesadas para análise da massa da matéria fresca e da matéria seca da parte aérea e radicular. Os dados obtidos foram analisados pelo método de Tukey a 5% de probabilidade de erro e representados por meio de tabelas e gráficos para avaliação do crescimento das plântulas.

A partir da sementeira, quinzenalmente foram coletadas amostras em frascos contendo sementes e plântulas de *Cattleya walkeriana* (sob o tratamento 1) até o 60º dia de incubação, totalizando cinco amostragens. Estas foram fixadas em glutaraldeído a 3% em tampão de fosfato de potássio a 0,05M e pH 7,4. A seguir, foram lavadas seis vezes consecutivamente, com a mesma solução tampão sem o glutaraldeído, em um intervalo de 15 minutos e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2%, no mesmo tampão, por cerca de 12 horas. Posteriormente, foram novamente lavados como no caso anterior, desidratados em uma série gradual crescente de concentração de acetona, sendo que o material foi mantido em cada concentração de acetona por 20 minutos e o último passo da série repetido duas vezes. A seguir, as amostras foram secas em secador de ponto crítico, utilizando-se CO<sub>2</sub>, montadas em porta-espécimes apropriados, recobertas com cerca de 35 nm de ouro, observadas e eletromicrografadas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5410, operado em 15kV (SANTOS e MAIA, 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao crescimento radicular, a maior concentração do meio MS (tratamento 1, controle sem adição de complexo orgânico) foi prejudicial quando comparado ao meio MS reduzido (com metade da concentração dos macronutrientes) (Gráfico 1). STANCATO e FARIA (1996) verificaram que o melhor meio para o crescimento de *Laelia cinnabarina* foi o meio MS completo ou modificado com metade da concentração dos macronutrientes, sendo que este último proporcionou plântulas mais vigorosas.



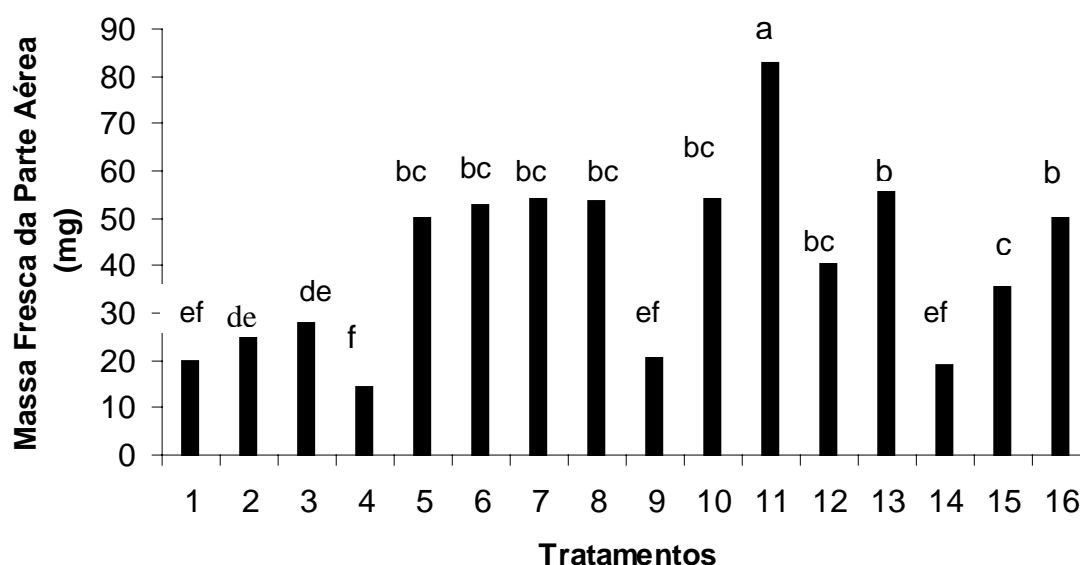
**Gráfico 1.** Massa Fresca da Parte Radicular, 200 dias após a semeadura de *Cattleya walkeriana* em diferentes meios nutritivos. UNESP – FCAV, Jaboticabal – SP, 2007.

\* gráficos com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

Para o número de raízes, as maiores médias foram observadas no tratamento 11 (apesar de que a maior massa fresca esteja no tratamento 15), enquanto a menor média foi encontrada no tratamento 4. Os tratamentos 11 e 3 foram suplementados com 4% de homogêneo de banana para os meios MS modificado e MS completo, respectivamente.

Segundo ARDITTI e ERNST (1993), a polpa de banana madura é rica em minerais, nitrogênio, ácidos orgânicos, lipídios e carboidratos. Entre os complexos orgânicos avaliados, este demonstrou ser o mais eficiente para o crescimento da parte radicular.

Plântulas com as maiores médias de massa fresca e seca da parte aérea foram encontradas no tratamento 11 (gráfico 2), e demonstra que o homogêneo de banana também apresentou eficácia para o crescimento da parte aérea. Os complexos orgânicos água de coco a concentração de 20% (v/v) e carvão ativado a 0,2% como suplemento para o meio MS modificado, demonstrou ser pouco expressivo para o crescimento da parte aérea (tratamento 14) após 200 dias do início do experimento.



**Gráfico 2.** Massa Fresca da Parte Aérea sete meses após a semeadura de *Cattleya walkeriana* em diferentes meios nutritivos. UNESP – FCAV, Jaboticabal – SP, 2007.

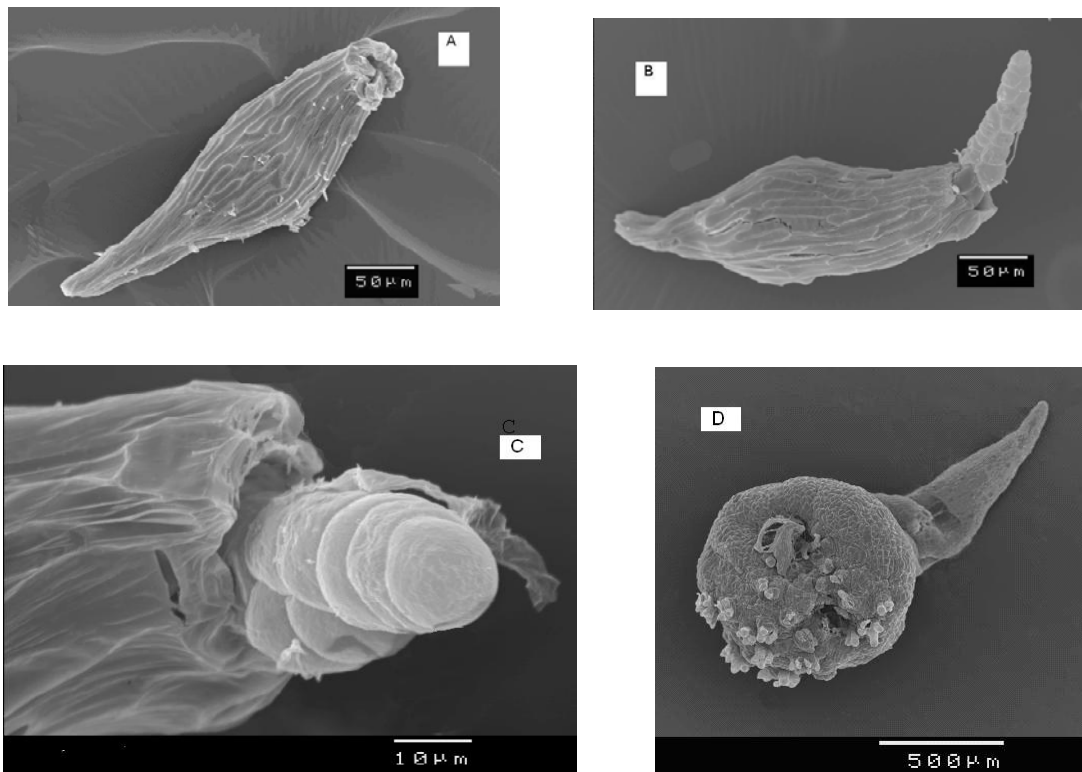
\* gráficos com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%

*Cattleya walkeriana* apresentou protocormos relativamente mais desenvolvidos, até os sessenta dias, nos tratamentos suplementados com água de coco e carvão ativado (combinados ou não no meio MS completo ou modificado) em relação ao observado nos demais, indicando que o efeito positivo para o crescimento aéreo proporcionado pela água de coco e carvão ativado não se estendeu até o final do experimento. MURDAD et al. (2006) concluiu, entretanto, que um meio contendo água de coco a concentração de 15% (v/v) e carvão ativado a  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  deve ser utilizado para a maior frequência de multiplicação de protocormos de *Phalaenopsis gigantea*.

Estes resultados estão em consonância com os de ICHIHASHI e ISLAM (1999), os quais concluíram que os efeitos promotores dos extratos orgânicos (extrato de mamão, milho e batata) variaram com o estágio de crescimento *in vitro* da orquídea híbrida *Doritaenopsis*, indicando que os requerimentos destes complexos orgânicos não são sempre constantes.

As sementes de *Cattleya walkeriana* apresentaram dimensões entre 300  $\mu\text{m}$  de comprimento e 95  $\mu\text{m}$  de largura e o tegumento, na semente madura desta orquídea constitui-se apenas da exotesta, contando com células mortas, transparentes e com paredes simples ou com ornamentação (Figura 8A, 8B). ARDITTI (1967), afirmou que a superfície externa das sementes de Orquidáceas é representada por uma testa reticulada, constituída por apenas uma camada de células alongadas. O padrão de reticulação pode ser espécie-específico ou gênero-específico, existindo uma considerável variabilidade nos detalhes estruturais, no que diz respeito ao grau de espessamento, transparência e escultura.

**Figura 8.** Aspecto geral da semente de *Cattleya walkeriana* (A, x350), e germinando aos 15 e 30 dias (B, x350; C, x1500), respectivamente. Protocormo de 45 dias com presença de pêlos epidérmicos e formação do folíolo (D, x50).



A partir de 45 dias após o início da germinação, *Cattleya walkeriana* apresentou protocormos contendo clorofila e pêlos epidérmicos posicionados em sua posição inferior (Figura 8D). KNUDSON (1950) observou estas características nos protocormos de *Cattleya* e *Laelia*, como também foi observado em *Vanda tricolor* e *Cymbidium* híbrido. O mesmo autor relatou também que espécies de *Cymbidium* não apresentaram pêlos absorventes antes que a primeira gema e a raiz estivessem formadas, demonstrando que a presença de pêlos e clorofila nos protocormos de Orchidaceae podem variar.

#### CONCLUSÕES

A concentração de sais macronutrientes MS reduzida pela metade apresentou maior eficiência para o crescimento de *Cattleya walkeriana* em relação ao meio MS completo; Água de coco e carvão ativado combinado mostraram-se eficazes apenas até a germinação; O meio de cultura MS reduzido suplementado com homogeneizado de banana (4%) apresentou as melhores médias para o número e comprimento de raízes. O meio MS reduzido suplementado com homogeneizado de banana (4%) e carvão ativado (0,2%) apresentou as melhores respostas para enraizamento e crescimento da parte aérea de *Cattleya walkeriana*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARDITTI, J. Factors affecting the germination of orchid seeds. **The Botanical Review**, v.33, n.1, p.1-97, 1967a.
- ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of Orchids**, 1993. New York: John Willey & Sons, p.13-58.
- KNUDSON, L. Germination of seeds of *Vanilla*. **American Journal of Botanic**, Oxford, v.37, p.214-247, 1950.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- MURDAD, R. et al. High frequency multiplication of *Phalaenopsis gigantea* using trimmed bases protocorms technique. **Science Horticulturae**, v.111, p. 73-79, 2006.
- PRITCHARD, H.W. Determination of orchid seed viability using fluorescein diacetate: technical report. **Plant Cell Environment**, v. 8, p.727-730, 1985.
- SANTOS, J.M. DOS; MAIA, A.S. A SEM improved technique for studying host-pathogen interactions of sedentary nematodes and for documentation of perineal patterns of *Meloidogyne* ssp. **Acta Microscopy**, Caracas, v. 6, p. 562-563, 1997.
- SILVA, C.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Caracterização morfo-anatômica dos órgãos vegetativos de *Cattleya walkeriana* Gardner (ORCHIDACEAE). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 91-100, 2004.
- STANCATO, G.C.; FARIA, R.T. In vitro growth and mineral nutrition of lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (Orchidaceae). **Lindleyana**, Palm Beach, v. 11, p. 41-43, 1996.

#### PALAVRAS-CHAVES:

*Cattleya walkeriana*; cultura *in vitro*; Morfogênese; ORCHIDACEAE

## **Propagação in vitro do anador (*Justicia gendarussa* Burm. F.) a partir de gemas axilares.**

Vicente, Maria Alice Argôlo<sup>1</sup>; Souza, Elma dos Santos<sup>2</sup>; Carvalho, Zuleide Silva de<sup>2</sup>; Rebouças, Fabíola Santana<sup>1</sup>; Costa, Maria Angélica Pereira de Carvalho<sup>3</sup>; Almeida, Weliton Antonio Bastos<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Caixa Postal 81, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-2002, e-mail: [aliceargolo@yahoo.com.br](mailto:aliceargolo@yahoo.com.br); [fabyolasr@hotmail.com](mailto:fabyolasr@hotmail.com); <sup>2</sup>Estudante de Engenharia Agrônômica da UFRB, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Caixa Postal 81, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: [elmagrufba@yahoo.com.br](mailto:elmagrufba@yahoo.com.br); [zuleidecarvalho@yahoo.com.br](mailto:zuleidecarvalho@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professor Adjunto Dr<sup>o</sup>. do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB, Caixa Postal 81, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: [mapcosta@ufba.br](mailto:mapcosta@ufba.br); [weliton@ufba.br](mailto:weliton@ufba.br).

### **INTRODUÇÃO**

As plantas medicinais, utilizadas há milhares de anos, servem de base para estudos na produção de novos fármacos (MACEDO et al, 2002). Estima-se que 80% da população no Terceiro Mundo faz uso de fitoterápicos, sendo que 85% destes possuem extratos de plantas medicinais (EMBRAPA, 1994).

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta fundamental influência das culturas indígena, africana e européia e um dos fatores que contribui para a larga utilização de plantas para fins medicinais é o grande número de espécies vegetais encontradas. Mesmo com os expressivos avanços científicos da fitoterapia, elas continuam sendo muitas vezes usadas apenas com base na cultura popular para a promoção e recuperação da saúde das pessoas. O conhecimento e as terapêuticas anteriormente empregados na saúde humana, a exemplo das plantas medicinais, foram marginalizados por não ter base científica (MONTANARI, 2002).

Desta forma o emprego de técnicas biotecnológicas, a exemplo, cultura de tecidos, torna-se ferramenta bastante útil para a reprodução de exemplares com propriedades desejáveis (FRANÇA, 2001). A propagação in vitro é uma técnica bem sucedida e tem sido amplamente utilizada. Essa técnica, permitindo a obtenção em curto espaço de tempo, em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade varietal (FRANÇA, 2001). Em razão da crescente importância e utilização das plantas medicinais, torna-se viável pesquisar a utilização da propagação in vitro dessas espécies, como por exemplo, *Justicia gendarussa* Burm. F., uma planta medicinal conhecida como anador, pertencente à família Acanthaceae, usada na medicina popular do Norte e Nordeste do Brasil, no tratamento de asma, tosse e bronquite (MATOS, 1999).

E devido à importância desta planta para múltiplos propósitos e à dificuldade de obtenção dos princípios ativos em cultura in vitro, justifica-se a aplicação de metodologia que forneça grande número de plantas de *Justicia gendarussa* Burm. F visando selecionar plantas de alta qualidade para plantio extensivo e extração de fitofármacos.

Diante do que foi exposto, o presente trabalho tem por objetivo verificar a viabilidade da multiplicação in vitro desta espécie medicinal freqüentemente utilizada pela população do Recôncavo da Bahia.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia em parceria com o Laboratório de Biotecnologia da Faculdade Maria Milza – FAMAM situada no Município de Cruz das Almas, BA.

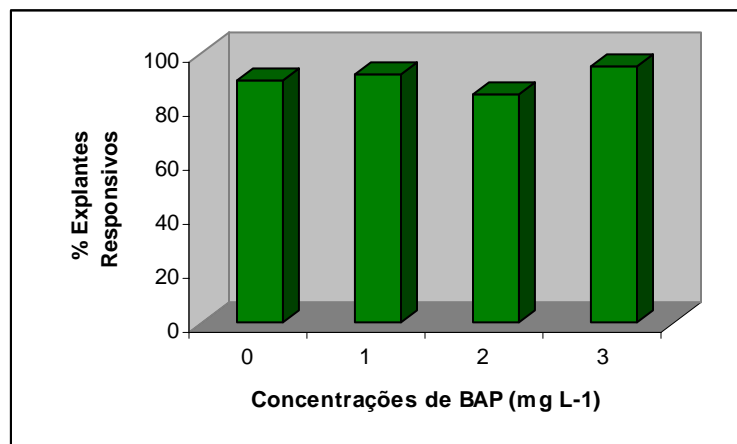


Gemas axilares foram extraídas das brotações laterais (30 cm de comprimento) de anador, sendo usadas como fonte de explante, a extração constituiu primeiramente na retirada das folhas e posteriormente, seccionamento das brotações com o auxílio de um bisturi, em seguida as gemas foram desinfestadas, durante 20 minutos, em solução comercial de hipoclorito de sódio (2,5%) diluída em água destilada na proporção 2:1, sendo lavadas quatro vezes em água destilada e esterilizada.

Os explantes foram introduzidos em placas de Petri (100x15mm) contendo o meio de cultura MS (MURASHIGUE & SKOOG, 1962) suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,8% de Agar, e BAP (Benzilaminopurina) nas concentrações de 0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>. Os explantes foram mantidos sob fotoperíodo de 16 horas, à temperatura de 27<sup>o</sup> ± 2 °C. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada uma delas constituída de uma placa de Petri contendo 10 gemas axilares. Após seis dias, avaliou-se o percentual de explantes responsivos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

As citocininas são reguladores de crescimento que desempenham um papel fundamental no crescimento e morfogênese em cultura de tecidos, estimulando a divisão celular, bem como, a indução e a proliferação de brotações adventícias (GEORGE & SHERRINGTON, 1984). Conforme os resultados obtidos, observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados. (Figura 1).



**Figura 1:** Percentagem de explantes responsivos em gemas de anador, em função de diferentes concentrações de BAP.

Tais resultados diferem dos resultados obtidos por Rathore (1992), que estabeleceu protocolo altamente regenerativo e eficiente para *Maytenus emarginata*, utilizando meio de cultura MS adicionado de BAP e AIA. Da mesma forma Silva et al (2005), trabalhando com regeneração de plantas de laranja Pêra in vitro, constataram que o maior porcentual de explante responsivo foi obtido utilizando a concentração 3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. A regeneração de plantas in vitro tem obtido sucesso a partir de gemas apicais e axilares e explantes nodais para várias espécies da família Moráceas (HOSSAIN et al., 1992; MHATRE et al., 1985; PATTAIK et al., 1996).

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados não há necessidade da suplementação exógena de BAP para multiplicação in vitro de anador a partir de gemas axilares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EMBRAPA. **Atlas do meio ambiente do Brasil**. Ed. Terra Viva. Brasília, 1994.

FRANÇA, S. C. de. Abordagens biotecnológicas para obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.) **Farmacognasta: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS; UFSC, 2001. 105-204p.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley; Exegetics Limited, 1984.

HOSSAIN, M.; RAHMAN, S. M.; ZAMAN, A.; JOARDER, O. I.; ISLAM, R. Micropropagation of *Morus laevigata* Wall from mature trees. **Plant Cell Reports**, v. 11, n. 10, New York, 1992. 522-524p,

MACEDO, M.; CARVALHO, J.M.K.; NOGUEIRA, F. L. **Plantas medicinais e ornamentais da área do aproveitamento múltiplo em manso**. Chapada dos Guimarães, Mato Grosso. Cuiabá, 2002.

MATOS, F.J. A. **Plantas da medicina popular do nordeste: propriedades atribuídas e confirmadas**. Fortaleza, 1999.

MONTANARI Jr, I. Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas. CPQBA-UNICAMP, Campinas-SP, 2002.

MURASHIGUE, T.; SKOOG, F.; A revised Médium for Rapid Growth Bicassay with Tobacco Tissue Culture. **Physiology Plantarum**. v. 15, n. 3,. 1962. 473 – 479p.

OLIVEIRA, A. M. F.; ANDRADE, L. H. C.; Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* Jacq. e *Justicia gendarussa* Burm. F. (ACANTHACEAE). **ACTA Amazônica** , Manaus, 2000. 569-578p

RATHORE, T. S.; DEORA, N. S.; SHEKHAWAT, N. S. Cloning of *Maytenus emarginata* (Willd.) Ding Hou-a tre of the Indian Desert, through tissue culture. **Plant Cell Reports**, v. 11, n. 9, p. 449-451, 1992.

SILVA, R. P. et al. Regeneration of 'Pera' sweet orange plants through in vitro organogenesis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, no.12. Brasília, 2005.1153-1159p.

### PALAVRAS-CHAVES

*Justicia gendarussa* Burm. F.; plantas medicinais; cultivo in vitro; cultura de tecidos.

## Indução de culturas embriogênicas de *Acca sellowiana* Berg (Myrtaceae).

Clarissa Alves Caprestano<sup>1</sup>; Taina Soraia Muller<sup>2</sup>; Miguel Pedro Guerra<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica de Agronomia, Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, CEP: 88034-001, Florianópolis-SC, e-mail: [clarissacapre@hotmail.com](mailto:clarissacapre@hotmail.com); <sup>2</sup> Bióloga, M.Sc., Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, CCA/UFSC. e-mail: [yhataina@hotmail.com](mailto:yhataina@hotmail.com); <sup>3</sup> Prof. Titular, Depto. Fitotecnia /CCA/UFSC, e-mail: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

A goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) é uma mirtácea arbustiva, nativa dos campos sulinos do Brasil e norte do Uruguai, muito apreciada pelos seus frutos doce-acidulados e excelente aroma. Um convênio entre a EPAGRI e o Departamento de Fitotecnia do CCA/UFSC vem possibilitando o desenvolvimento de trabalhos de pesquisa multidisciplinares, na forma de um projeto integrado de domesticação da goiabeira serrana, com ênfase na área de melhoramento genético e da aplicação das técnicas de cultura de tecidos vegetais para a micropropagação desta espécie. No presente trabalho avaliou-se diferentes fontes e concentrações de fitorreguladores na morfogênese *in vitro* de estruturas florais. Utilizou-se o meio de cultura LPm suplementado com Vitaminas BM, Maltose (3%), Phytigel (0,2%), Glutamina, mio-inositol, Caseína Hidrolisada (210 mg.L<sup>-1</sup>, cada). Foram testados os seguintes tratamentos: 1 – Meio LPm, isento de fitorreguladores; 2 - Dicamba (20 µM) e Picloram (0,5 µM); 3 - 2,4-D (20 µM) e Picloram (4,9 µM); 4 - 2,4-D (20 µM) e BAP (4,4 µM); 5 - Picloram (20 µM) e 2-ip (0,5 µM); 6 - Picloram (10 µM) e Kin (1,0 µM). As estruturas florais foram pétalas, estames e pistilos inoculados em placas de petri contendo 20 ml do meio de cultura. A indução morfogenética *in vitro* revelou-se tecido específica, sendo que pistilos, pétalas e estames apresentaram taxas médias de indução de calos de 66, 50 e 33% respectivamente em resposta aos tratamentos 5, 5 6 aos 120 dias após a inoculação. Calos originados de pétalas no tratamento 5 mostraram-se friáveis e com células pequenas, isodiamétricas, com citoplasma denso e núcleo proeminente e com resposta de coloração intensa ao corante carmim acético, caracterizando células com competência embriogênica. As células derivadas de calos de estames encontravam-se alongadas, com muitos vacúolos, mais reativas ao azul de Evans e pouco reativas ao carmim acético, características estas de células não embriogênicas. Células de calos originados de pistilos cultivados no tratamento 4 reagiram fortemente ao carmim acético e mostraram organização morfogenética característica de pró-embriões somáticos.

Palavras-chaves: *Acca sellowiana*, *Feijoa sellowiana*; culturas embriogênicas, reguladores de crescimento, explantes florais.

## Utilização do PPM (Plant Preservative Mixture) para controle da contaminação visando o estabelecimento *in vitro* de explantes de *Eucalyptus citriodora* Hook.

Virgínia Maria Tenório Sabino Donato<sup>1</sup>; Samantha Olivier<sup>2</sup>; Wolfgang Harand<sup>3</sup>; Júlio Zoe de Brito<sup>4</sup>; Arnóbio Gonçalves de Andrade<sup>5</sup>.

<sup>1,2,3,5</sup>Pesquisadores do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), Av. Prof. Luís Freire, 1, Cidade Universitária, CEP 50.740-540–Recife, Pernambuco, fone:(81)3271-9815, e-mail: [vmtsdonato@uol.com.br](mailto:vmtsdonato@uol.com.br); [sam.olivier@bol.com.br](mailto:sam.olivier@bol.com.br); [arnobioandrade@gmail.com](mailto:arnobioandrade@gmail.com); <sup>4</sup>Pesquisador da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Av. Gal. San Martin, 1371, Bongi, CEP 50.761-000 – Recife, Pernambuco, fone: (81) 2122-76200, e-mail: [juliozoe@gmail.com](mailto:juliozoe@gmail.com);

O eucalipto tem sido extensivamente utilizado em plantios florestais devido ao seu rápido crescimento, alta produtividade, ampla variação de espécies, grande capacidade de adaptação e variadas aplicações industriais. A micropropagação é uma das técnicas que oferece excelentes possibilidades para propagação comercial dessa espécie. No entanto, elevados índices de contaminação do meio de cultivo dificultam a sua aplicação. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência e selecionar a concentração mais adequada do antimicrobiano PPM (Plant Preservative Mixture) produzido pela Plant cell Technology, Inc, para o controle da contaminação durante o estabelecimento *in vitro* de explantes de *Eucalyptus citriodora*. Utilizou-se como explante, gemas laterais de plantas jovens coletados no campo. Os explantes foram inicialmente lavados com detergente neutro comercial e em seguida, em ambiente estéril, foram submetidos ao processo de desinfestação, constituído da imersão em álcool 70% (v/v) por 1-3 minutos, seguida da imersão em hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) por 10 minutos e finalmente enxaguados 3 vezes em água destilada estéril. Os explantes foram seccionados em segmentos de aproximadamente 2 cm, contendo pelo menos uma gema lateral. Parte dos explantes foi mantida em solução de PPM (Plant Preservative Mixture) a 5% (v/v) e outra em água destilada estéril por 4 horas. Após esse período, os explantes foram transferidos, sem enxágüe, para tubos contendo meio de cultivo constituído pelos sais e vitaminas do MS, acrescido de 30g.L<sup>-1</sup> e diferentes doses de PPM (T<sub>0</sub>= sem PPM; T<sub>1</sub>= MS + 0,5% de PPM; T<sub>2</sub>= MS + 0,2% de PPM; T<sub>3</sub>= MS + 0,1% de PPM). Nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> não houve contaminação tanto nos explantes pré-tratados apenas com água como naqueles pré-tratados com solução de PPM. No tratamento T<sub>3</sub> observou-se que houve 40% de contaminação nos explantes pré-tratados apenas com água, enquanto naqueles pré-tratados com solução de PPM não houve contaminação. No tratamento T<sub>0</sub>, sem adição de PPM, verificou-se que houve 60% de contaminação nos explantes pré-tratados com água, enquanto naqueles pré-tratados com solução de PPM houve apenas 20% de contaminação. Verificou-se pelos resultados obtidos que, embora o pré-tratamento com solução de PPM tenha sido eficiente no controle da contaminação, observou-se um aumento da oxidação do meio de cultivo em relação aqueles explantes pré-tratados apenas com água. Outros estudos estão sendo executados para avaliar a fitotoxicidade do PPM para o eucalipto e outras culturas.

### PALAVRAS-CHAVES

Micropropagação; contaminação *in vitro*; *Eucalyptus*.

## Concentração de sais do meio MS e ambiente de cultivo na indução de calos organogênicos de *Passiflora gibertii*.

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo<sup>3</sup>; Souza, Ana Cristina<sup>4</sup>; Emrich, Eduardo Bucsan<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [carolinatala@hotmail.com](mailto:carolinatala@hotmail.com); <sup>4</sup>Auxiliar de laboratório do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [acstina@yahoo.com.br](mailto:acstina@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Graduação em Agronomia (UFLA).

### INTRODUÇÃO

Algumas espécies não cultivadas de *Passiflora* spp. têm expressivas contribuições importantes ao melhoramento genético, por apresentarem resistência a doenças e pragas, longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos de interesse para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas ainda inexploradas.

A regeneração *in vitro* pode seguir duas vias: a organogênese ou a embriogênese somática. Estas vias podem ser realizadas de forma indireta ou direta, dependendo da formação ou não de calos, respectivamente. No caso da organogênese, ocorre a formação de gemas adventícias, que são assim denominadas por terem origem em locais diferentes daqueles onde se formam no curso normal de desenvolvimento da planta. Um protocolo de regeneração de plantas *in vitro* é, portanto, imprescindível para a multiplicação de plântulas com características agrônomicas desejáveis de diferentes espécies de *Passiflora* spp. (Monteiro-Hara, 2000; Moura et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi determinar melhor concentração de sais do meio de cultura MS e ambiente de cultivo para organogênese indireta de maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* - acesso CPAC MJ-22-01 germinadas *in vivo* e mantidas em sala de crescimento, a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons de 43 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. A idade das plantas foi de 52 dias.

Para a desinfestação, as folhas foram levadas para câmara de fluxo laminar e imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), com 0,5% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 10 minutos e, posteriormente, lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Após desinfestação, as folhas foram excisadas em diâmetros de ≈ 1 cm<sup>2</sup> e os explantes receberam pequenos cortes por toda a superfície, com bisturi e inoculadas com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

Foram testadas diferentes concentrações dos sais do meio MS (Murashige & Skoog, 1962) (MS e ½ MS), suplementado com BAP (8,88 µM), sacarose (3%), água de coco (5%) e solidificado com ágar (0,5%).

O pH dos meios foi ajustado para 5,8±1, antes da autoclavagem, a 120°C, durante 20 minutos.

Após inoculação, os explantes foram mantidos em dois ambientes: no escuro, à temperatura de  $25\pm 2^\circ\text{C}$  e em sala de crescimento, sob irradiância de fótons de  $36\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ , temperatura de  $25\pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas, por 30 dias.

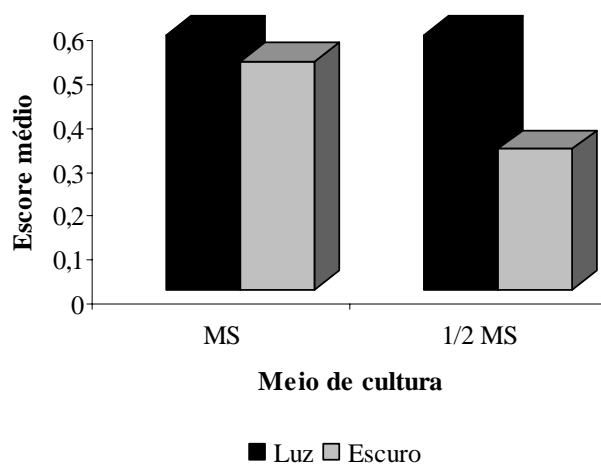
Para análise estatística, os calos foram classificados nas seguintes categorias: 0 = ausência de calos; 1 = explantes intumescido; 2 = início da calogênese; 3 = 50% do explante coberto por calos; 4 = mais que 50% do explante coberto por calos e 5 = explante totalmente coberto por calos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 12 repetições por tratamento. Os resultados foram analisados no programa estatístico SAS®, pela correlação de Spearman, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis e obtendo-se o escore médio de formação de calos.

Após trinta dias, explantes com calos foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP ( $2,22\ \mu\text{M}$ ), sacarose (3%) e solidificado com ágar (0,5%). Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de  $36\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ , temperatura de  $25\pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas, por 30 dias. Após esse período, calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM, suplementado com sacarose (3%) e  $\text{GA}_3$  ( $2,89\ \mu\text{M}$ ), e mantidos em sala de crescimento, nas mesmas condições citadas acima, por 30 dias. O pH dos meios foi ajustado para  $5,8\pm 0,1$  e os meios solidificados com ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a  $120^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

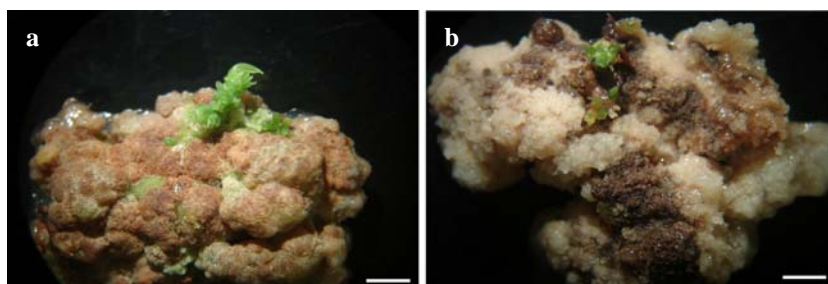
Não houve diferença estatística entre as diferentes concentrações do meio de cultura MS nos diferentes ambientes para indução de calos (Figura 1), tendo a melhor resposta sido obtida em explantes cultivados na luz com escore de 0,58, independente da concentração do meio de cultura.



**FIGURA 1.** Indução de calos em segmentos foliares de *P. gibertii*, em diferentes concentrações do meio MS e em diferentes ambientes, aos 30 dias de cultivo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Entretanto, quando os explantes com calos foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP ( $2,22\ \mu\text{M}$ ) e mantidos em sala de crescimento na luz, apenas alguns explantes oriundos do cultivo no escuro formaram gemas aos 30 dias. Após esse período, quando calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM suplementado com  $\text{GA}_3$  ( $2,89\ \mu\text{M}$ ) e mantidos

em sala de crescimento nas mesmas condições citadas acima, apenas um explante oriundo do cultivo na luz formou gemas (Figura 2b). Já vários explantes oriundos do cultivo no escuro formaram gemas (Figura 2a), aos 30 dias de cultivo, porém, nenhuma gema se desenvolveu em plântula.



**FIGURA 2.** Calos organogênicos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* oriundos do escuro (a) e da luz (b). Barra = 3 mm (a, b). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Monteiro et al. (2000) obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho, quando cultivaram folhas de *P. suberosa* *in vitro* em meio de cultura MS. Os explantes foram mantidos em meio de indução no escuro, a  $26\pm 2^\circ\text{C}$  durante quatro semanas e, após esse período, houve a formação de calos que apresentaram aspecto organogênico. Após sua transferência para meio MSM contendo  $2,89\ \mu\text{M}$  de  $\text{GA}_3$ , sob condições de luz, os autores observaram a formação de gemas a partir dos calos. Já de acordo com Lombardi (2003), explantes de *P. cincinnata* Mast. cultivados em meio MS acrescido de 5% de água de coco e mantidos em sala de crescimento, sob condições de fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , formaram gemas, via indireta, nas extremidades dos explantes, aos 14, 28 e 56 dias de cultivo.

## CONCLUSÃO

Calos oriundos de condições de escuro são mais responsivos à formação de gemas de *P. gibertii*. No intuito de reduzir os gastos na cultura *in vitro*, pode-se sugerir que o meio de indução mais indicado para organogênese de *P. gibertii* é o meio MS contendo metade da concentração de seus sais e mantido no escuro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOMBARDI, S. P. **Estudos anatômicos e fisiológicos da organogênese *in vitro* em *Passiflora cincinnata* Mast.** 2003. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.

MONTEIRO, A. C. B. A.; NAKAZAWA, G. T.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUEZ, A. P. M. Regeneração *in vitro* de *Passiflora suberosa* a partir de discos foliares. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 571-573, jul./set. 2000.

MONTEIRO-HARA, A. C. B. A. **Cultivo *in vitro* de três espécies do gênero *Passiflora*.** 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MOURA, T. L.; ALMEIDA, W. A. B.; MENDES, B. M. J.; FILHO, F. A. A. M. Organogênese *in vitro* de *Citrus* em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 240-245, ago. 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; calogênese; presença/ausência de irradiância de fótons; meio de cultura.



## **Resposta organogenética *in vitro* de quiôidô (*Ocimum gratissimum* L.) em função de concentrações de BAP.**

Carvalho, Zuleide Silva de<sup>1</sup>; Bonsucesso, Josemário Santana.<sup>1</sup>; Silva, Erivaldo de Jesus da<sup>1</sup>; Souza, Elma dos Santos<sup>1</sup>; Vicente, Maria Alice Argôlo<sup>2</sup>; Costa, Maria Angélica Pereira de Carvalho<sup>3</sup>; Almeida, Weliton Antonio Bastos de<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Alunos da graduação no curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB. Cruz das Almas. Caixa Postal 81, CEP 44380-000; [zuleidecarvalho@yahoo.com.br](mailto:zuleidecarvalho@yahoo.com.br)/ Bolsista PIBIC-CNPq.; [jmbonsucesso@yahoo.com.br](mailto:jmbonsucesso@yahoo.com.br); [eryfaleiro@yahoo.com.br](mailto:eryfaleiro@yahoo.com.br)/ Bolsista PIBIC-CNPq.; [elmagrufba@yahoo.com.br](mailto:elmagrufba@yahoo.com.br)/ Bolsista FAPESB-CNPq.; <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em ciências agrárias – UFRB, [aliceargolo@yahoo.com.br](mailto:aliceargolo@yahoo.com.br)/ Bolsista CAPES; <sup>3</sup>Professores da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB/Faculdade Maria Milza - FAMAM. Cruz das Almas. Caixa Postal 81, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia; [mapcosta@ufba.br](mailto:mapcosta@ufba.br); [welliton@mariamilza.com.br](mailto:welliton@mariamilza.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

A prática terapêutica com plantas vem ultrapassando todas as barreiras e obstáculos durante o processo evolutivo do homem e das civilizações. As primeiras civilizações cedo se aperceberam da existência, ao lado das plantas comestíveis, de outras dotadas de maior ou menor toxicidade que, ao serem experimentadas no combate à doença, revelaram, embora empiricamente, o seu potencial curativo (CUNHA, 2006).

A utilização destas plantas vem sendo passada de geração para geração, de maneira muito simples e muitas vezes sem registro escrito, colaborando para o esquecimento do uso de muitas ervas, bem como algumas indicações contraditórias do valor terapêutico e confusão das espécies e nome popular (COELHO, 1989, apud SIQUEIRA, 2006).

O Brasil tem uma das mais ricas biodiversidades do planeta, onde provavelmente encontram-se desconhecidos princípios ativos, que poderão curar diversas moléstias da população mundial. O uso de plantas medicinais no Brasil é uma tradição que tem suas origens na cultura indígena. Por centenas de anos, estas plantas foram utilizadas para tratar doenças e amenizar dores e incômodos e, nos dias atuais, as plantas medicinais ocupam lugar de destaque como alternativa terapêutica viável, além de uso em cosméticos, etc (CUNHA, 2006).

Segundo Blank et al., (2003), o cultivo de plantas medicinais no Brasil ainda é muito incipiente, e as espécies vegetais de interesse medicinal são coletas sem identificação correta da espécie e suas variedades. Com o crescente aumento da população, aliado a outros fatores sociais e econômicos, a demanda por produtos desta natureza tem atingido proporções que podem comprometer a preservação e a conservação destes recursos naturais. O extrativismo, considerado como uma das ações responsáveis pelo comprometimento deste estoque natural, é responsável pela ameaça constante de extinção de várias espécies vegetais.

O *Ocimum gratissimum* L., popularmente conhecido como quiôidô, é uma Lamiaceae originária da Ásia e África, podendo ser perene ou anual (EHLERT et al., 2000, apud BLANK et al., 2003). É uma planta medicinal com ação aromática, popularmente utilizada como estimulante, sudorífera, diurética e anti-séptica local (SOUZA et al., 2005). Em trabalhos realizados pela equipe de farmacologia da Universidade Federal de Sergipe, o quiôidô apresentou ação diurética (CARVALHO et al., 1998, apud BLANK et al., 2003).

Assim como a maior parte das espécies nativas, o quiôidô vem sendo coletado por processos extrativos, sendo material vegetal colhido heterogêneo e de baixa qualidade (NICOLOSO et al., 1999, apud FLORES et al., 2006).

A micropropagação de plantas medicinais possibilita a produção de um grande número de plantas homogêneas e com elevada qualidade sanitária, bem como possibilita a conservação de germoplasma, garantindo a manutenção da biodiversidade, além de auxiliar no melhoramento genético.

As citocininas são reguladores de crescimento que desempenham um papel fundamental no crescimento e morfogênese em cultura de tecidos, estimulando a divisão celular, bem como, a indução e a proliferação de brotações adventícias (GEORGE & SHERRINGTON, 1984, apud FLORES et al., 1998). Dentre as citocininas, o BAP (6-benzilaminopurina) tem sido muito eficaz para promover a multiplicação em diversas espécies e parece ser a citocinina mais adequada para a multiplicação de parte aérea e indução de gemas adventícias (GRATTAPLAGIA & MACHADO, 1998).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a resposta organogenética *in vitro* em função da utilização da 6-Benzilaminopurina (BAP) a partir de gemas axilares de quiôio (*Ocimum gratissimum* L.).

## MATERIAL E MÉTODOS

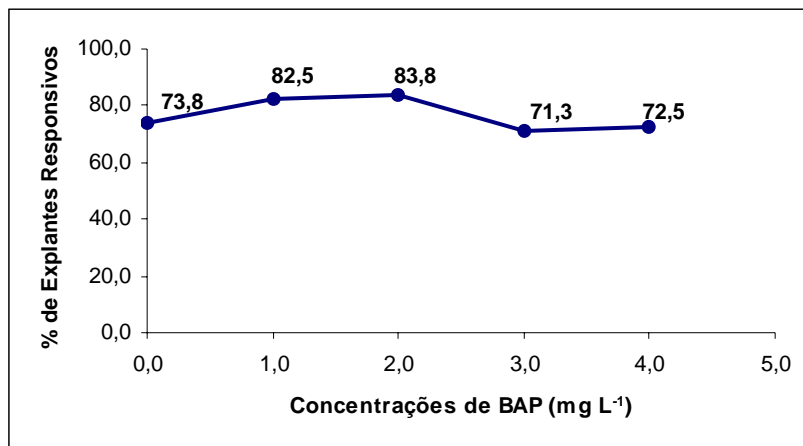
O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Faculdade Maria Milza – FAMAM em Cruz das Almas-BA. Foram utilizadas como fonte de explante gemas axilares de plantas de quiôio oriundas do campo.

As gemas foram desinfestadas numa solução de hipoclorito de sódio na concentração de 2:1, durante 20 minutos. Posteriormente, foram lavadas 3 vezes em câmara de fluxo laminar com água destilada (autoclavada). Os explantes foram incubados em placas de *Petri*, contendo 20 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e variando as concentrações de BAP em 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>, e pH de 5,8, antes da autoclavagem. As placas foram mantidas sob fotoperíodo de 16 horas, à temperatura de 27° ± 2°C.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e oito repetições, sendo cada parcela constituída por dez gemas axilares. O parâmetro avaliado foi o percentual de explantes responsivos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a concentração 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP foi aquela que promoveu o maior percentual de explantes responsivos (83,8%). Observou-se, ainda, que as maiores concentrações (3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) exerceram efeito antagônico sobre o percentual de explantes responsivos (Figura 1). Provavelmente, os níveis exógenos de BAP, interagindo com o nível endógeno de citocinina, podem ter causado um efeito fitotóxico, suprimindo as brotações. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Moura et al., (2001), no cultivo *in vitro* de epicótilo de plântulas de limão-‘Cravo’ e laranja-‘Pera’, onde elevadas concentrações de BAP promoveram redução de explantes com brotações, sendo que a concentração ótima foi de 2,5 mg L<sup>-1</sup>. Pasqual & Ando (1989a), apud Moura et al., (2001), também encontraram resultados semelhantes no cultivo *in vitro* de gemas axilares de brotações de *Poncirus trifoliata*, onde a concentração ideal de BAP foi de 1,0 mg L<sup>-1</sup>, e maiores concentrações suprimiram as brotações.



**Figura 1:** Efeito de concentrações de BAP na indução do desenvolvimento de brotos a partir de gemas de gemas axilares de quiôid (*Ocimum gratissimum* L.)

## CONCLUSÕES

A concentração 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP foi a que proporcionou maior percentual de explantes responsivos, enquanto que maiores concentrações (3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) suprimiram as brotações de gemas axilares de *Ocimum gratissimum* L.

## REFERÊNCIAS

BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA, P. A.; TORRES, M. E. R.; MENEZES, E. R. Efeitos de composições de substratos na produção de mudas de quiôid (*Ocimum gratissimum* L.). **Revista Ciência Agronômica**. Vol. 34. nº 1. 2003: x-y.

CUNHA, A. P. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes e fitoterapia. **ESALQ-USP**: 2006. Disponível em [http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos\\_historicos.pdf](http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos_historicos.pdf). Acessado em 13/02/2007.

FLORES, R.; STEFANELLO, S.; FRANCO, E. T. H. ; MANTOVANI, N. Regeneração *in vitro* de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Agrociência**. V.4. nº 3, 201-205, Setembro-Dezembro/1998.

FLORES, R.; MAKDANER, J.; NICOLOSO, F. T. Otimização da micropropagação de *Ptaffia tuberosa* (Spreng) Hicken. **Ciência Rural**. Santa Maria. V.36, nº 3, p.845-851. maio-junho/2006.

MOURA, T. L. de; ALMEIDA, W. A. B. de; MENDES, B. M. J.; MOURÃO FILHO, F. A. A. Organogênese *in vitro* de Citrus em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Vol. 23. nº 2. Jaboticabal. Agosto/2001.

SIQUEIRA, H. M. Importância das plantas medicinais. **CCA-UEFS**: 2006. Disponível em: [http://www.ufes.br/~proex/arquivos/importancia\\_das\\_plantas\\_medicinais.pdf](http://www.ufes.br/~proex/arquivos/importancia_das_plantas_medicinais.pdf). Acessado em 13/02/2007.

SOUSA, P.B.L.; AYALA-OSUNA, J.T.; GOMES, J.E. Propagação vegetativa de *Ocimum gratissimum* L. em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu. V.8. nº.1, p.39-44, 2005.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais, cultivo *in vitro*, micropropagação.

## Efeito da Água de coco na indução de calos organogênicos de *Passiflora gibertii* (Passifloraceae).

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Emrich, Eduardo Bucsan<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [carolinatala@hotmail.com](mailto:carolinatala@hotmail.com); <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Graduação em Agronomia (UFLA).

### INTRODUÇÃO

O estabelecimento *in vitro* de maracujazeiro é essencial quando se deseja fazer a manutenção de germoplasma de *Passiflora*, utilizando-se procedimentos biotecnológicos. Para tanto, devem estar disponíveis, na literatura, protocolos específicos para as diversas espécies.

Segundo Torres et al. (2001), os aditivos orgânicos complexos podem ser adicionados ao meio, visando melhor resposta no padrão de crescimento. A adição de água de coco, 2iP e ANA estimula o rápido crescimento e a progressão de culturas de calo em eixo embrionário, segmentos caulinares e segmentos de folhas jovens clorofiladas (Ledo et al., 2002). Segundo Hall et al. (2000), para muitas espécies, incluindo *Passiflora*, a água de coco contém substâncias de crescimento essenciais para uma maior regeneração. Lombardi (2003) afirma que o número de explantes com brotos obtidos de diferentes espécies de *Passiflora* foi também maior quando combinado BAP e água de coco.

De acordo com Taiz & Zeiger (2004), a água de coco é o líquido do endosperma de sementes de coco que contém citocininas e outros fatores nutricionais. A zeatina, uma citocinina de ocorrência natural que estimula a divisão de células vegetais maduras, foi identificada na água de coco. Algumas culturas possuem necessidade desse hormônio vegetal para o melhor desenvolvimento e produtividade no meio de cultura e, para outras, esse componente é fator de sucesso ou insucesso no cultivo *in vitro* (Cardoso, 2007).

A composição da água de coco e da polpa depende de fatores, como variedade da palmeira, grau de maturação e natureza do solo no qual o fruto cresceu (Aleixo et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi determinar necessidade de água de coco para organogênese indireta de maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal foram utilizadas plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* - acesso CPAC MJ-22-01 germinadas *in vivo* e mantidas em sala de crescimento, a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons de 43 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. A idade das plantas foi de 109 dias.

Para a desinfestação, as folhas foram levadas para câmara de fluxo laminar e imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), com 0,5% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 10 minutos e, posteriormente, lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Após desinfestação, as folhas foram excisadas em diâmetros de ≈ 1 cm<sup>2</sup> e os explantes receberam pequenos cortes por toda a superfície, com bisturi e inoculadas com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

Foi testado meio MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, acrescido ou não de água de coco (5%), suplementado com BAP (8,88  $\mu\text{M}$ ), sacarose (3%) e solidificado com ágar (0,5%)

O pH dos meios foi ajustado para  $5,8 \pm 1$ , antes da autoclavagem, a  $120^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos.

Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento, no escuro, à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , por 30 dias.

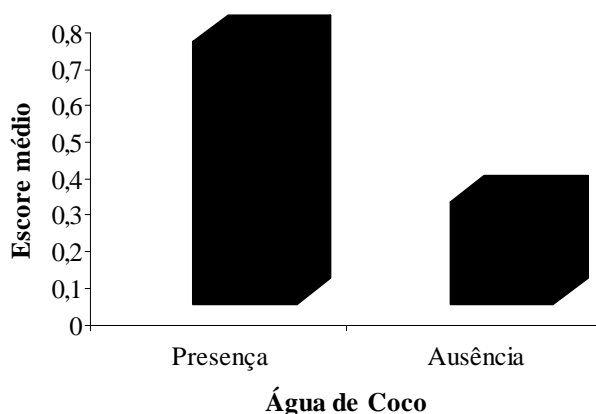
Para análise estatística, os calos foram classificados nas seguintes categorias: 0 = ausência de calos; 1 = explantes intumescido; 2 = início da calogênese; 3 = 50% do explante coberto por calos; 4 = mais que 50% do explante coberto por calos e 5 = explante totalmente coberto por calos.

Após trinta dias, explantes com calos foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (2,22  $\mu\text{M}$ ), sacarose (3%) e solidificado com ágar (0,5%). Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas, por 30 dias. Após esse período, calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM, suplementado com sacarose (3%) e  $\text{GA}_3$  (2,89  $\mu\text{M}$ ), e mantidos em sala de crescimento, nas mesmas condições citadas acima, por 30 dias. O pH dos meios foi ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  e os meios solidificados com ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a  $120^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 45 repetições por tratamento. Os resultados foram analisados no programa estatístico SAS<sup>®</sup>, pela correlação de Spearman, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis e obtendo-se o escore médio de formação de calos. O escore é medido em pontos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

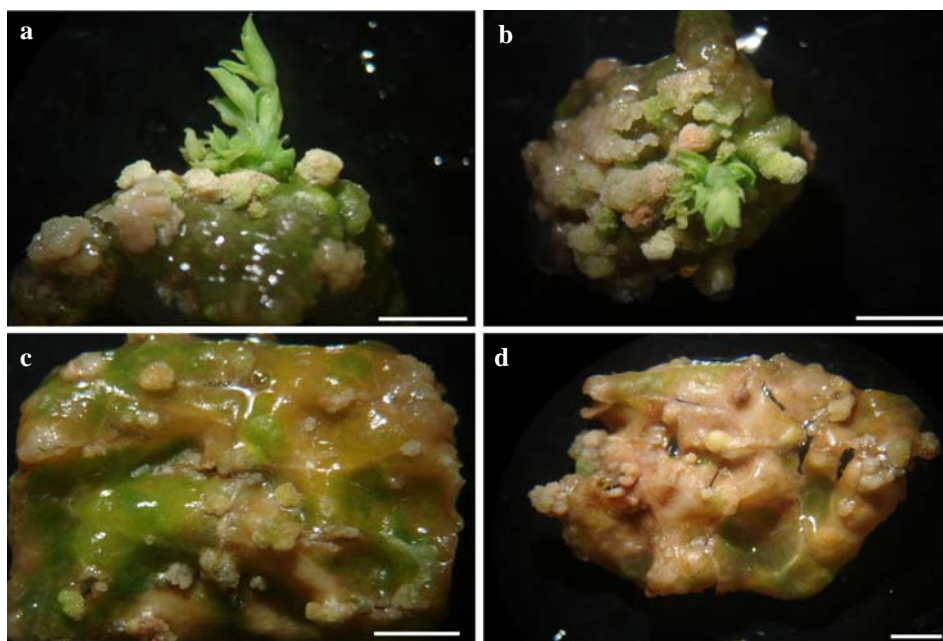
A adição ou não de água de coco ao meio de cultura diferiu estatisticamente na indução de calos. Melhores resultados foram observados na presença de água de coco, com escore de 0,72 pontos, contrastando com 0,28 pontos na ausência de água de coco (Figura 1).



**FIGURA 1.** Indução de calos em segmentos foliares de *P. gibertii* na presença e na ausência de água de coco em meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais e suplementado com BAP (8,88  $\mu\text{M}$ ), aos 30 dias de cultivo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Após transferência dos calos para novo meio de cultura, calos provenientes do meio contendo água de coco promoveram a formação de gemas (Figura 2 a, b), enquanto que

calos provenientes de meio sem a adição de água de coco não formaram gemas (Figura 2 c, d).



**FIGURA 2.** Calos organogênicos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* cultivados em meio de cultura suplementado com água de coco (**a, b**); calos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* cultivados em meio de cultura na ausência de água de coco (**c, d**). Barra = 3 mm (a, b, c, d). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Estes resultados estão de acordo com vários autores, que enfatizam que a adição da água de coco ao meio de cultura em diferentes espécies de *Passiflora* spp. promove a organogênese (Dornelas & Vieira, 1994; Hall et al., 2000; Lombardi, 2003).

Kantharajah & Dodd (1990) verificaram que a adição de 20% de água de coco ao meio MS contendo 8,88  $\mu\text{M}$  de BA elevou significativamente a produção de gemas de *P. edulis* var. Norfolk Island.

Al-Khayri et al. (1992) examinaram a influência de várias concentrações de água de coco na indução de calos a partir de discos foliares e na regeneração de gemas de espinafre (*Spinacia oleracea* L.). Os autores constataram que a adição de 15% de água de coco ao meio de cultura aumentou o crescimento do calo, o potencial regenerativo e o crescimento das gemas.

De acordo com Fernando (2005), segmentos de hipocótilo de *P. edulis* f. *flavicarpa* inoculados em meio MS contendo 5% de água de coco apresentaram maior número de gemas e protuberâncias. Contudo, independentemente da adição de água de coco, a organogênese *in vitro* foi similar, ou seja, houve formação de protuberâncias e gemas em ambas as condições de cultivo *in vitro*. Portanto, a adição de água de coco ao meio de cultura é vantajosa para a micropropagação, uma vez que o número de gemas formado é significativamente superior e morfológicamente similar, em ambos os tratamentos.

## CONCLUSÃO

A adição de água de coco ao meio de cultura é essencial, tanto para indução de calos como para a formação de gemas em *P. gibertii*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, P. C.; NÓBREGA, J. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; MULLER, R. C. S. Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 310-312, mai./jun. 2000.
- AL-KHAYRI, J. M.; HUANG, F. H.; MORELOCK, T. E.; BUSHARAR, T. A. Spinach tissue culture improved with coconut water. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 4, p. 357-358, Apr. 1992.
- CARDOSO, J. C. **Prêmio Banco da Amazônia de Empreendedorismo Consciente: Seleção e Aproveitamento Econômico de Espécies Vegetais Nativas da Amazônia**. Pompéia, SP. Disponível em: [www.fca.unesp.br/arquivo\\_de\\_noticias/bancoamazonia.pdf](http://www.fca.unesp.br/arquivo_de_noticias/bancoamazonia.pdf). Acesso em fevereiro de 2007.
- DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 211-217, Feb. 1994.
- FERNANDO, J. A. **Estudos anatômicos e ultra-estruturais da organogênese *in vitro* de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.** 2005. 106 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- HALL, R. M.; DREW, R. A.; HIGGINS, C. M.; DIETZGEN, R. G. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 48, n. 5, p. 673-680, 2000.
- KANTHARAJAH, A. S.; DODD, W. A. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (purple passionfruit). **Annals of Botany**, Oxford, v. 65, n. 3, p. 337-339, Mar. 1990.
- LEDO, A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K. Explantes de cupuaçuzeiro submetidos a diferentes condições de cultura *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 604-607, dez. 2002.
- LOMBARDI, S. P. **Estudos anatômicos e fisiológicos da organogênese *in vitro* em *Passiflora cincinnata* Mast.** 2003. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 2004.
- TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V.; WILLADINO, L.; GUERRA M. P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. **Meio e condições de incubação para cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 2001. 20 p. (EMBRAPA-CNPq. Circular Técnica).

## PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; calogênese; suplemento mineral; cultura de tecidos.



## Indução de calos organogênicos em diferentes explantes de *Passiflora gibertii*.

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [carolinatala@hotmail.com](mailto:carolinatala@hotmail.com); <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

Algumas espécies não cultivadas de maracujazeiro, como *Passiflora gibertii* N. E. Brown, têm acenado com contribuições importantes ao melhoramento genético, por apresentarem resistência a doenças (Barbosa, 1995; Kuroda, 1981; Oliveira, 1987) e a pragas, maior longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos de interesse para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas ainda inexploradas.

Existem vários estudos sobre a regeneração *in vitro* de diversas espécies de *Passiflora*, mas a variação da resposta entre genótipos contribui para que o assunto não seja extinto. Essa variação ocorre, principalmente, em espécies silvestres de maracujazeiro, nas quais a variabilidade genética existente é muito grande. Os diferentes explantes utilizados também contribuem para a variabilidade da resposta de regeneração *in vitro*.

O objetivo deste trabalho foi estudar a indução de calos organogênicos em diferentes explantes de *Passiflora gibertii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados explantes foliares e nodais obtidos de plântulas germinadas *in vitro* de *Passiflora gibertii* N. E. Brown - acesso CPAC MJ-22-01, da coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados (CPAC) Planaltina, DF.

As folhas foram excisadas em diâmetros de  $\approx 1 \text{ cm}^2$  e os explantes nodais com  $\approx 1 \text{ cm}$  de comprimento. Segmentos foliares (face abaxial em contato com o meio de cultura) e nodais foram inoculados em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44  $\mu\text{M}$ ), água de coco (5%) e sacarose (3%). O pH do meio foi ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  e este solidificado com ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a  $120^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos.

Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas, por 60 dias.

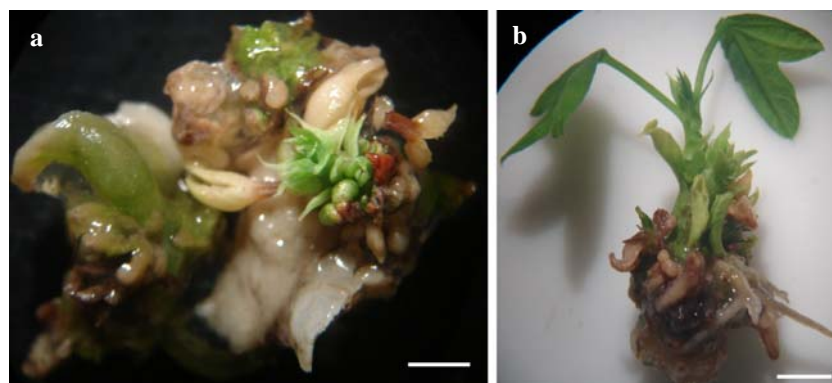
Os calos formados foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44  $\mu\text{M}$ ), sacarose (3%), água de coco (5%) e solidificado com ágar (0,5%). Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas, por quatro meses (122 dias).

Após esse período, calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM (Monteiro et al., 2000a), específico para maracujazeiro, suplementado com sacarose (3%) e  $\text{GA}_3$  (2,89  $\mu\text{M}$ ), e mantidos em sala de crescimento nas mesmas condições citadas acima, por 30 dias. O pH dos meios foi ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  e os meios solidificados com

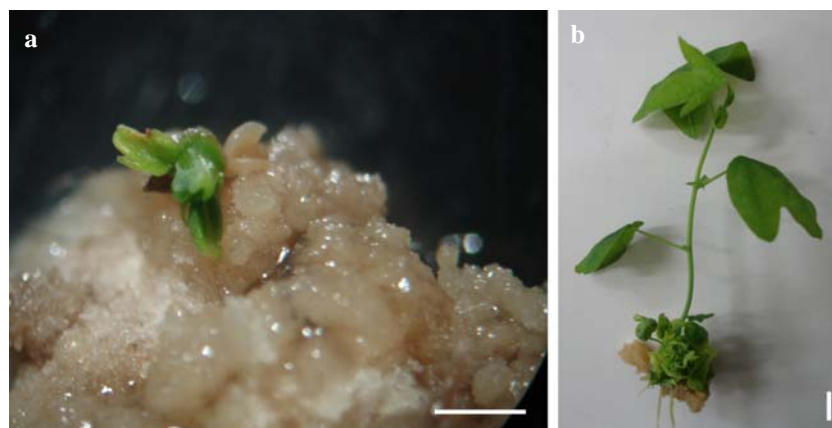
ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a 120°C, durante 20 minutos. Avaliou-se a presença de calos organogênicos nos diferentes explantes de *Passiflora gibertii*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após quatro meses em sala de crescimento, alguns explantes foliares (Figura 1a) e nodais (Figura 2a) com calos de *Passiflora gibertii* formaram gemas na superfície, em meio MS que, ao serem transferidos para meio de cultura MSM, suplementado com sacarose (3%) e GA<sub>3</sub> (2,89 µM), desenvolveram propágulos (Figuras 1b e 2b).



**FIGURA 1.** (a) Calos organogênicos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* cultivados em meio MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44 µM) e água de coco (5%), aos 122 dias de cultivo. (b) Propágulo obtido de calo organogênico cultivado em meio MSM suplementado com GA<sub>3</sub> (2,89 µM), aos 30 dias de cultivo. Barra = 3 mm (a, b). UFLA, Lavras, MG, 2007.



**FIGURA 2.** (a) Calos organogênicos obtidos de segmentos nodais de *P. gibertii* cultivados em meio MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44 µM) e água de coco (5%), aos 122 dias de cultivo. (b) Propágulo obtido de calo organogênico cultivado em meio MSM suplementado com GA<sub>3</sub> (2,89 µM), aos 30 dias de cultivo. Barra = 3 mm (a), 5 mm (b). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Dornelas & Vieira (1994) avaliaram o efeito de diferentes fontes de explante e concentrações de fitorreguladores na cultura *in vitro* de *P. edulis* f. *flavicarpa*. Estes autores observaram que a formação de gemas ocorreu sem a fase de calo e que o meio MS,

acrescido de 8,88  $\mu\text{M}$  de BA e 10% de água de coco, favoreceu a organogênese nos explantes cotiledonares e hipocotiledonares. Já para os explantes foliares, foram necessárias concentrações de 4,44  $\mu\text{M}$  de BA e 10% de água de coco para promover a organogênese. Similarmente, Hall et al. (2000) verificaram a influência do explante, bem como da adição de água de coco na organogênese do híbrido australiano *P. edulis* x *P. edulis* f. *flavicarpa*. Os autores enfatizaram que os explantes cotiledonares foram mais eficientes que os explantes foliares no processo de regeneração e que a adição de 10% de água de coco ao meio MS contendo 8,88  $\mu\text{M}$  de BA promoveu um rápido desenvolvimento de gemas.

Na organogênese *in vitro*, em diferentes acessos de maracujazeiro azedo, cultivados em meio MS suplementado com 8,88  $\mu\text{M}$  de BAP, o segmento nodal apresentou melhor desempenho no cultivo, com produção de maior número de brotações; os piores resultados foram obtidos com o fragmento foliar, que não produziu brotações. Foram observados, em cortes histológicos, numerosos meristemóides e gemas sem conexão vascular com os tecidos originais (Ribeiro et al., 2006).

Monteiro et al. (2000b), de forma semelhante ao presente trabalho, observaram a formação de gemas a partir de calos de *Passiflora suberosa*, após o cultivo em meio de cultura MSM acrescido de 2,89  $\mu\text{M}$  de  $\text{GA}_3$ . Entretanto, apesar da produção de calo em 100% dos explantes foliares, a formação de gemas a partir dessa região proliferada foi considerada baixa.

O processo organogênico *in vitro* em *P. edulis* f. *flavicarpa* população FB-100 caracterizou-se pela formação de primórdios foliares, gemas e protuberâncias em ambas as extremidades dos explantes hipocotiledonares e na superfície abaxial dos explantes foliares, principalmente na região da nervura central. A formação de calo foi verificada somente nos explantes hipocotiledonares (Fernando et al., 2005).

## CONCLUSÃO

Calos obtidos a partir de segmentos nodal e foliar de *P. gibertii*, após transferidos para meio MSM contendo  $\text{GA}_3$ , formam gemas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, L. S. **Resistência de *Passiflora* spp. a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e detecção do patógeno em sementes.** 1995. 66 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 211-217, Feb. 1994.

FERNANDO, J. A.; VIEIRA, M. L. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Organogênese *in vitro* a partir de explantes foliares e hipocotiledonares de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PINTO, A. C. Q.; SOUSA, E. S. (Ed.). **Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro: trabalhos apresentados**, 4. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 192-195.

HALL, R. M.; DREW, R. A.; HIGGINS, C. M.; DIETZGEN, R. G. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 48, n. 5, p. 673-680, 2000.

KURODA, N. **Avaliação do comportamento quanto a resistência de espécies e progênies de maracujazeiro a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*.** Jaboticabal: FCAV-UNESP. 1981. 45 p.

MONTEIRO, A. C. B. de A.; HIGASHI, E. N.; GONÇALVES, A. N.; RODRIGUEZ, A. P. M. A novel approach for the definition of the inorganic medium component for micropropagation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). **In Vitro Cellular and Development Biology Plant**, Largo, v. 36, n. 5, p. 527-531, Nov./Dec. 2000a.

MONTEIRO, A. C. B. A.; NAKAZAWA, G. T.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUEZ, A. P. M. Regeneração *in vitro* de *Passiflora suberosa* a partir de discos foliares. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 571-573, jul./set. 2000b.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: L. Summa, 1987. p. 218-246.

RIBEIRO, L. M.; PEIXOTO, J. R.; ANDRADE, S. R. M.; SIMÕES, M. O. M.; FONSECA, R. S.; VIEIRA, L. M. Organogênese *in vitro* em acessos de maracujazeiro-azedo infectados pelo vírus do endurecimento dos frutos. In: Frutas do Brasil: Saúde para o mundo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio-RJ. **Palestras e Resumos...** SBF/UENF/UFRuralRJ, 2006. p. 172.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; maracujá, organogênese indireta, material vegetal, regulador de crescimento.

## Meios de cultura e BAP na micropropagação de amoreira-preta cv. Brazos.

Rodrigues, Joyce Dória<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Assis, Franscinely Aparecida<sup>1</sup>; Ângelo Albérico Alvarenga<sup>4</sup>; Vilela, Ximena Maira de Souza<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG, e-mail: [joycerodrigues01@yahoo.com.br](mailto:joycerodrigues01@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [fvilla2003@libero.it](mailto:fvilla2003@libero.it); <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Campus Universitário, Lavras, MG, CEP.: 37200-000, fone: (35) 38291323; e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>4</sup>Pesquisador da EPAMIG, Lavras, MG, CEP.: 37200-000, fone: (35) 38291304; e-mail: [angelo@epamig.br](mailto:angelo@epamig.br).

### INTRODUÇÃO

Os meios nutritivos utilizados para a cultura de tecidos de plantas fornecem substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). No entanto, as exigências nutricionais para o crescimento ótimo de um tecido *in vitro* podem variar com a espécie e, mesmo na própria planta, explantes de diferentes partes podem requerer meios distintos para o crescimento satisfatório.

Um dos objetivos da micropropagação é a maximização da multiplicação de gemas. Muita atenção para sua obtenção tem sido dada com a manipulação de substâncias de crescimento no meio de cultura. O crescimento e a morfogênese *in vitro* são fatores regulados pela interação e balanço dos reguladores existentes no meio, principalmente auxinas e citocininas (George & Sherrington, 1984). Dentre os reguladores de crescimento comumente usados no cultivo *in vitro* da amoreira-preta estão a 6-benzilaminopurina (BAP) e o ácido indol butírico (AIB).

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) e de meios de cultura na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cv. Brazos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de amoreira-preta (*Rubus* spp.), cultivar Brazos, com cerca de 2 cm, foram excisados de brotações preestabelecidas *in vitro*. Os explantes foram inoculados em tubo de ensaio contendo 15 mL de quatro diferentes meios de cultura (MS, 1962; Knudson, 1946; Roubelakis, 1991), combinados com cinco concentrações de BAP (0, 0,5, 1,0, 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). O pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem e solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. Posteriormente foram transferidos para sala de crescimento a 27±1°C, irradiância de 35 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> fornecida por tubos fluorescentes de 20W, marca OSRAM®, luz do dia especial e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 60 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições constituídas de três explantes. As variáveis analisadas foram número de folhas, número de brotos, comprimento da parte aérea, comprimento das raízes, número de raízes, peso da matéria fresca da parte aérea e de calos. Os resultados foram submetidos à análise de variância (SISVAR, Ferreira, 2000), sendo utilizado regressão polinomial para concentrações de BAP e teste de médias para tipos de meio de cultivo.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos neste trabalho revelaram que houve interação significativa para todos os parâmetros estudados, exceto para número de brotos e peso fresco da parte aérea (Tabela 1). Nas Tabelas 2 e 3 observa-se interação para os diferentes meios de cultivo empregados na micropropagação de amoreira-preta cv. Brazos.

Tabela 1. Análise de variância para número de folhas (NF), número de brotos (NB), peso fresco da parte aérea (PFPA), peso fresco de calos (PFCA), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e comprimento de raízes (CR) de amoreira-preta cv. Brazos micropropagada. UFLA, Lavras, MG, 2007.

	GL	QM						
		NF	NB	PFPA	PFCA	CPA	NR	CR
BAP	4	2,839*	11,187*	0,011 <sup>n.s.</sup>	0,053*	1,161*	0,149 <sup>n.s.</sup>	0,063 <sup>n.s.</sup>
MC	2	1,331*	16,432*	0,468*	0,106*	5,015*	1,849*	2,251*
BAP x MC	8	0,891*	0,456 <sup>n.s.</sup>	0,004 <sup>n.s.</sup>	0,022*	4,328*	0,229*	0,300*
Resíduo	42	0,251	0,347	0,005	0,002*	0,422	0,066	0,066
CV (%)		13,58	22,63	7,97	5,12	23,37	18,51	18,43

\* Significativo a 5% de probabilidade, n.s. = não-significativo, MC = meios de cultura.

Tabela 2. Diferentes meios de cultura e concentrações de BAP na micropropagação de amoreira-preta cv. Brazos. UFLA, Lavras, MG, 2007.

		BAP (mg L <sup>-1</sup> )				
Tipos de meio de cultura		0	0,5	1,0	2,0	4,0
NF	Knudson	---	---	---	4,63 a	2,48 b
	MS	---	---	---	4,37 a	3,93 a
	Roubelakis	---	---	---	3,69 b	3,39 a
PFCA	Knudson	---	0,76 b	0,80 b	0,77 c	0,71 c
	MS	---	0,78 b	0,85 b	0,97 a	1,03 a
	Roubelakis	---	0,88 a	0,94 a	0,88 b	0,93 b
CPA	Knudson	4,38 a	1,74 b	1,28 b	2,00 b	1,71 b
	MS	1,88 c	3,67 a	3,79 a	3,29 a	3,31 a
	Roubelakis	3,31 b	3,38 a	3,38 a	2,50 b	2,11 b
NR	Knudson	---	0,93 b	0,71 b	0,97 b	0,93 b
	MS	---	1,68 a	1,52 a	1,66 a	1,55 a
	Roubelakis	---	1,66 a	1,52 a	1,47 a	1,56 a
CR	Knudson	---	0,92 b	0,71 b	0,97 b	0,84 b
	MS	---	1,60 a	1,62 a	1,58 a	1,57 a
	Roubelakis	---	1,80 a	1,78 a	1,65 a	1,45 a

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Diferentes meios de cultura para número de brotos (NB) e peso fresco da parte aérea (PFPA) de amoreira-preta cv. Brazos micropropagado. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tipos de meios de cultura	NB	PFPA
Knudson	1,93 b	0,76 b
MS	3,63 a	1,04 a
Roubelakis	2,24 b	0,79 b

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si a 5% de probabilidade.

O número de folhas foi estimulado pelo tipo de meios de cultura e 2 e 4 mg L<sup>-1</sup> de BAP, observando a interação entre esses dois fatores. Maior número de folhas foi observado em meio Knudson e MS adicionados de 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP e MS e Roubelakis adicionados de 4 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Verificou-se menor número de folhas em meio Knudson adicionado de 4 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira (1994), trabalhando com crisântemo cultivado em meio MS, que observou queda no número com aumento das concentrações de BAP. Isto pode ser atribuído ao fato do BAP estimular a

formação de maior número de brotos, porém, de tamanho reduzido, apresentando menor número de segmentos nodais e folhas.

Através da análise de variância observou-se que, o número de brotos foi estimulado pelo tipo de meio de cultivo e pela concentração de BAP separadamente (Tabelas 1 e 3). Em meio de cultivo MS verificou-se maior número de brotos. Em trabalho com café 'Catuaí', objetivando determinar o efeito de diferentes proporções dos sais inorgânicos e componentes orgânicos do meio MS, Forni & Pasqual (1996) observaram que o aumento dos níveis de MS proporcionou maior número de brotos, de folhas e peso da matéria seca. Com incremento nas concentrações de BAP, foi observado aumento de forma quadrática no número de brotos de amoreira-preta até 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Após essa concentração, verificou-se um decréscimo nesses valores, devido ao fato da citocinina em altas concentrações ser tóxica às culturas *in vitro*.

Maior comprimento da parte aérea foi observada nos diversos meios de cultivo associados as cinco concentrações do regulador estudado. Verificou-se maior alongamento dos brotos em meio Knudson, na ausência de BAP (Tabela 1). Menores alturas de brotações de amoreira-preta foram observadas em meio Knudson adicionado de altas concentrações da citocinina. Estes resultados concordam com a maioria dos autores que afirmam que este regulador de crescimento não é responsável pelo alongamento de brotos (Paiva et al., 1997). Leshem et al. (1988) mencionam ser tóxico o uso da citocinina em níveis elevados, caracterizando-se principalmente, pelo enrosetamento e falta de alongamento das culturas.

Verificou-se interação significativa para número e comprimento das raízes em relação ao meio de cultivo e as concentrações de 0,5; 1; 2 e 4 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Melhores resultados para essas variáveis foram observados com a utilização do meio Roubelakis e MS associados a 0,5-2 mg L<sup>-1</sup> de BAP. O meio MS vem sendo utilizado com sucesso na micropropagação de amoreira-preta (Erig et al., 2002)). O crescimento de plantas, órgãos, tecidos e células *in vitro* depende do desenvolvimento de meios de cultura otimizados para a perfeita interação de componentes essenciais como fontes de carbono e nutrientes minerais. Os fatores que limitam esse crescimento *in vitro* são similares àqueles que limitam *in vivo* (Amaral, 2003).

O peso da matéria fresca da parte aérea foi estimulado pela utilização do meio de cultura. Melhores resultados foram obtidos em meio MS. Com um aumento significativo do peso da matéria fresca no decorrer do tempo, o potencial osmótico do meio foi maior. Conseqüentemente, as plantas nesse meio conseguiram absorver mais água para os seus tecidos e, portanto, tiveram maior peso da matéria fresca.

O peso fresco de calos na base dos explantes de amoreira-preta foi influenciado pelos tipos de meio empregados e concentrações da citocinina. Maior peso de calos foi observado em meio MS associado a 2-4 mg L<sup>-1</sup> de BAP e em meio Roubelakis associado a 0,5-1 mg L<sup>-1</sup>. A formação de calos não é desejada na micropropagação da amoreira-preta. Provavelmente os meios descritos acima não sejam adequados para multiplicação *in vitro* de explantes da cultivar 'Brazos'. Em contrapartida, no meio de cultura Knudson houve menor formação de calos na base dos explantes e conseqüentemente, melhor desempenho dessas brotações e melhor enraizamento *in vitro*.

## CONCLUSÕES

A utilização de 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP promove maior número de brotos de amoreira-preta cultivar Brazos. Melhores resultados para peso fresco da parte aérea foram observados em meio MS. Maior número e comprimento de raízes foram verificados nos meios MS e Roubelakis adicionados de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Menor formação de calos ocorreu em meio de cultura Knudson.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



AMARAL, A.F.C. Comportamento *in vitro* de explantes de matrizes de cenoura (*Daucus carota* L.) tratadas com variáveis níveis de potássio. Piracicaba, 2003. 103p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. **Meios nutritivos**. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, p.87-132, 1998.

ERIG, A.C.; DE ROSSI, A.; FORTES, G.R.L. 6-Benzilaminopurina e ácido indolbutírico na multiplicação *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus idaeus* L.) cv. Tupy. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.5, p.765-770, 2002.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. p.255-258, 2000.

FORNI, R.C.; PASQUAL, M. Influência da citocinina BAP e concentrações dos componentes do meio "MS" na micropropagação do café 'Catuaí'. **Ciência e Agrotecnologia**, v.20, n.4, p.468-474, 1996.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 709p, 1984.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, v.14, p.214-217, 1946.

LESHEM, B.; WERKER, E.; SHALEV, D.P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, n.3, p.271-276, 1988.

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

OLIVEIRA, P.D. **Propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzlev.) cv. Orange Reagen**. Lavras: ESAL, 1994, 116p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

PAIVA, P.D.O de; ROVERI JOSÉ, S.C.B.; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito do ácido naftaleno acético e GA<sub>3</sub> na micropropagação de violeta. **Revista Ceres**, Viçosa, v.44, n.254, p.392-398, 1997.

ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A.; ZIVANOTIC, S. B. A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.12, p.1551-1553, 1991.



## **Efeito da concentração de BAP (Benzylaminopurina) no fator de multiplicação *in vitro* do mangarito (*Xanthosoma mafaffa* Schott).**

Rezende, Fabrício Luiz de<sup>1</sup>; Silva Neto, Sebastião Pedro da<sup>2</sup>; Borges, Luiz Flávio Vieira<sup>2</sup>; Rabelo, André Luiz<sup>2</sup>; Freitas, Álvaro Domingos de Lima<sup>1</sup>; Souza, Daniel Luiz Moura de<sup>1</sup>; Santos, Julianderson<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Graduando em Agronomia (UEG Unidade Universitária de Ipameri), Rod. GO 330 km 241 Anel Viário, CEP: 75780-000, Ipameri Goiás, Telefax 0\*\*64-3491-1556, e-mail: [agroperefabricao@yahoo.com.br](mailto:agroperefabricao@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Pesquisador da Campo Biotecnologia Vegetal Ltda. Rod. LMG 658 km 55, Ala Biotec, zona rural, Paracatu – MG, CEP: 38600-000, telefax: 038-3504-4000, e-mail: [sebastiao@campo.com.br](mailto:sebastiao@campo.com.br).

O gênero *Xanthosoma*, da família Araceae, inclui muitas espécies, entre elas o mangarito (*Xanthosoma mafaffa* Schott) (Hoehne, 1937) é uma das mais difundidas e cultivadas. Há carência de informações técnicas sobre o cultivo, sendo que a melhoria da qualidade do material propagativo pode ser alcançada pelo uso da micropropagação para a produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária. Este trabalho teve como objetivo a determinação do efeito da concentração da citocinina BAP (Benzylaminopurina) na multiplicação *in vitro* de explantes de mangarito. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com 7 tratamentos (0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 mg/l de BAP) e 10 repetições. A parcela experimental consistiu de um tubo de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura MS (Murashige e Skoog), adicionado de 30 g/l de sacarose e 6 g/l de agar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C e 1 kgf/cm<sup>2</sup>. O explante consistiu de gemas *in vitro* obtidas em estabelecimento anterior, e foram incubados a 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz por 8 horas de escuro. As avaliações foram feitas de 15 em 15 dias, com estabilização aos 60 dias. Foram avaliados os caracteres fator de multiplicação, altura e quantidade de raízes. Os fatores de multiplicação obtidos foram: 1,30; 3,2; 4,2; 5,2; 5,4; 7,0 e 4,7 respectivamente aos tratamentos 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 mg/l de BAP. Sugerindo que para produção de material propagativo em larga escala a concentração mais eficaz seria de 5 mg/l, nas condições testadas neste trabalho.

**PALAVRAS CHAVES:** *Xanthosoma mafaffa*, cultivo *in vitro*; BAP (Benzylaminopurina); micropropagação; fator de multiplicação; meio de cultura.

## **Influência do $GA_3$ na germinação *ex vitro* e *in vitro* de mamoneira ( *Ricinus communis* L. ).**

Luana Silva Cerqueira<sup>1</sup> ; Maria Josirene Souza Moreira<sup>1</sup>; Darcilúcia Oliveira do Carmo<sup>1</sup>; Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa<sup>2</sup>; Fábio Ribeiro Garcia<sup>3</sup>; Adilson Nunes da Silva<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do programa de pós-graduação em Ciências Agrárias (Fitotecnia), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: mjmoreira28@yahoo.com.br, lua\_cerqueira@yahoo.com.br, darciluciac@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: mapcosta@ufba.br; <sup>3</sup>Graduando PIBIC de Agronomia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: fabiogarcia.5@hotmail.com, nunesadil@yahoo.com.br

Visto a baixa taxa de germinação de alguns cultivares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) e a elevada contaminação de sementes em campo, este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas saudáveis dessa cultura. Para tanto foram utilizadas sementes da Cultivar Mirante 10, originária de Itaberaba-Ba, submetidas à pré-embebição por 6 horas em  $GA_3$  (Ácido giberélico) nas concentrações de 0,0; 0,5. 2,0 e 3,0,  $mgL^{-1}$ . Inicialmente parte das sementes foram submetidas a um processo mecânico a fim de remover o tegumento. As sementes foram distribuídas em bandejas com areia lavada e autoclavada. Para o experimento *in vitro* foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 2% por 20 minutos e incubadas em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 30g de sacarose e  $GA_3$  (ácido giberélico) nas concentrações de 0,0; 0,5. 2,0 e 3,0  $mg.L^{-1}$ . Foi realizada análise de variância considerando o delineamento fatorial 2 x 4. Os resultados evidenciaram que a pré-embebição das sementes por 6 horas em  $GA_3$  influenciou de forma positiva a germinação *ex vitro* e crescimento inicial e sementes com tegumento não obtiveram respostas positivas no que se refere ao cultivo *in vitro*, das plantas de *Ricinus communis* L..

Palavras chaves: cultivo *in vitro*, mamona, ácido giberélico

## Uso de antibióticos no estabelecimento de *Heliconia rostrata* a partir de gema apical.

Everton Hilo de Souza<sup>1</sup>; Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Agrônoma (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/n, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br.

### INTRODUÇÃO

As helicônias são plantas de origem neotropical, com ampla distribuição na América Central e na América do Sul. A taxa de diversidade atual sugere como o centro de origem do gênero o noroeste da América do Sul (Castro, 1995).

Originalmente incluído na família Musaceae, o gênero *Heliconia* passou a constituir a família Heliconiaceae, em função de suas características morfológicas. A acentuada procura por helicônias, principalmente por parte do mercado externo, tem colocado o cultivo desse gênero em posição de destaque, dentre as atividades desenvolvidas no ramo da floricultura, sendo muito apreciada em função da grande durabilidade, beleza e exuberância das inflorescências (Castro, 1995).

A propagação comercial de helicônias é feita normalmente por via vegetativa, através de mudas extraídas de plantas já desenvolvidas, pela divisão do rizoma, o que tem facilitado à disseminação de certos patógenos. A necessidade de uma grande quantidade de mudas para plantio tem estimulado a multiplicação de clones promissores pelo uso de técnicas de propagação *in vitro* (Rodrigues, 2006).

A grande limitação da micropropagação de *Heliconia* sp. é a alta incidência de contaminação bacteriana endofítica necessitando, assim, a adição de antibióticos ao meio de cultura. É consenso, que mesmo com antibióticos, dificilmente se consegue eliminar completamente as bactérias. Os antibióticos mais usados em cultura e tecidos vegetais possuem ação bacteriostática e não propriamente bactericida, mantendo o desenvolvimento do explante e reduzindo a multiplicação das bactérias dentro dos tecidos, de maneira que seja possível isolar explantes livres de contaminação. Para isso, o antibiótico deve manter sua capacidade bacteriostática no meio nutritivo, não ser tóxico as células vegetais e ter o mais amplo espectro possível de ação.

Segundo Torres et al. (1998), alguns antibióticos usados na cultura de tecidos como ampicilina, rifamicina, sulfato de gentamicina e cefotaxima são os mais eficientes meios de controle de bactérias e menos fitotóxicos aos explantes.

Este trabalho tem por objetivo avaliar os diferentes antibióticos no controle de bactérias endógenas no estabelecimento *in vitro* de *Heliconia rostrata* através de gema apical e lateral.

### MATERIAL E MÉTODOS

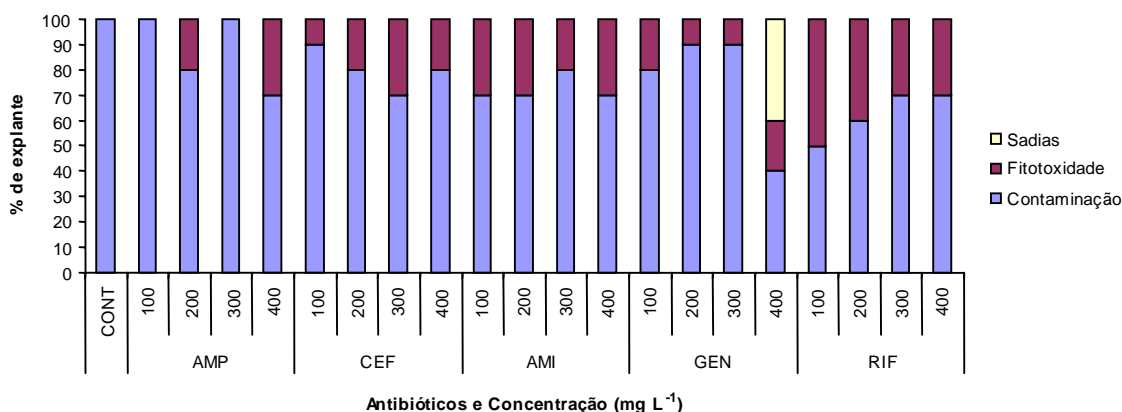
Os materiais vegetativos de *Heliconia rostrata* foram obtidos na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Os explantes foram reduzidos ao tamanho de 10 cm de altura por 4 cm de espessura, e imediatamente lavados em água corrente, com detergente neutro. Em câmara de fluxo laminar, os explantes passaram por um processo de redução de tamanho para 2 cm de altura por 2 cm de espessura, sendo desinfestados com etanol a 70% por 5 minutos, solução de hipoclorito de sódio a 70% e 30 gotas/L de Tween 20 durante 30 minutos e enxaguados três vezes com água destilada estéril. Após a desinfestação, os explantes foram reduzidos a 1,0 cm de altura por 0,5 cm de espessura e transferidos para o meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962), suplementado com 3% de sacarose, 0,8% de ágar e pH ajustado para 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos.

Para o controle de bactérias endógenas foram utilizados cinco antibióticos: ampicilina, ceftriaxona sódica, sulfato de amicacina, sulfato de gentamicina e rifamicina, com quatro diferentes concentrações (100, 200, 300 e 400 mg L<sup>-1</sup>), os antibióticos foram esterilizados a frio e adicionados ao meio de cultura antes da sua solidificação. A introdução dos explantes no meio ocorreu num período inferior de 24h após a adição dos antibióticos. Após a inoculação os explantes foram mantidos, no escuro por trinta dias com temperatura de 27°C ± 1°C.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 10 repetições. Cada repetição foi representada por um explante. As avaliações da eficácia dos produtos foram feitas durante 30 dias. As leituras para verificar a ocorrência de explantes contaminados foram realizadas a cada cinco dias, o que possibilitou determinar a percentagem e velocidade de contaminação. Na interpretação dos resultados, utilizaram-se a regressão, para determinar a velocidade de infestação, e o teste de Tukey para verificar significância entre os produtos e as concentrações usadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

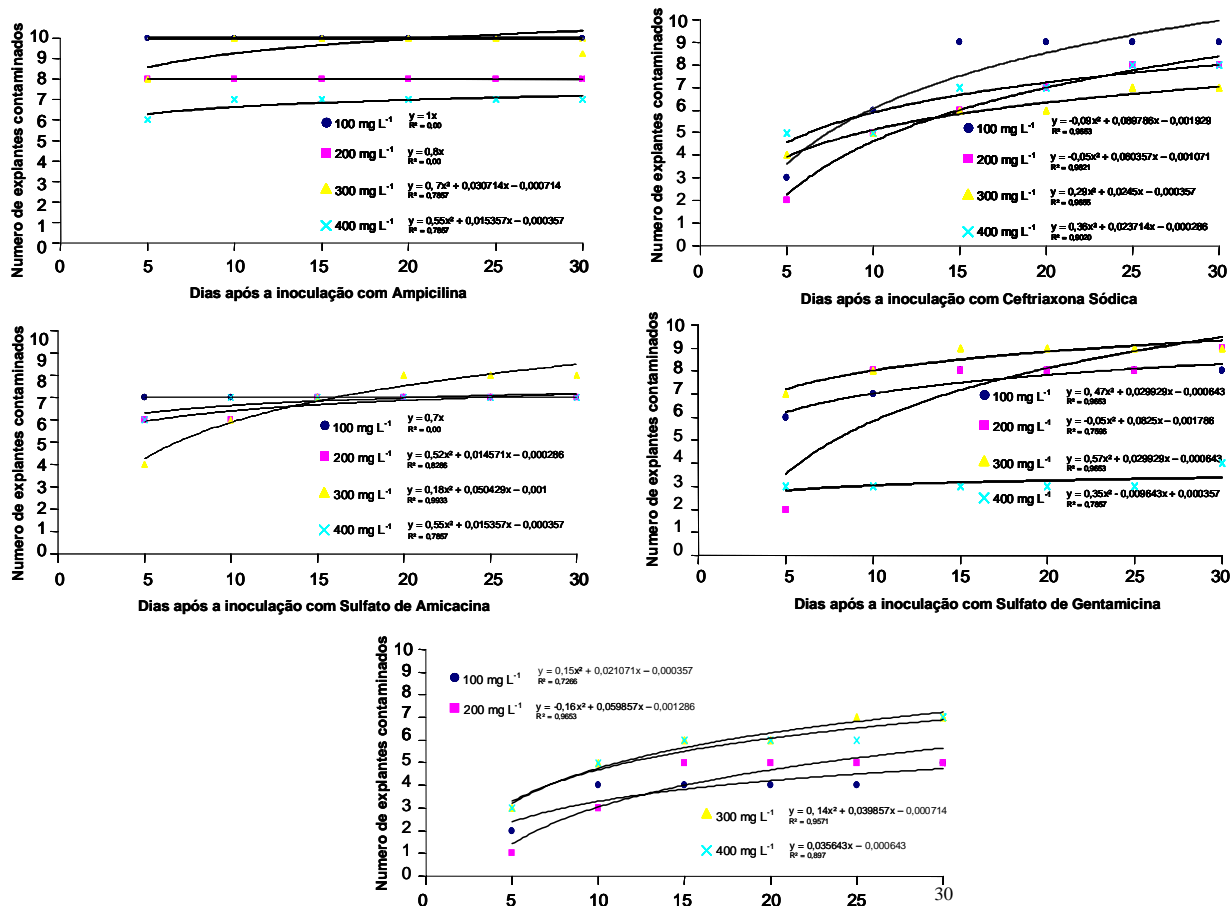
Os dados sobre o controle de bactérias em explantes de helicônia mediante o uso de antibióticos podem ser observados na Figura 1. A menor taxa de contaminação bacteriana foi obtida no tratamento com 400 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de gentamicina (40%). A fitotoxidade deste antibiótico foi relativamente baixa (20%), o que permitiu a obtenção de plantas sem contaminação (40%).



**Figura 1.** Percentagem de contaminação, fitotoxidade e plantas saudáveis nos diversos tipos de antibióticos e concentrações em explantes de *H. rostrata*. CONT – Controle; AMP - Ampicilina; CEF - Ceftriaxona Sódica; AMI - Sulfato de Amicacina; GEN - Sulfato de Gentamicina e RIF – Rifamicina.

Embora o antibiótico rifamicina, na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>, tenha promovido um controle no desenvolvimento de bactérias endofíticas em 50% dos explantes, indicando uma ação eficaz sobre as bactérias, os explantes não sobreviveram devido a fitotoxidade do antibiótico na concentração utilizada (Figura 1). Vale salientar que a contaminação ocorreu nos cinco primeiros dias após a inoculação dos explantes, com um acréscimo lento e progressivo até o vigésimo dia.

As maiores velocidades de contaminação foram obtidas nos tratamentos com sulfato de amicacina e ampicilina (Figura 2), que logo após a introdução dos explantes, apresentaram contaminações e permaneceram com as mesmas taxas. Para os antibióticos cefotriaxona sódica, sulfato de gentamicina e rifamicina, observou-se que a velocidade de infestação foi mais rápida até o 15º dia, ocorrendo, a partir deste período, uma estabilidade da infestação patogênica até o final das observações (Figuras 2).



**Figura 2.** Curvas de avaliação da evolução de contaminantes sob efeito de antibióticos em diversas concentrações, no estabelecimento *in vitro* de explantes de *H. rostrata*.

A utilização do antibiótico rifamicina nas concentrações de 100, 200, 300 e 400 mg L<sup>-1</sup>, inibiu o desenvolvimento das bactérias até o 20º dia da inoculação dos explantes, mais causou fitotoxicidade aos explantes. A partir deste período houve um incremento na velocidade de infestação, estabilizando-se até o final das observações (Figura 2).

O uso de antibióticos representa uma das grandes limitações da propagação devido ao elevado custo de aquisição (Cassel, 1987; Leifert et al., 1991 e Hamill et al., 1993) e nem sempre é eficiente, além de elevar o custo de produção de mudas *in vitro*.

Neste estudo, a maioria dos antibióticos testados não eliminou a contaminação dos explantes, sendo, portanto, necessário ajustar um meio de controle eficiente e menos fitotóxico aos explantes.

## CONCLUSÃO

Os antibióticos testados não foram eficientes no controle de contaminação por bactérias endógenas, exceto o sulfato de gentamicina em alta concentração, além de exercerem um efeito fitotóxico sobre o explante inibindo o seu desenvolvimento ou oxidando todos os explantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASSEL, A. C. Bacterial and bacteria-like contaminants of plant tissue cultures. **Acta Horticultural**. v.212, p.25-28, 1987.

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 43p.

HAMILL, S. D.; SHARROCK, S. L.; SMITH, M. K. Comparasion of descontamination methods used in initiation of banana Tissue cultures from field-collected suckers. **Plant Cell, tissue and Organ Culture**. v. 33, p.343-346, 1993.

LEIFERT, C.; RITCHIE, J. Y.; WAITS, W. M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.7, p.452- 69, 1991.

MURASHIGE, T. & SKOOG., F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantum**. v.15, p.473-97, 1962.

RODRIGUES, P. H. V. *In vitro* establishment of *Heliconia rauliniana* (Heliconiaceae). **Scientia Agrícola**. v.62, n.1. p.69-71, 2005.

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

## PALAVRAS-CHAVE

*Heliconia rostrata*, antibiótico, contaminação endofítica, fitotoxicidade.

## Teores de clorofila de plantas de *Annona glabra* L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos.

Moreira, Cleilton Vasconcelos<sup>1</sup>; Soares, Ângela Maria<sup>2</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Barbosa, João Paulo Rodrigues Alves Delfino<sup>4</sup>; Deccetti, Soami Fernanda Caio<sup>5</sup>; Paiva, Renato<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [kleilton@yahoo.com.br](mailto:kleilton@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora do Depto. Biologia (UFLA); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia, bolsista de Iniciação Científica FAPEMIG; <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA); <sup>5</sup>Doutora Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA); <sup>6</sup>Professor Associado do Depto. Biologia (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A *Annona glabra* L., natural da América do Sul (Le et al., 1998), produz frutos comestíveis e é também utilizada, segundo como porta-enxerto para a Atemoleira, Graviroleira e Cherimoleira, algumas das frutas mais consumidas do gênero *Annona* (Manica et al., 2003). A espécie possui capacidade de adaptação a diversos ambientes, com habilidade de sobrevivência em extremos de temperatura (Sentellas et al. 1996; Mai, 1995) e habitat inundado (Pérez et al., 1993; Croat, 1978), indicando capacidade de adaptação estrutural e funcional ao ambiente.

A maior ou menor plasticidade adaptativa das espécies às diferentes condições de radiação depende do ajuste de seu aparelho fotossintético, de modo a garantir maior eficiência na conversão da energia radiante em carboidratos e, conseqüentemente, maior crescimento. O conteúdo de pigmentos cloroplásticos, especialmente as clorofilas, está relacionado a esse comportamento funcional da folhas em otimizar a assimilação de CO<sub>2</sub> à disponibilidade de radiação, água e nutrientes.

Desse modo, o objetivo desse trabalho foi o de utilizar o conteúdo de clorofilas como uma variável fisiológica indicativa da adaptação do aparelho fotossintético e de fotoautotrofia de plantas de *A. glabra* micropropagadas sob diferentes ambientes de cultivo.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas localizado no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizados como explantes primários para a micropropagação (fase de multiplicação) segmentos nodais contendo apenas uma gema e tamanho aproximado de 1,5 a 2,0 cm, derivados de plantas matrizes mantidas sob condições controladas em sala de crescimento (Figura1A).

Para a desinfestação, os explantes foram mantidos em água corrente por 40 minutos e lavados com detergente. A seguir, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70% (v/v) por um minuto, em associação com a imersão em hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 15 minutos e lavados por três vezes em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, os explantes foram mantidos em solução de ácido ascórbico (200 mg L<sup>-1</sup>) por 20 minutos. Os segmentos nodais foram inoculados em frascos contendo 30 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 20,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,0 antes da autoclavagem. Após a inoculação, os frascos foram colocados no escuro por um período de 15 dias. Após esse período, os frascos foram levados aos seus ambientes de cultivo, onde permaneceram por mais 30 dias, totalizando então 45 dias de cultivo *in vitro* antes das análises teores de clorofila.

Foram utilizados dois sistemas de vedação dos frascos e dois ambientes de cultivo: frascos vedados com tampas plásticas transparentes e selamento com parafilme, que restringem as trocas de gases entre o recipiente e a atmosfera externa caracterizando sistema convencional (Figura1B) e tampas plásticas modificadas, contendo um par de



orifícios (10 mm de diâmetro) cobertos por dois filtros de membranas permeáveis a gases (Milliseal, Millipore, Tokyo) (Figura1C) com poros de 0,5  $\mu\text{m}$ , que aumentam a ventilação no recipiente de cultivo. Os frascos com as brotações foram mantidos em dois ambientes: sala de crescimento (Figura1D) sob condições de alta irradiância ( $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e em casa de vegetação (Figura1E), sob iluminação e temperatura natural. Na casa de vegetação, os frascos foram mantidos sobre uma bancada aberta, a cerca de 1,5 m de altura, e sob tela sombrite que permite uma interceptação de 70% da luz solar incidente.

O ambiente da casa de vegetação foi caracterizado por um piranômetro acoplado a um datalogger (LI – 1400 – LI-COR, Lincoln. Neb.) e por um termohigrógrafo durante uma semana em março e uma semana em maio de 2006. Os valores médios observados das características avaliadas foram: temperatura máxima de  $36^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$ , temperatura mínima de  $26^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar máxima de  $59\% + 8\%$  e mínima de  $35\% + 8\%$ . A radiação global média, na altura do recipiente de cultivo, foi de  $520 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

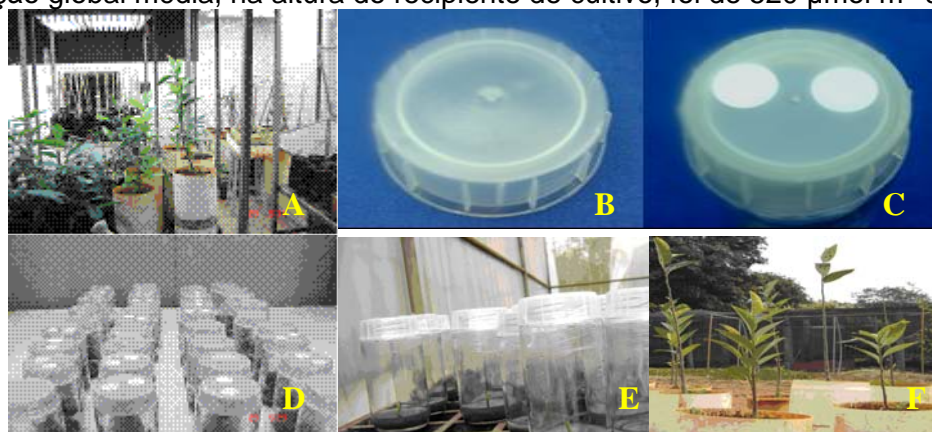


Figura 1. Plantas matrizes em sala de crescimento (A), tampa plástica convencional (B), tampa plástica com Millipore com ventilação natural (C), frascos em sala de crescimento (D) e frascos em casa de vegetação (E), plantas a pleno sol (F).

Para quantificar os teores de clorofila, foram utilizadas três amostras de 100 mg de tecido foliar fresco para cada ambiente de cultivo. As concentrações de clorofila a, b e total foram determinadas de acordo com o método de Arnon (1949), após a obtenção dos dados de absorvância com base nas leituras em espectrofotômetro a 663 e 645 nm.

Os experimentos, instalados em delineamento inteiramente casualizado, foram constituídos por seis tratamentos de cultivo *in vitro*, num fatorial de dois (ambientes: sala de crescimento e casa de vegetação) x dois (sistemas de vedação do recipiente de cultivo), sendo que as plantas a pleno sol e as plantas matrizes foram tratamentos adicionais, tidos como testemunhas.

O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias pelo Teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os maiores teores de clorofila ao final da fase de multiplicação foram observados sob ventilação natural (Millipore) e em casa de vegetação. De maneira geral, o conteúdo de clorofila das brotações sob essas condições ambientais é semelhante aos valores observados para as plantas *in vivo* (Tabela 1). A síntese de clorofilas parece ser prejudicada em condições *in vitro*, já em as plantas *in vivo* apresentam maiores teores de clorofilas a, b e total, especialmente as plantas matrizes, mantidas em sala de crescimento, que apresentou valores significativamente maiores ( $P < 0,05$ ) que as plantas a pleno sol. O maior teor de clorofila total nas folhas sob baixa irradiância constitui uma resposta freqüentemente observada, visto que sob essa condição, a planta investe mais assimilados no complexo



proteína-clorofila do aparelho fotossintético para otimizar a captação de luz (Amâncio et al., 1999).

Tabela 1. Teores médios de clorofila a, b, total (a + b) e razão de clorofila a/b em folhas de *Annona glabra* L. desenvolvidas durante o período de multiplicação sob sistema convencional de vedação do recipiente de cultivo ou ventilação natural e em sala de crescimento ou em casa de vegetação.

Ambiente de Cultivo	Teor de clorofila (mg g <sup>-1</sup> MF)*			
	Clorofila a	Clorofila b	Total (a + b)	a/b
Sala de Crescimento				
Convencional	0,72 a	0,38 a	1,10 a	1,90 a
Natural	0,60 a	0,31 a	0,91 a	2,12 a
Casa de Vegetação				
Convencional	0,74 a	0,52 a	1,26 a	1,90 a
Natural	1,73 b	1,04 b	2,77 b	1,66 a
<i>In vivo</i>				
Matriz	2,79 c	1,32 b	4,11 c	2,13 a
Pleno Sol	1,73 b	1,03 b	2,77 b	1,71 a

\*Os valores representam a média de três repetições. As médias dentro da coluna seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os resultados observados para os teores de clorofila estão de acordo com observações feitas para o potencial fotossintético de plantas de *A. glabra* cultivadas nas mesmas condições ambientais, confirmando a maior funcionalidade do aparelho fotossintetizante de plantas cultivadas em ambiente caracterizado por elevada irradiância e ventilação natural, o que pode evidenciar o teor de clorofila como uma variável fisiológica indicadora de plasticidade fisiológica.

A relação clorofila a/b não apresentou diferença entre os tratamentos, apesar da diferença observada nos teores de clorofila a, b e total. Similar padrão de mudanças na clorofila total e a ausência de um efeito claro das condições de cultivo sobre a razão clorofila a/b, também foram reportados em plantas de *Gardenia jasminoides* (Serret et al., 1996) e *Chrysanthemum* (Cristea et al., 1999) que se desenvolvem *in vitro*, respectivamente, sob diferentes regimes de luz e diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>.

## CONCLUSÃO

O cultivo *in vitro* sob ventilação natural (Millipore) em casa de vegetação, proporciona uma maior biossíntese de clorofila a, b e total.

A elevada irradiância associada ao sistema de ventilação natural (Millipore), condiciona a uma maior funcionalidade do aparelho fotossintetizante.

## REFEÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMÂNCIO, S.; REBORDÃO, J.P.; CHAVES, M.M. Improvement of acclimatization of micropropagated grapevine: photosynthetic competence and carbon allocation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.58, p.31-37, 1999.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v.24, p.1-15, 1949.

CRISTEA, V.; VECCHIA, F.D.; ROCCA, N.L. Developmental and photosynthetic characteristics of a photoautotrophic Chrysanthemum culture. *Photosynthetica*, Prague, v.37, n.1, p.53-59, 1999.

CROAT, T. **Flora of Barro Colorado Island**. Stanford University Press, Stanford, CA, 943p., 1978.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.3 – **Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

LE, H.T.; HANCOCK, J.F.; TRINH, T.T. The fruit crops of Vietnam: introduced species and their native relatives. **Fruit Varieties Journal**. v.52, n.3, p. 158-168, 1998.

MAI, T.T. Fruit trees in Vietnam. **Chronica Horticulturae**, v.35. n.3, p. 8-9, 1995.

MANICA, I.; ICUMA, I.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JUNIOR, M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre, Cinco continentes Editora, 2003. 596p.

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

PÉREZ, N.D.; FONSECA, R.M.; PÉREZ, L.L.; HERNANDEZ, F.L. Vegetacion de las lagunas costeras y zonas inundables del Estado de Guerrero, Mexico. **Brenesia**, v. 39-40, p. 7-28, 1993.

SENTELHAS, P.C.; PÍZA, C.T.J.; SIGRISTI, J.M.M.; KAVATI, R.; PARODI, M.T. Temperatura letal de diferentes plantas frutíferas tropicais. **Bragantia**, Campinas, v.55, n.2, p. 231-235, 1996.

SERRET, M.D.; TRILLAS, M.I.; MATAS, J.; ARAUS, J.L. The effect of different closure types, light and sucrose concentrations on Carbon isotope composition and growth of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation and subsequent acclimation ex vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.47, n.3, p. 217-230, 1997.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Annona glabra* L., resposta fotossintética, ambientes de cultivo, vedação.

#### AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG<sup>1</sup> pela concessão de bolsa de Iniciação Científica e ao financiamento de pesquisa.

---

<sup>1</sup> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.

## Indução da Embriogênese Somática em *Butia eriospatha* Mart. ex Drude (Arecaceae).

Alan David Claumann<sup>1</sup>; Maria Carolina Andrade Nascimento<sup>2</sup>; Douglas André Steinmacher<sup>3</sup>; Miguel Pedro Guerra<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Eng. Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, CEP: 88034-001, Florianópolis-SC, e-mail: [aclaumann@yahoo.com.br](mailto:aclaumann@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, e-mail [marcarolan@hotmail.com](mailto:marcarolan@hotmail.com); <sup>3</sup> Eng. Agrônomo, Mestre em Recursos Genéticos Vegetais, e-mail [golden\\_fass@hotmail.com](mailto:golden_fass@hotmail.com); <sup>4</sup> Prof. Titular, Depto. Fitotecnia /CCA/UFSC, e-mail: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

O Butiá-da-Serra (*B. eriospatha*) é uma palmeira nativa da América do Sul, ocorrendo no Brasil nos planaltos de altitude dos Estados de SC, PR e RS. É uma planta monóica, monoestipada, produtora de drupas comestíveis e apresentando aptidão para o paisagismo e produção de frutos. Essa espécie se encontra ameaçada de extinção, e uma das causas é a baixa taxa de regeneração natural, devido principalmente ao consumo das plântulas pelo pastoreio bovino e ovino. Outra causa é a retirada de plantas adultas do habitat natural para utilização no paisagismo. A germinação das sementes o crescimento das plântulas é lento, o que dificulta a obtenção de mudas. No presente trabalho avaliou-se o efeito de diferentes fontes e concentrações de auxina como uma das fases para o estabelecimento de um protocolo regenerativo *in vitro* baseado na embriogênese somática. Embriões zigóticos foram isolados de frutos maduros e inoculados em tubos de ensaio (15 x 150 mm) contendo 15 ml de meio de cultura MS suplementado com (Phytigel<sup>®</sup> 2,5 mg.L<sup>-1</sup>), Glutamina (500 mg.L<sup>-1</sup>), carvão ativado (1,5 g.L<sup>-1</sup>) e vitaminas de Morel. Foram testadas três fontes de auxina (Dicamba, Picloram e 2,4-D) nas concentrações 0, 150, 300, 450 e 600 µM. Após dois meses em cultura o Dicamba (150 µM) resultou na indução de calo primário amarelo e compacto na região do mesocótilo do embrião zigótico, a partir do qual surgiram estruturas globulares de coloração branco-translúcidas, caracterizando um calo embriogênico. Nos tratamentos 300 µM de Picloram e Dicamba observou-se apenas o surgimento de calo primário na região do mesocótilo do embrião zigótico e oxidação da maior parte dos explantes. Nos demais tratamentos contendo Dicamba e Picloram observou-se a oxidação dos explantes. O 2,4-D também resultou na oxidação dos explantes e, em alguns casos, foi observada a germinação anormal do embrião zigótico. No tratamento controle foi observado apenas a germinação dos embriões zigóticos.

### PALAVRAS-CHAVES

*Butia eriospatha*, embriogênese somática, conservação, micropropagação.

## **Estabelecimento *in vitro* de *Heliconia rostrata* a partir de embriões zigóticos.**

Everton Hilo de Souza<sup>1</sup>; Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>; Taliane Leila Soares<sup>3</sup>; Fernanda Duarte Vidigal Souza<sup>2</sup>; Sebastião Oliveira e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br, sslva@cnpmf.embrapa.br. <sup>3</sup> Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75)3621-8072, e-mail: talialeila@gmail.com.

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil possui grande contingente de espécies nativas de flores e plantas ornamentais tropicais, dentre elas se destacam as helicônias. As helicônias apresentam brácteas de colorido brilhante, muito decorativas e utilizadas, principalmente, em projetos de jardinagem e como flores de corte. As hastes possuem boa resistência ao transporte e longa durabilidade após a colheita, características que têm contribuído para o aumento de sua comercialização nos mercados nacional e internacional (Castro, 1995).

A propagação comercial de helicônias é feita normalmente por via vegetativa, através de mudas extraídas de plantas já desenvolvidas, pela divisão do rizoma, o que tem facilitado à disseminação de certos patógenos. A necessidade de uma grande quantidade de mudas para plantio e a baixa taxa de germinação das sementes (Criley, 1995) têm estimulado a multiplicação de clones promissores pelo uso de técnicas de propagação *in vitro* (Rodrigues, 2005).

Técnicas de cultura de tecidos podem aumentar a oferta de mudas de diferentes espécies, através da regeneração de plantas com bom estado fitossanitário. Em helicônia, a técnica de cultivo *in vitro* de embriões zigóticos, visando posterior indução de brotações, tem sido utilizada para superar a freqüente contaminação endofítica proveniente do cultivo de gemas.

O objetivo deste trabalho foi adequar um protocolo para o estabelecimento de *Heliconia rostrata* através de embriões zigóticos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados embriões zigóticos oriundos de sementes maduras de *H. rostrata*. As sementes foram desinfestadas em câmara de fluxo laminar mediante imersão em etanol a 70% por 2 minutos, e em solução de hipoclorito de sódio a 50% e 10 gotas L<sup>-1</sup> de Tween 20 durante 15 minutos. Posteriormente, foram lavadas três vezes com água destilada estéril. O pericarpo foi removido e os embriões (no estágio cotiledonar) foram excisados por uma leve pressão nas sementes e em seguida inoculados em placas de Petri contendo 40 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962) solidificado com 0,8% de ágar e pH ajustado para 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos, nos seguintes tratamentos: T01 - 6% sacarose; T02 - 6% sacarose + 0,25% carvão ativado; T03 - 6% sacarose + 1mg L<sup>-1</sup> BAP; T04 - 6% sacarose + 1mg L<sup>-1</sup> BAP + 0,25% carvão ativado; T05 - 6% sacarose + 1mg L<sup>-1</sup> BAP + 1GA<sub>3</sub>; T06 - 6% sacarose + 1mg L<sup>-1</sup> BAP + 1mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 0,25% carvão ativado.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e sessenta repetições cada. Os embriões foram mantidos no escuro por quarenta e cinco dias com temperatura de 27°C ± 1°C. Após a inoculação, avaliou-se a percentagem de contaminação e de germinação, e o comprimento das plântulas aos 15 e 45 dias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos sete dias de cultivo *in vitro* verificou-se o início da germinação e a emissão de radículas. Não houve contaminação em nenhum dos tratamentos. Conforme apresentado na Tabela 1, o tratamento T02, constituído de MS + 6% sacarose + 0,25% carvão ativado, foi o que promoveu a maior percentagem de germinação (100%) e comprimento médio de plântulas aos 45 dias (23,6 cm).

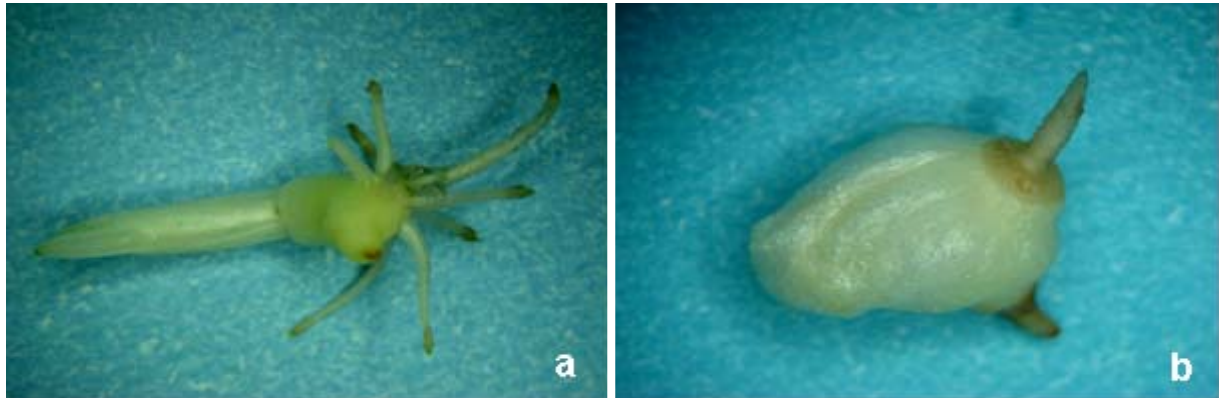
**Tabela 1.** Percentagem de germinação, intumescimento e formação de calo, comprimento da plântula (mm) aos 15 dias e 45 dias dos embriões zigóticos de *H. rostrata* nos diferentes meios de cultura.

Tratamento	Germ. (%)	Intum. (%)	Calo (%)	Comp. da plântula (mm)	
				15 dias	45 dias
T01 - MS+6% sacarose	68	30	2	5,50	11,00
T02 - MS+6% sacarose+0,25% carvão ativado	100	0	0	7,35	23,60
T03 - MS+6% sacarose +1BAP	60	35	5	5,18	5,80
T04 - MS+6% sacarose +1BAP+0,25% carvão ativado	90	10	0	6,55	13,30
T05 - MS+6% sacarose +1BAP+1GA <sub>3</sub>	20	70	10	4,81	5,23
T06 - MS+6% sacarose +1BAP+1GA <sub>3</sub> +0,25% c. ativado	78	22	0	5,80	12,10

A sacarose geralmente é o carboidrato mais utilizado como fonte de energia (Hu & Ferreira, 1998), uma vez que os explantes cultivados *in vitro* são heterotróficos e dependem de uma fonte de energia e de carbono. Rojas et al. (1996), afirmam que a resposta do desenvolvimento do explante é dependente de uma fonte de carbono. Torres et al. (2005) utilizaram diferentes concentrações de sacarose (0, 1, 2, 3, 6, 9 e 12%) e observaram que no meio com 6% sacarose a percentagem de plântulas formadas foi mais baixa que nas concentrações de 1% a 3%, e que maiores concentrações inibiram a germinação. Foi observado, no presente estudo, que 6% de sacarose também promoveu baixa germinação, entretanto, com a adição de 0,25% de carvão ativado ao meio 100% dos embriões germinaram (Figura 1a).

O carvão ativado age promovendo adsorção dos exudatos liberados pelo explante, os quais provocam a oxidação, além de possuir as propriedades de adsorver e reduzir a disponibilidade de auxina exógena no meio de cultura e induzir o processo de rizogênese (George, 1996). De Guzman & Manuel (1975), observaram que a adição de carvão ativado no meio de cultura para o desenvolvimento de embriões zigóticos do coqueiro mutante "Makapuno" resultou em um maior desenvolvimento das raízes.

Os embriões submetidos aos tratamentos sem carvão ativado apresentaram intumescimento, com desenvolvimento de raízes (Figura 1b) ou formação de calo não embriogênico, e não germinaram até aos 45 dias após a inoculação em meio de cultura.



**Figura 1.** Desenvolvimento de embriões zigóticos de *H. rostrata* submetidos aos tratamentos: a) T02 (MS + 6% sacarose + 0,25% carvão ativado) e b) T05 (MS + 6% sacarose + 1mg L<sup>-1</sup> BAP + 1mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>). Note que na presença de carvão ativado houve a formação de raízes e parte aérea (a).

Dependendo da espécie, o crescimento dos embriões imaturos pode ser estimulado pelo uso de alguns reguladores de crescimento, como a giberelina (Hu & Ferreira, 1998). No presente estudo, foi testado o efeito da giberelina na germinação de embriões maduros de *H. rostrata*, na presença e ausência de carvão ativado, mas este regulador não promoveu a germinação, além disso, em combinação com BAP, estimulou a formação de calo. Estes dados concordam com os de Ulisses et al. (2005) que, trabalhando com embriões zigóticos de *H. bihai*, observaram que a adição de ácido giberélico ao meio de cultura não promoveu a conversão do embrião imaturo em plântula.

## CONCLUSÃO

A adição de carvão ativado ao meio básico foi essencial para a germinação dos embriões maduros de *H. rostrata*.

Os reguladores de crescimento BAP e GA<sub>3</sub> não tiveram um efeito positivo na germinação dos embriões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 43p.

CRILEY, R. A. Propagation of Zingiberaceae and Heliconiaceae. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v.1, n.1, p.14-21, 1995.

DE GUZMAN, E. V.; MANUEL, G. C. **Improved root growth in embryo and seedlings cultures of coconut “Makapuno” by the incorporation of charcoal in the growth medium**. Rome: FAO, 1975. 6p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part.2 –In Practice**. 2.ed. Editon: Exegetics, 1996. 1361p.

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**. v.1, Brasília: Embrapa/ SPI, p.371-393, 1998.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantum**. v. 15, p. 473-97, 1962.

RODRIGUES, P. H. V. *In vitro* establishment of *Heliconia rauliniana* (Heliconiaceae). **Scientia Agrícola**. v. 62, n.1, p.69-71, 2005.

ROJAS, R.; CUBA, M.; MARTINEZ, M.; GARCIA, D.; MONTES, S. Influencia de diferentes fuentes de carbono en la germinación y el desarrollo de embriones de *Coffea arabica* variedade 9722. **Cultivos Tropicales**. Havana, v.17, n.1, p.82-84, 1996.

TORRES, A.C.; DUVAL, F.G.; RIBEIRO, D.G.; BARROS, A.F.F.; ARAGÃO, F.A.D. Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.23, n.3, p.789-792, 2005.

ULISSES, C.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L.; ALBUQUERQUE, C. C. Propagation of *Heliconia bihai* (L.) cv. Lobster Claw Two by cultivation *in vitro* of zygotic embryos. In: **X Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal e XII Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal**, 2005, Recife. CD, 2005.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Heliconia rostrata*, cultivo de embriões, germinação, carvão ativado.

## Cultivo in vitro de segmentos nodais de variedades silvestres de abacaxi.

Santos, Marta Taluana<sup>1</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>2</sup>; Ledo, Carlos Alberto da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda da Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB), CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-2002, email: [taluanar@bol.com.br](mailto:taluanar@bol.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Fone (75) 3621-8061, email: [ledo@cnpmf.embrapa.br](mailto:ledo@cnpmf.embrapa.br).

### INTRODUÇÃO

A propagação do abacaxizeiro é feita vegetativamente, podendo-se utilizar diferentes partes da planta: coroa, filhote, rebentão ou filhote-rebentão. No entanto, as brotações laterais da planta são mais utilizadas, já que a coroa acompanha o fruto no momento da comercialização.

Nesse tipo de propagação, no entanto, destacam-se a baixa taxa de multiplicação, intenso uso de mão-de-obra e o fato de ser lento. Esta reduzida capacidade na formação de mudas se constitui num problema para os programas de melhoramento genético, em função da grande demanda de plantas para os ensaios regionais de desempenho e, posteriormente, para o lançamento da nova variedade no mercado.

Estratégias para superar a baixa produção de mudas do abacaxizeiro já foram desenvolvidas e dentre elas, destaca-se a micropropagação por gemas axilares, no âmbito da cultura de tecidos de plantas. A produção de mudas em laboratório por meio da micropropagação vem sendo uma estratégia realizada com êxito, ainda que ajustes sejam necessários a depender das variedades a serem multiplicadas (Barboza, 1999; Guerra et al., 1999).

Os explantes usualmente utilizados para a micropropagação do abacaxizeiro são gemas laterais ou axilares, oriundas preferencialmente, de mudas do tipo filhote ou então de filhote-rebentão (Guerra et al., 1999; Soneji et al., 2002). A fonte do explante é sem dúvida, um dos fatores mais importantes, tanto para a obtenção de boas taxas de multiplicação, assim como na manutenção da estabilidade genética, evitando a ocorrência de variação somaclonal (Smith et al., 2002). Segundo Kiss et al., (1995) um método para produção de mudas de abacaxi *in vitro*, usando segmentos nodais estiolados podem regenerar até 80.000 plantas no período de um ano através de uma planta primária, com a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração e dessa forma minimizar os riscos de variações genéticas.

As variedades silvestres de abacaxi não respondem com eficiência aos protocolos de multiplicação *in vitro*, desenvolvidos para as cultivares elite, necessitando de estratégias próprias para sua propagação. Dessa forma o uso de segmentos nodais estiolados pode ser uma alternativa para a obtenção de melhores resultados, com taxas de multiplicação melhores (Silveira et al.; 2006).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a formação de segmentos nodais por meio do estiolamento das plantas, para uso na multiplicação *in vitro* de diferentes genótipos da variedade botânica *Ananas comosus* var. *ananassoides*.



## MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecido da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, utilizando-se dez genótipos de *Ananas comosus* var. *ananassoides* oriundos do Banco ativo de Germoplasma de abacaxi.

Como explante de partida utilizou-se plantas regeneradas *in vitro* no meio MS (Murashige e Skoog 1962) a partir de gemas axilares (Silveira et al, 2006) que foram reduzidas a um tamanho de aproximadamente 1 cm, após serem retiradas todas as folhas, deixando-se apenas o talo, a fim de tornar homogêneo o material de partida. Para cada genótipo utilizou-se 14 plantas que foram colocadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS, acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,1 mg/L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg/L<sup>-1</sup> de BAP, solidificado com 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado em 5,8. Os explantes foram incubados em sala de crescimento no escuro com temperatura controlada (27 ± 1°C).

Realizou-se uma avaliação após 72 horas de inoculação para verificação de contaminações fúngicas e/ou bacterianas. Após 90 dias de incubação avaliou-se o comprimento da haste principal (cm) com uma régua graduada, número de hastes, número de segmentos nodais formados por haste e formação de agregados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas taxas de contaminação por fungos de 4,3% a 64,3% nos genótipos 203, 205, 206, 207 e 465, sendo que a maior incidência foi no genótipo 207. A contaminação fúngica se dá principalmente pelo manuseio inadequado dos explantes, ou por condições sanitárias do material de partida no campo, dificultando o procedimento de desinfestação. No caso desse trabalho, não foi realizado nenhum tipo de tratamento anti fúngico, o que pode ter contribuído para esse resultado. A contaminação por bactéria ocorreu nos acessos 205, 207 e 772, sendo que neste caso a maior incidência foi no genótipo 772 com uma taxa de 50% (Figura 1). Essa contaminação foi provavelmente, causada por bactérias endofíticas, de ocorrência muito comum em materiais silvestres. Alguns trabalhos já realizados indicam que a utilização de antibióticos no cultivo *in vitro*, é interessante para o controle de contaminações bacterianas endógenas, no entanto, seu uso pode causar sérios problemas já que podem vir a causar possível toxidez ao tecido vegetal. Por outro lado os genótipos 25, 232, 233 e 472 não apresentaram nenhum tipo de contaminação.

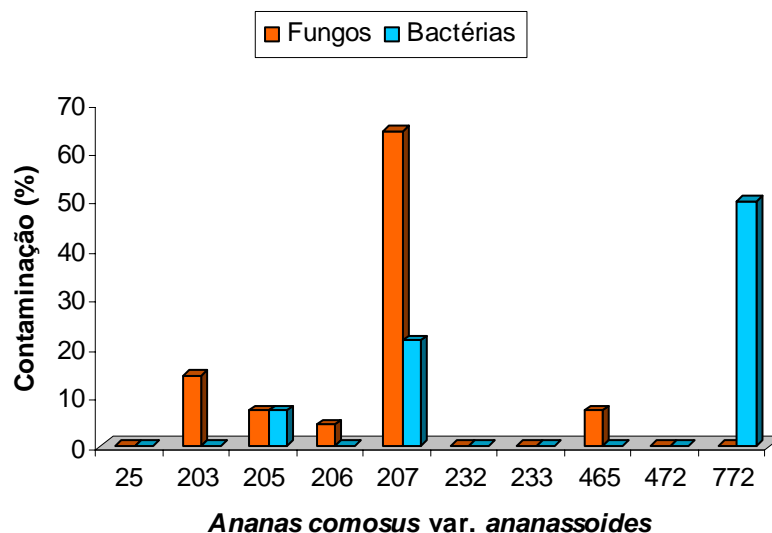


Figura 1. Frequência de plantas contaminadas por bactérias ou fungos de diferentes genótipos de *Ananas comosus* var. *ananassoides* após 72 horas de inoculação.

No que se refere às variáveis estudadas, na Tabela 1 pode-se observar que houve diferentes respostas para os dez genótipos utilizados em cada variável. O genótipo 203 foi o que obteve as maiores médias para o comprimento da haste principal (7,90), número de haste (2,14) e número de segmentos nodais formados por haste (6,50) evidenciando boa capacidade para a formação desse tipo de explante a ser usado posteriormente para a micropropagação. Nesse acesso também observou-se a formação de agregados, o que já pode ser uma possível indicação de bom potencial de multiplicação na fase posterior do trabalho. O genótipo 772 obteve também um elevado crescimento da haste principal, equiparando-se ao genótipo 203, sendo que o número de segmentos nodais formados foi a metade da obtida pelo acesso 203 mostrando que não existe uma correspondência direta, nesse caso, entre o tamanho da haste e a formação desses segmentos. Esse resultado vai de encontro ao que foi registrado por Souza et al (2007), onde os resultados obtidos com o estiolamento de um híbrido de *Ananas comosus* var. *comosus* mostraram uma relação direta das duas variáveis. Essas diferenças podem ser devido às diferenças genéticas existente entre as duas variedades botânicas. Os genótipos 472 e 233 foram os que obtiveram as médias mais baixas nas três variáveis analisadas. Esses resultados comprovam que há uma variação na resposta morfogenética dos diferentes genótipos, principalmente no que se refere ao comprimento da haste e à formação dos segmentos nodais, foco principal desse trabalho. Essa inferência só poderá ser confirmada após as avaliações da micropropagação desses genótipos.

Tabela 1. Média e desvio padrão do comprimento da haste principal (CHP), número de haste (NH) e número de segmentos nodais formados (SN) dos genótipos de *Ananas comosus* var. *ananassoides* após 90 dias de incubação em meio MS suplementado com 0,1 mg/L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg/L<sup>-1</sup> de BAP.

Acesso	CHP (cm)	NH	SN
25	4,28 ± 2,66 b	0,93 ± 0,27 b	3,00 ± 2,11 b
203	7,90 ± 4,25 a	2,14 ± 1,31 a	6,50 ± 3,90 a
205	6,15 ± 2,59 a	0,93 ± 0,27 b	5,00 ± 2,41 a
206	3,19 ± 2,86 b	0,57 ± 0,51 c	1,50 ± 1,74 c
207	5,37 ± 3,28 a	0,86 ± 0,36 b	4,50 ± 2,68 a
232	2,90 ± 3,17 b	0,64 ± 0,63 c	1,92 ± 1,97 c
233	1,47 ± 2,80 b	0,29 ± 0,47 c	0,50 ± 0,94 c
465	3,46 ± 3,57 b	0,57 ± 0,51 c	3,36 ± 3,60 b
472	1,71 ± 2,30 b	0,55 ± 0,52 c	1,00 ± 1,79 c
772	7,04 ± 3,30 a	0,85 ± 0,36 b	3,00 ± 2,04 b
CV (%)	71,90	74,52	81,22

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A Tabela 1 mostra as diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para as variáveis comprimento da haste principal, número de haste e número de segmentos nodais formados, demonstrando o comportamento variável entre os genótipos. Para a variável comprimento da haste principal (CHP) houve a formação de dois grupos, sendo que não houve diferença estatística para os acessos 203, 205, 207 e 772 presentes no grupo de maior CHP. Para a variável número de haste (NH) houve a formação de três grupos, com o acesso 203 presente no grupo de maior NH e estatisticamente superior aos demais acessos. Com relação a variável número de segmentos nodais (SN) houve a formação de 3 grupos, com os acessos 203, 205 e 207 pertencendo ao grupo de maiores valores de SN e estatisticamente superiores aos demais acessos.

## CONCLUSÃO

Os diferentes genótipos responderam de forma distinta ao meio de cultura e às condições estabelecidas no trabalho.

Entre os 10 genótipos avaliados de *Ananas comosus* var. *ananassoides* o 203, 205 e 207 foram os que melhores corresponderam ao tratamento para estiolamento e formação de segmentos nodais em meio de cultura MS suplementado com  $0,1 \text{ mg/L}^{-1}$  de ANA e  $0,2 \text{ mg/L}^{-1}$  de BAP.

## AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

## LITERATURA CITADA

BARBOZA, S.B.S.C. *Comparação de protocolos para micropropagação do abacaxizeiro [Ananas, comosus (L.) Merrill]*. Brasília: Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 76p. Dissertação de Mestrado. 1999.

GUERRA, M.P.; DAL VESCO, L.L.; PESCADOR, R.; SHUELTER, AR.; NODARI, R.O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para micropropagação do Abacaxizeiro. **Pesq. Agrop. Bras.** Brasília v.34, n.9. p.1557-1563, set. 1999.

KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 127-129, 1995.

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

SILVEIRA, D.G.; SOUZA, F.V.D.; CUNHA, E.; SOUZA, A.S.; Propagação In vitro de variedades de abacaxi silvestre de valor ornamental. IN: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura. Cabo Frio. Frutas do Brasil: saúde para o mundo. **Anais...** Cabo Frio. v.1, p.367. 2006.

SOUZA, F.V.D.; CANTO, A.M.E.; SOUZA, A. da S.; COSTA, M.A.P. LEDO, C.A.S. Efeito de reguladores de crescimento na obtenção In vitro de segmentos nodais de um novo híbrido de

---

<sup>1</sup> A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical e a CAPES, que contribuíram de forma direta e indiretamente para execução desse trabalho.

abacaxi. In: 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. São Lourenço. **Anais....** São Lourenço. 2007.

SONEJI, J.R.; RAO, P.S.; MHATRE, M. Somaclonal variation in micropropagated dormant axillary buds of pineapple (*Ananas comosus* L., Merr.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, v. 77, n.1, p. 28-32, Jan. 2002.

SMITH, M. K.; KO, H. L.; HAMILL, S. D.; SANEWSKI, G. M. Pineapple transformation: managing somaclonal variation. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.575, p.69-74, 2002

Palavras-chave: Produção de mudas, micropropagação, cultura de tecido, *Ananas comosus* var. *ananassoides*.

## Desenvolvimento e multiplicação *in vitro* de *Heliconia bihai*.

Everton Hilo de Souza<sup>1</sup>; Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>; Taliane Leila Soares<sup>3</sup>; Fernanda Duarte Vidigal Souza<sup>2</sup>; Sebastião Oliveira e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br. <sup>3</sup> Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75)3621-8072, e-mail: talialeila@gmail.com.

## INTRODUÇÃO

A floricultura tropical é uma atividade que está em ascensão no Brasil por destacar-se como um agronegócio gerador de renda, fixador de mão-de-obra no campo e adequado como cultura alternativa para pequenos produtores.

A cultura da helicônia é a que apresenta maior crescimento entre o cultivo de flores tropicais para o mercado nacional e internacional, pela beleza de suas inflorescências, de intenso colorido, algumas vezes com tonalidade contrastantes e com longo período pós-colheita.

Consideradas geófitas, as helicônias se propagam através de sementes ou vegetativamente por meio dos rizomas, que são órgãos subterrâneos, cuja principal função é servir de fonte de nutrientes e água para que haja o desenvolvimento da planta (Castro, 1995). As sementes são de germinação tardia e a propagação de mudas via rizoma pode favorecer a disseminação de doenças e pragas. A multiplicação *in vitro* permite a produção de mudas em escala comercial e livres de patógenos. Uma vez que a micropropagação de helicônia mediante o cultivo de meristemas tem sido dificultada pela ocorrência de contaminação por bactéria endofítica, uma alternativa seria o cultivo de embriões e indução de multiplicação.

O objetivo deste trabalho foi adequar um protocolo para obtenção de mudas de *Heliconia bihai* a partir do cultivo de embriões e indução de multiplicação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetativo foram utilizadas plântulas provenientes do cultivo *in vitro* de embriões zigóticos, e subcultivadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado com 3% de sacarose, 0,8% de ágar e pH ajustado para 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos. Foram estabelecidos os seguintes tratamentos: T01: MS; T02: MS + 0,25% carvão ativado; T03: MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP; T04: MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 0,25% carvão ativado. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 27°C ± 1°C, sob fotoperíodo de 12 horas. Foram realizados três subcultivos, a cada 45 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo utilizados quatro tratamentos com noventa repetições. A unidade experimental constou de quatro explante por frasco.

Aos 45, 90 e 135 dias após a introdução em meio de multiplicação foram avaliados os seguintes parâmetros: número de plantas saudias, contaminadas por bactéria e mortas, altura das plantas, número de folhas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

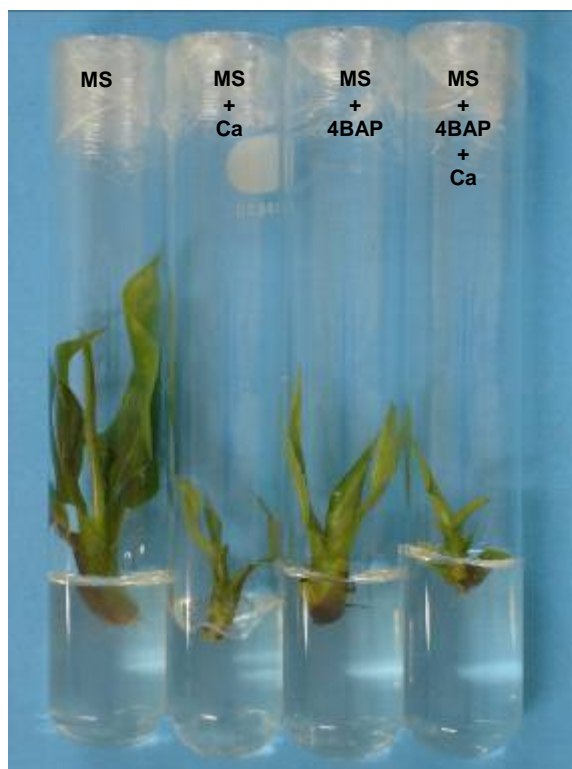
De modo geral, as plântulas cultivadas em meio MS sem regulador de crescimento foram mais vigorosas, com maior altura da planta e quantidade de folhas, em relação às cultivadas com meio MS + carvão ativado, indicando um efeito negativo da presença do carvão ativado nesta fase de cultivo. No meio com a adição de BAP, com e sem carvão ativado, resultados semelhantes foram observados, sendo que os valores foram bem menores aos obtidos na ausência do regulador de crescimento (Tabela 1, Figura 1).

Em relação ao número de gemas, aos 90 dias de cultivo, as plântulas em meio MS sem regulador de crescimento apresentou um número médio de gemas por explante de 1,08 plantas, e aos 135 dias uma média de 4,76 plantas, conforme Tabela 1. Por sua vez os tratamentos com carvão ativado e reguladores de crescimento causaram um efeito negativo, sob a proliferação de gemas, apresentando valores menores que o tratamento com apenas MS.

**Tabela 1.** Avaliação da altura da planta (mm), quantidade de raiz e de folha nos diversos subcultivos em função do BAP e carvão ativado, em *H. bihai*.

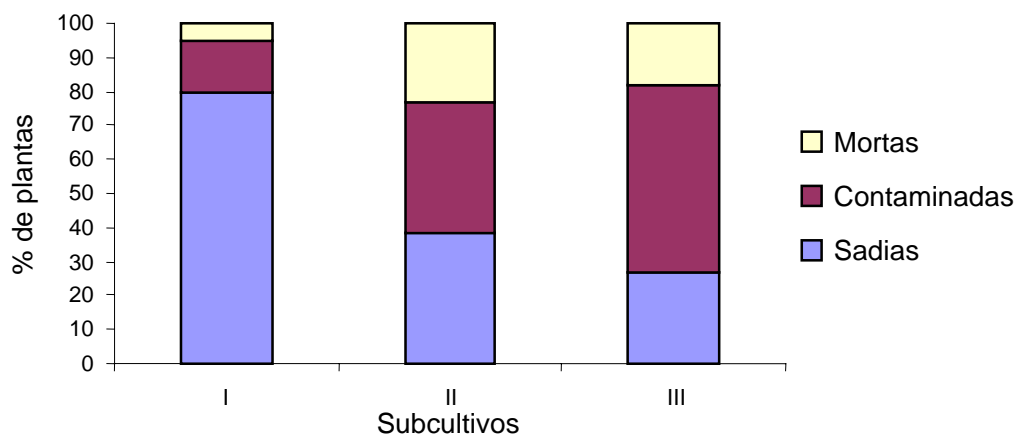
TRATAMENTO	I SUBCULTIVO			II SUBCULTIVO			III SUBCULTIVO	
	AP	NF	TM	AP	NF	TM	AP	NF
MS (Controle)	22,30	4,02	1,08	44,67	3,30	4,76	50,51	4,49
MS + CA	13,06	2,62	0,89	31,39	2,97	2,26	30,40	3,58
MS + 4BAP	16,17	3,26	1,18	36,52	3,09	3,48	39,36	3,87
MS + 4BAP + CA	12,05	2,64	1,04	32,17	3,08	2,46	18,29	3,57

TM - Taxa de Multiplicação; AP - Altura da Planta; NF - Número de Folhas



**Figura 1.** Multiplicação de *H. bihai* em diferentes meios de cultura (indicados no tubo).

A partir do segundo subcultivo o índice de contaminação e morte das plântulas cresceram para 37,83% e 23,48% respectivamente, progredindo para o terceiro subcultivo com 51,64% de contaminação e 17,09 % de mortalidade. Em face desse problema de contaminação tornou-se inviável a multiplicação desse material por mais que três subcultivos.



**Figura 2.** Percentagem de plantas saudáveis, contaminadas e mortas de *H. bihai*, nos diversos subcultivos.

Apesar do objetivo da fase de multiplicação seja produzir um maior número de plantas, no menor espaço de tempo, é necessário destacar que o importante é obter plantas bem desenvolvidas, com um número bom de raízes, folhas além de apresentar um mínimo de variação epigenética e ou genética.

## CONCLUSÃO

Para a fase de multiplicação o meio mais adequado foi o tratamento controle, sem regulador de crescimento e sem carvão ativado.

A crescente taxa de contaminação inviabilizou o processo de multiplicação por mais que três subcultivos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 43p.

MURASHIGE, T. & SKOOG., F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-97, 1962.

## PALAVRAS-CHAVE

*Heliconia bihai*, multiplicação, cultivo de embriões.

## Resposta fotossintética de plantas de *Annona glabra* L. submetidas a diferentes ambientes de cultivo e sistemas de vedação de frascos.

Barbosa, João Paulo Rodrigues Alves Delfino<sup>1</sup>; Soares, Ângela Maria<sup>2</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Moreira, Cleilton Vasconcelos<sup>4</sup>; Nogueira, Rairys Cravo<sup>5</sup>; Paiva, Renato<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [delfinojp@gamil.com](mailto:delfinojp@gamil.com); <sup>2</sup>Professora do Depto. Biologia-UFLA; <sup>3</sup>Bolsista de iniciação científica FAPEMIG; <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq; <sup>5</sup>Pós-doutoranda bolsista FAPEMIG; <sup>6</sup>Professor Associado do Depto. Biologia (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A *Annona glabra* L. é natural da América do Sul (Le et al., 1998). A espécie possui capacidade de adaptação a diversos ambientes, com habilidade de sobrevivência em extremos de temperatura (Sentellas et al. 1996; Mai, 1995) e habitat inundado (Pérez et al., 1993; Croat, 1978), indicando capacidade de adaptação estrutural e funcional ao ambiente.

Esta espécie produz frutos comestíveis e é também utilizada, segundo Manica et al. (2003), como porta-enxerto para a Atemoleira, Graviroleira e Cherimoleira, algumas das frutas mais consumidas do gênero *Annona*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas localizado no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Para determinar a resposta fotossintética das brotações, que cresceram sob os diferentes ambientes de cultivo, foram medidas taxas de evolução do O<sub>2</sub> utilizando o monitor de oxigênio com eletrodo tipo Clark (Hansatech, UK) sob saturação de CO<sub>2</sub> e temperatura ótima de 35°C. As avaliações foram realizadas utilizando-se DFFFA (Densidade de Fluxo de Fótons Fotossinteticamente ativa) saturante de 1400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , determinado por um quantômetro acoplado a um porômetro (modelo 1600M; LI-COR, Lincoln, Neb.). A fonte de luz utilizada foi uma lâmpada de halogênio. Em cada determinação, foram utilizadas folhas expandidas de duas brotações, com aspecto visual semelhante e procedeu-se a medida da área foliar por meio do software gráfico, utilizando-se imagem escaneadas das folhas. Para cada condição ambiental foram realizadas três determinações (repetições).

Os ambientes de cultivo foram: plantas *in vivo* a pleno sol (Figura1A) e em sala de crescimento nível de irradiância de 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura1B); brotações *in vitro* vedadas com tampas plásticas transparentes e selamento com parafilme, que restringem as trocas de gases entre o recipiente e a atmosfera externa caracterizando sistema convencional (Figura1E) e tampas plásticas modificadas, contendo um par de orifícios (10 mm de diâmetro) cobertos por dois filtros de membranas permeáveis a gases (Milliseal, Millipore, Tokyo) com poros de 0,5  $\mu\text{m}$ , que aumentam a ventilação no recipiente de cultivo (Figura1F). Os frascos com as brotações foram mantidos em dois ambientes: sala de crescimento (Figura1C) sob condições de alta irradiância (300  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) em temperatura de 25°C + 1°C e em casa de vegetação (Figura1D), sob iluminação e temperatura natural. Na casa de vegetação, os frascos foram mantidos sobre uma bancada aberta, a cerca de 1,5 m de altura, e sob tela sombrite que permite uma interceptação de 70% da luz solar incidente.

O ambiente da casa de vegetação foi caracterizado por um piranômetro acoplado a um datalogger (LI – 1400 – LI-COR, Lincoln, Neb.) e por um termohigrógrafo durante uma semana em março e uma semana em maio de 2006. Os valores médios observados das características avaliadas foram: temperatura máxima de 36°C + 1°C, temperatura mínima de 26°C + 2 °C, umidade relativa do ar máxima de 59% + 8% e mínima de 35% + 8%. A radiação global média, na altura do recipiente de cultivo, foi de 520  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



As plantas matrizes tinham três anos de idade e as brotações 45 dias de cultivo *in vitro* em frascos contendo 30 mL do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), solidificado com 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 20,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose e com um segmento nodal por frasco. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,0 antes da autoclavagem.

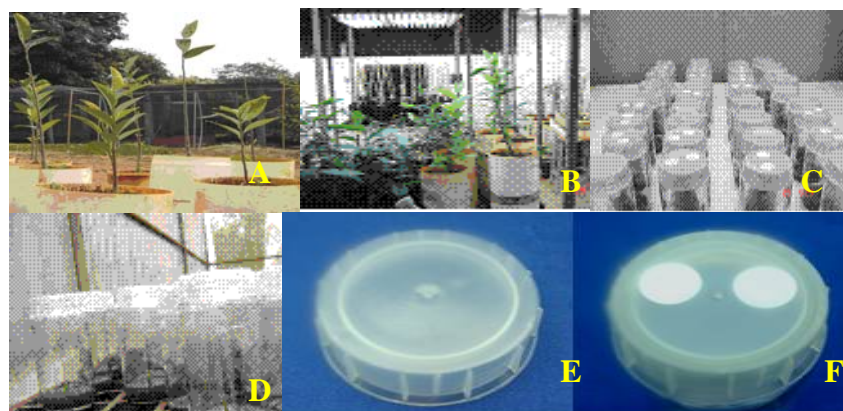


Figura1. Plantas matrizes *in vivo* a pleno sol (A), sala de crescimento (B); brotações *in vitro* em sala de crescimento\_SC (C), casa de vegetação\_CV (D); sistema de vedação convencional (E) e com membrana Millipore (F).

Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, foram constituídos por seis tratamentos de cultivo *in vitro*, num fatorial de dois (ambientes: sala de crescimento-SC e casa de vegetação-CV) x dois (sistemas de vedação do recipiente de cultivo – convencional e ventilação natural), sendo que as plantas a pleno sol e as plantas matrizes foram tratamentos adicionais, tidos como testemunhas.

O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para as análises de variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias pelo Teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos (Figura 2) mostraram que dentro do ambiente sala de crescimento, não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no potencial fotossintético quando são comparados os dois sistemas de vedação dos recipientes. No ambiente casa de vegetação, o sistema de vedação que permite a ventilação natural proporcionou maior capacidade fotossintética do que o sistema de vedação convencional. Dentre os dois ambientes avaliados, os maiores valores da taxa de evolução de oxigênio foram observados na casa de vegetação ( $P < 0,05$ ).

O potencial fotossintético das plantas *in vivo*, utilizadas como matrizes e mantidas em condição de sala de crescimento foi significativamente igual ao observado para as plantas cultivadas *in vitro* sob as mesmas condições ambientais ( $P < 0,05$ ). Já as plantas mantidas em ambiente natural, a pleno sol, apresentaram potencial fotossintético semelhante ao observado para as plantas *in vitro* cultivadas em casa de vegetação, utilizando sistema de vedação natural.

Esses resultados apontam que maiores níveis de irradiância durante o cultivo *in vitro* podem proporcionar uma maior capacidade fotossintética às brotações, especialmente, quando há uma maior disponibilidade de CO<sub>2</sub> no recipiente de cultivo. Em algumas espécies cultivadas *in vitro* tem sido demonstrado que o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> no interior do recipiente eleva a fotossíntese e torna as plantas mais adaptadas às condições de maior luminosidade (Kanечи et al., 1998). Por outro lado, menores níveis e irradiância mantêm o aparato fotossintético menos responsivo a maiores níveis de radiação, como pôde ser observado para as plantas cultivadas *in vitro* e *in vivo* em sala de crescimento.

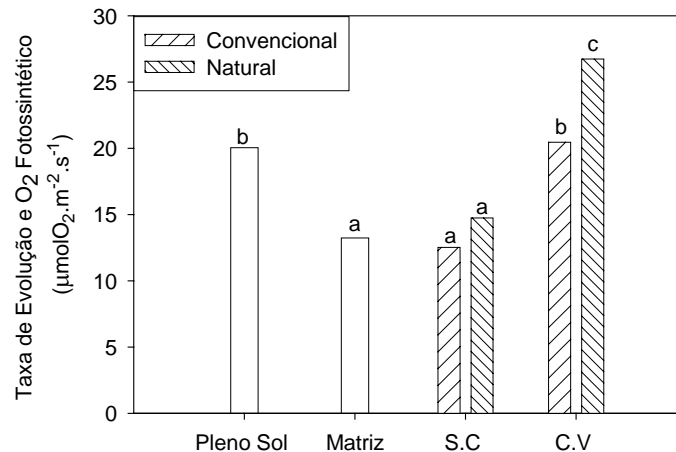


Figura 2. Taxas de evolução do O<sub>2</sub> fotossintético das brotações de *Annona glabra* L. após 45 dias de cultivo *in vitro* sob sistema de vedação convencional ou ventilação natural (Millipore) em sala de crescimento (S.C) e casa de vegetação (C.V), e de plantas *in vivo* em ambiente natural (Pleno sol) e casa de vegetação (Matriz).

A alta irradiância, sob sistema de vedação convencional, pode ter criado uma condição propícia para efeitos fotoinibitórios ou fotooxidativos. De acordo com Dimassi-Theriou & Bossabalidis (1997), sob a alta irradiância, associada a baixa disponibilidade de CO<sub>2</sub> no interior do recipiente pode contribuir para o desenvolvimento da fotoinibição e para a redução nas taxas fotossintéticas. Dessa maneira, a utilização de ventilação natural, que promove o aumento na disponibilidade de CO<sub>2</sub> no interior do recipiente de cultivo e eleva o ponto de saturação da fotossíntese pela luz pode ser fundamental para dirigir maior proporção de energia luminosa para o centro de reação e, conseqüentemente, impedir danos por fotoinibição durante a multiplicação sob alto nível de irradiância.

Além de estarem expostas a maiores níveis de irradiância, as brotações cultivadas em casa de vegetação estavam submetidas a maiores temperaturas e a uma maior amplitude térmica em relação àquelas cultivadas em sala de crescimento. Esse fato pode ter contribuído para uma melhor resposta do aparelho fotossintetizante das brotações produzidas em casa de vegetação à temperatura de 35°C, que foi utilizada nas avaliações de evolução de oxigênio.

De acordo com Chenevard et al. (1997), em condições de maiores amplitudes térmicas, a respiração noturna aumenta, o que pode ter causado o rápido esgotamento da sacarose do meio de cultura das plantas cultivadas em casa de vegetação, contribuindo para impedir que a sacarose exerça efeitos inibitórios sobre a fotossíntese, permitindo que o funcionamento do aparelho fotossintetizante dessas brotações fosse semelhante ao das plantas a pleno sol, mesmo sob condições de vedação convencional.

O desenvolvimento das características fotossintéticas indica que as brotações e plantas de *Annona glabra* L. podem ser capazes de se desenvolver fotoautotroficamente sob ventilação natural (Millipore) e níveis mais altos de irradiância, inclusive em condições naturais, sob estufa. Entretanto, a definição das condições ótimas para o crescimento fotoautotrófico *in vitro* depende, ainda, de considerações adicionais, em função da complexidade do processo de aquisição de fotoautotrofia, o qual envolve inúmeras características fisiológicas em resposta à interação de diversos fatores ambientais.

## CONCLUSÃO

A *Annona glabra* é capaz de realizar fotossíntese *in vitro*. A capacidade fotossintética aumenta sob níveis mais elevados de irradiância, e sob sistema de ventilação natural (Millipore). Em condições de casa de vegetação e ventilação natural (Millipore), a capacidade fotossintética é semelhante àquela observada em plantas *in vivo*, cultivadas a pleno sol.

## REFEÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHENEVARD, D.; FROSSARD, J.S.; ALLEMAND, C.J. Carbohydrate reserves and CO<sub>2</sub> balance of hybrid walnut (*Juglans nigra* no. 23 x *Juglans regia*) plantlets during acclimatization. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.68, p.207-217, 1997.

CROAT, T. **Flora of Barro Colorado Island**. Stanford University Press, Stanford, CA, 943p., 1978.

DIMASSI-THERIOU, K.; BOSABALIDIS, A.M. Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in Kiwifruit cultured in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.47, p. 127-134, 1997.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.3 – **Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

KANECHI, M.; OCHI, M.; ABE, M.; INAGAKI, N.; MAEKAWA, S. The effects of carbon dioxide enrichment, natural ventilation, and light intensity on growth, photosynthesis, and transpiration of Cauliflower plantlets cultured in vitro photoautotrophically and photomixotrophically. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.123, n. 2, p. 176-181, 1998.

LE, H.T.; HANCOCK, J.F.; TRINH, T.T. The fruit crops of Vietnam: introduced species and their native relatives. **Fruit Varieties Journal**. v.52, n.3, p. 158-168, 1998.

MAI, T.T. Fruit trees in Vietnam. **Chronica Horticulturae**, v.35. n.3, p. 8-9, 1995.

MANICA, I.; ICUMA, I.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JUNIOR, M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre, Cinco continentes Editora, 2003. 596p.

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

PÉREZ, N.D.; FONSECA, R.M.; PÉREZ, L.L.; HERNANDEZ, F.L. Vegetacion de las lagunas costeras y zonas inundables del Estado de Guerrero, Mexico. **Brenesia**, v. 39-40, p. 7-28, 1993.

SENTELHAS, P.C.; PÍZA, C.T.J.; SIGRISTI, J.M.M.; KAVATI, R.; PARODI, M.T. Temperatura letal de diferentes plantas frutíferas tropicais. **Bragantia**, Campinas, v.55, n.2, p. 231-235, 1996.

## PALAVRAS-CHAVES

*Annona glabra* L., respostas fotossintéticas, sistemas de vedação.

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG<sup>1</sup> pela concessão de bolsa de Iniciação Científica e ao financiamento de pesquisa.

---

<sup>1</sup> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.

## Estabelecimento do cultivo *in vitro* de *Canavalia rosea* (Sw.) DC (Fabaceae)

Sato, Alice<sup>1</sup>; Cordeiro, Sandra Zorat<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Professora da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Av. Pasteur, 458, sala 415, Urca, Rio de Janeiro, RJ – CEP: 22290-240, fone: (21) 2244-5760, e Professora do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio de Janeiro (PBV-UFRJ), Centro de Ciências da Saúde – Instituto de Biofísica, Bloco G, 2º andar - Sala 050 Cidade Universitária, Ilha do Fundão, RJ -CEP: 21941-590 fone (21) 2562-6643, e-mail: [alissat@uol.com.br](mailto:alissat@uol.com.br). <sup>2</sup>Aluna de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio de Janeiro (PBV-UFRJ), Centro de Ciências da Saúde – Instituto de Biofísica, Bloco G, 2º andar - Sala 050, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, RJ - CEP: 21941-590, fone (21) 2562-6643, e-mail: [sandrazorat@hotmail.com](mailto:sandrazorat@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

*Canavalia rosea* (Sw.) DC (Fabaceae), também conhecida como feijãozinho-da-praia, é uma espécie herbácea, estolonífera, com belas flores rosa-arroxeadas, que ocorre naturalmente ao longo do litoral brasileiro nas regiões de restinga, principalmente nas regiões de dunas, fazendo parte da comunidade psamófila reptante e contribuindo sobremaneira para o processo de fixação de dunas devido à sua alta capacidade adaptativa e grande poder de regeneração (Pereira, 1990).

As lectinas são encontradas em uma ampla variedade de espécies de plantas e animais, entretanto tais proteínas estão presentes em maior quantidade em grãos de leguminosas e gramíneas (Pusztai, 1989). Estudos revelaram a presença de concanavalina A (Con A), uma lectina e de canatoxina (CNTX), uma proteína tóxica, tanto em sementes, como em cultivos *in vitro* de *Canavalia ensiformis* DC (Carlini & Guimarães, 1981; Carlini & Guimarães, 1991 e Sato *et al*, 1993). Embora Con A e CNTX possuam alto grau de similaridade entre suas estruturas, a CNTX é capaz de induzir convulsões e morte em animais de laboratório (LD50 2,0 mg/kg, rato, intra-peritoneal) além de uma potente atividade secretória em vários tipos celulares, indicando outros possíveis efeitos farmacológicos (Barja-Fidalgo *et al*, 1991). O objetivo deste trabalho é estabelecer o cultivo “*in vitro*” de *C. rosea* e posterior verificação da presença de lectinas em cultura de tecidos desta espécie.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho é realizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biofísica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Desinfestação e inoculação de embriões - As sementes de *C. rosea* utilizadas foram coletadas na Praia da Restinga da Marambaia, município do Rio de Janeiro, RJ, em Outubro de 2006. As sementes foram colhidas ao acaso, de vagens maduras, oriundas de diferentes indivíduos encontrados no local da coleta. As sementes são feijões de aspecto circular com cerca de 1 cm de diâmetro, com cores que variam do marrom escuro ao marrom-amarelado. Apesar de possuírem o tegumento muito espesso e rígido, a micrópila e o hilo são muito visíveis, o que facilitou a manipulação da semente sem danificar o embrião. Das sementes coletadas, 14 foram selecionadas e então lavadas em água corrente e sabão neutro e submetidas à escarificação mecânica. As sementes então foram colocadas em água destilada a 50 °C por 10 minutos. Após a retirada do tegumento, os embriões foram isolados sob lupa com auxílio de pinça e estilete e, em câmara de fluxo laminar, submetidos à desinfestação através de lavagem por imersão em água destilada, álcool 70% por 3 minutos, água destilada, hipoclorito de sódio 2% por 2 minutos e água destilada estéril. Após a desinfestação os embriões foram inoculados em meio salino básico MS (Murashige & Skooge, 1962), acrescido

de 87.3  $\mu\text{M}$  de sacarose, 1.5  $\mu\text{M}$  de tiamina.HCl, 0.6 mM de mio-inositol, 4.1  $\mu\text{M}$  de ácido nicotínico e 2.4  $\mu\text{M}$  de piridoxina. O pH do meio foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem e solidificado com ágar a 0,8%. Reguladores de crescimento não foram adicionados ao meio, assim denominado então MSØ. Os embriões foram mantidos em sala de crescimento a  $25 \pm 1$  °C, com iluminação de 23.0  $\mu\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$  e fotoperíodo de 16 horas.

Segmentação das plântulas e inoculação de explantes - As plântulas desenvolvidas a partir dos embriões foram mantidas em sala de crescimento até adquirir comprimento maior que 10 cm (considerando-se da base do caule até o ápice), para que fossem excisados os explantes. Em câmara de fluxo laminar, foram segmentadas em ápice (A), segmentos nodais (SN), segmentos internodais (SIN), folhas (F), epicótilo (E) e hipocótilo (H). Esses explantes foram então inoculados em meio MSØ e mantidos em sala de crescimento nas mesmas condições anteriormente descritas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desinfestação - Dos 14 embriões isolados de *Canavalia rosea* inoculados em meio MSØ, apenas dois apresentaram contaminação, ocorrendo após 12 dias de cultivo, indicando que o processo de desinfestação foi eficiente.

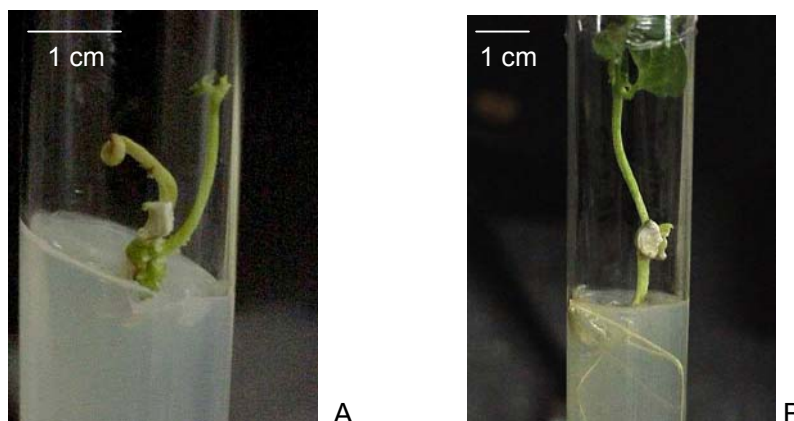


Figura 1 – Desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de *C. rosea* em Meio MSØ: A – Embrião apresentando crescimento de caule e raiz anômalos após 14 dias de cultivo; B – Plântula com desenvolvimento pleno de raiz, caule e folhas após 14 dias de cultivo.

Germinação e crescimento – Dos 12 embriões sem contaminação, 2 não germinaram e 10 se desenvolveram: 6 apresentaram rizogênese e caule anômalos (Figura 1A), formando calo após 18 dias de cultivo e 4 cresceram normalmente formando plântulas com pleno desenvolvimento de raízes, caule e folhas após 14 dias de cultivo (Figura 1B).

Desenvolvimento dos explantes - O potencial organogênico dos explantes é apresentado na Tabela 1.

As gemas dos ápices e pelo menos uma gema de cada segmento nodal apresentaram crescimento após 5 e 7 dias, respectivamente, em sala de crescimento, sendo que a partir do 7º. dia, todos os ápices já apresentavam folhas expandidas (Figura 2A) e a partir do 19º. dia, 2 enraizaram. A partir do 14º. dia, um dos segmentos nodais apresentou expansão foliar (Figura 2B), sendo que em 28 dias, 50% dos segmentos nodais apresentaram folhas expandidas. Segmentos internodais e folhas apresentaram organogênese de raízes adventícias: em 16,6% dos segmentos internodais (Figura 2C) a partir do 28º. dia e em 40% dos explantes foliares (Figura 2D) a partir do 19º. dia. Uma das folhas com enraizamento apresentou formação de calo na epiderme superior após o 19º. dia. Dos 4 epicótilos, em 14 dias de cultivo, um calejou e outro



apresentou crescimento de broto (Figura 2E); no mesmo período, 50% dos hipocótilos também calejaram no local de inserção com o meio (Figura 2E). Em 28 dias, outro entre os 3 epicótilos que não tinham sofrido alterações, apresentou brotamento.

Tabela 1 – Desenvolvimento dos explantes de *C. rosea* em função do tempo de cultivo. O número entre parênteses indica o percentual de explantes, de cada tipo, que apresentou o desenvolvimento citado. (-) indica que não houve alteração em relação ao período anterior.

Tipo de explante *	N	Tempo de crescimento			
		7º. Dia	14º. dia	19º. dia	28º. dia
A	4	alongamento de brotos (100%)	(-)	rizogênese 50%	(-)
SN	12	alongamento de gemas (100%)	expansão foliar (8,3%)	expansão foliar (33%)	expansão foliar (50%)
SIN	12	(-)	(-)	(-)	rizogênese (16,6%)
F	5	(-)	(-)	rizogênese (40%) calejamento (20%)	(-)
E	4	(-)	alongamento de broto (25%) calejamento (25%)	(-)	desenvolvimento de broto (50%)
H	4	(-)	calejamento (50%)	(-)	(-)

\* - ápice (A), segmentos nodais (SN), segmentos internodais (SIN), folhas (F), epicótilo (E) e hipocótilo (H)

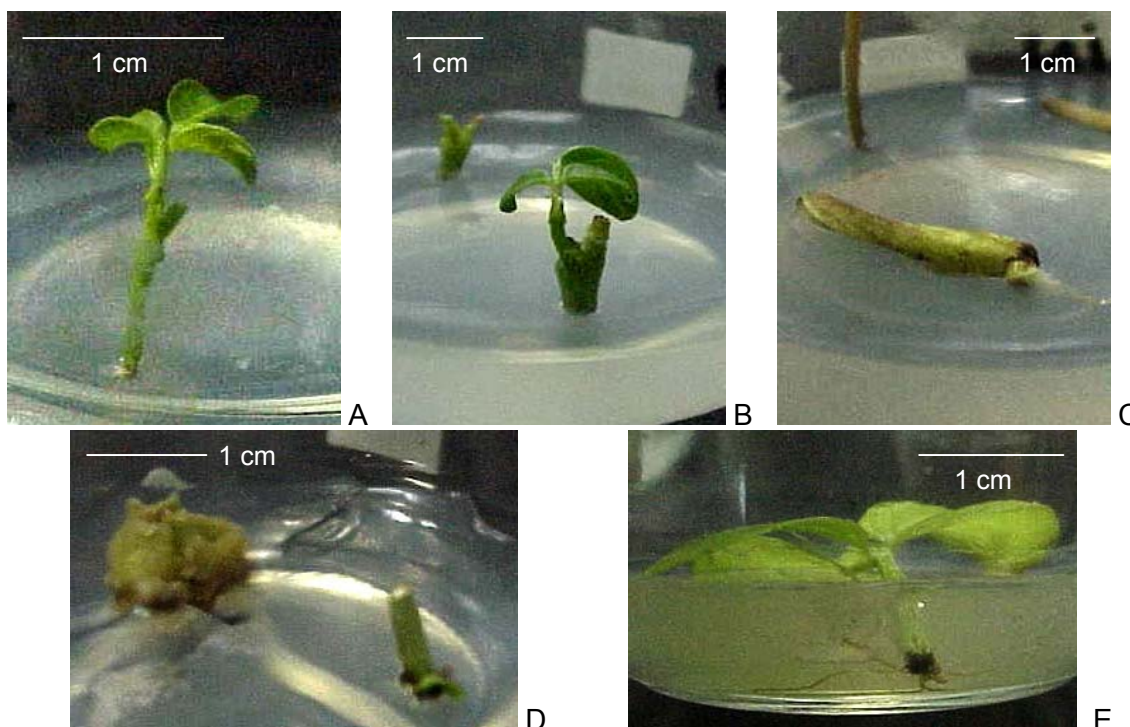


Figura 2 – Explantes desenvolvidos de *Canavalia rosea* em Meio MSØ após 33 dias em sala de crescimento: A – expansão foliar em ápice; B – expansão foliar em segmento nodal; C –

rizogênese em segmento internodal; D – à esquerda, calo desenvolvido no hipocótilo, à direita, organogênese de broto em epicótilo, E – rizogênese em explante foliar.

## CONCLUSÃO

Os objetivos iniciais do trabalho foram atingidos: a desinfestação de *C. rosea* foi eficiente e o desenvolvimento dos embriões foi satisfatório, bem como a obtenção de explantes viáveis para introdução desta espécie ao cultivo *in vitro*. De acordo com os resultados preliminares obtidos foi observado desenvolvimento de brotos apicais com enraizamento a partir dos explantes apicais e calogênese em epicótilos e hipocótilos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARJA-FIDALGO, C.; GUIMARÃES, J.A. & CARLINI, C.R. Lipoxygenase-mediated secretory effect of canatoxin the toxic protein from *Canavalia ensiformis* seeds. **Toxicon**, n. 29, p. 453-459, 1991.

CARLINI, C.R. & GUIMARÃES, J.A. Isolation and characterization of a toxic protein from *Canavalia ensiformis* (jack bean) seeds, distinct from concanavalin A. **Toxicon**, n. 19, p. 667-676, 1981.

CARLINI, C.R. & GUIMARÃES, J.A. Plant and microbial toxic proteins as hemilectins: Emphasis on canatoxin. **Toxicon**, n. 29, p. 791-806, 1991.

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

PEREIRA, O.J. Caracterização fito-fisionômica da restinga de Setiba, Guarapari, Espírito Santo. *In: Anais do II Simpósio de Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: Estrutura, Função e Manejo*, Águas de Lindóia: ACIESP. v. 3, p. 207-219, 1990.

PUSZTAI, A., Lectins. In: CHEEK, P.R., **Toxicants of plants origin, proteins and aminoacids**. Boca Raton: CRC Press, 1989 v.3, p. 29-71

SATO, A., BARCELLOS, G.B.S., RIEDEL, E.C., CARNEIRO, J.A., CARLINI, C.R. & ESQUIBEL, M.A. The presence of concanavalin A and canatoxin in *Canavalia ensiformis* DC tissue culture. **Plant Cell Reports**, n. 12, p. 233-236, 1993.

## PALAVRAS-CHAVES:

*Canavalia rosea*; feijãozinho-da-praia; cultivo *in vitro*; sementes.

## Efeito da solução NPK na micropropagação *in vitro* de cana-de-açúcar, objetivando reduzir custos de produção.

Dias, André Luís de França<sup>1</sup>; Silva, Karime Soares da<sup>2</sup>; Rivas, Rebeca<sup>1</sup>; Alves, Gilberto Dias<sup>1</sup>; Houllo-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50.100-010, fone (81) 3416-4000, email: [andreluisfd@hotmail.com](mailto:andreluisfd@hotmail.com), [rebecarivas@gmail.com](mailto:rebecarivas@gmail.com), [alvesgd@icb.upe.br](mailto:alvesgd@icb.upe.br); <sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) - Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE, telefone: (81) 3320-6003, email: [karyagronomia@hotmail.com](mailto:karyagronomia@hotmail.com). <sup>3</sup>Pesquisadora da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Laboratório de cultura de Tecidos Vegetais e Biologia Molecular, Av. Gal. San Martin, 1371, Bongí, CEP 50761-000, Recife/PE, Caixa Postal: 1022, fone (81) 2122-7200, email: [laureenhk@yahoo.com](mailto:laureenhk@yahoo.com).

### INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é um dos principais produtos agrícolas do Brasil, sendo desde a época da colonização intensamente cultivada. Os seus subprodutos industrializados são diversos, como: o açúcar nos mais variados tipos, o álcool (anidro e hidratado), o vinhoto e o bagaço. ([http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br\\_cana.asp](http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp)). No Brasil, a média de produção é de 60 toneladas por hectares e, só no Estado de São Paulo, a média é de 74 toneladas por hectares (1983). O conteúdo de açúcar extraído é de 9 a 12% e o rendimento em álcool de 70 litros por tonelada (<http://br.geocities.com/atine50/cana/cana.htm>).

O nome científico dessa herbácea é *Saccharum officinarum*. É nativa do Sudeste Asiático e bastante implantada em ambientes de clima tropical e subtropical. Morfoanatomicamente, apresenta uma inflorescência do tipo espiga, o crescimento dos caules em colmos, suas folhas com lâminas de sílica nas bordas e uma bainha aberta (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Cana-de-a%C3%A7%C3%BAcar>).

A vantagem da micropropagação *in vitro* é a rápida produção de alta qualidade, em curto espaço físico; garantia de um material saudável, livre de doenças; as atividades podem ser realizadas independentemente do clima ou das estações do ano, uma vez que as plântulas são multiplicadas sob um ambiente controlado. Mesmo com tantos benefícios, a tecnologia de micropropagação termina sendo mais cara do que os métodos tradicionais por conta da utilização de produtos químicos, meios de cultura, energia e mão-de-obra (IAEA, 2004). O grande valor comercial do nitrato de amônio, junto à dificuldade para sua obtenção, tem gerado realizações de trabalhos na busca de alternativas para a substituição dessa fonte de nitrogênio (FRÁGUAS, 2003).

Esta pesquisa objetivou avaliar o efeito da solução NPK como fonte de nitrogênio alternativa em meios de cultura na regeneração *in vitro* da cana-de-açúcar (cv. RB 932520), tentando reduzir os custos de produção.

### MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Biologia Molecular da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Estado de Pernambuco. Utilizou-se gemas axilares de cana-de-açúcar da cultivar BR932520, cultivadas *in vitro*.

Sob condições assépticas, as gemas axilares foram inoculadas em 5 meios de cultura diferentes. A composição básica de cada meio foi, inositol 0,1g.L<sup>-1</sup>, glicina 0,002g.L<sup>-1</sup>, BAP 0,2mg.L<sup>-1</sup>, KIN 0,1mg.L<sup>-1</sup>, sacarose 20 g.L<sup>-1</sup>. A diferença entre os tratamentos é referente aos componentes à base de nitrogênio dos sais de MS (Murashigue & Skoog, 1962), que foram excluídos (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e substituídos pela solução NPK em diferentes concentrações (com exceção do tratamento 5, que foi meio padrão de cana-de-açúcar), como mostra a tabela a seguir.



Tabela 1. Concentrações de NPK que diferem nos tratamentos do experimento.

Tratamento	Concentração de NPK
1	50 g. L <sup>-1</sup>
2	25 g. L <sup>-1</sup>
3	15 g. L <sup>-1</sup>
4	0 g. L <sup>-1</sup>
5	Controle

O pH do meio de cultura foi ajustado em 5,8, antes da autoclavagem (15 minutos à temperatura de 120 °C). Os explantes foram mantidos em sala de crescimento em controle artificial de temperatura e fotoperíodo de 16 horas-luz. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 12 repetições por tratamento e 2 explantes por frasco. A cada 15 dias, os meios de cultura dos tratamentos foram trocados.

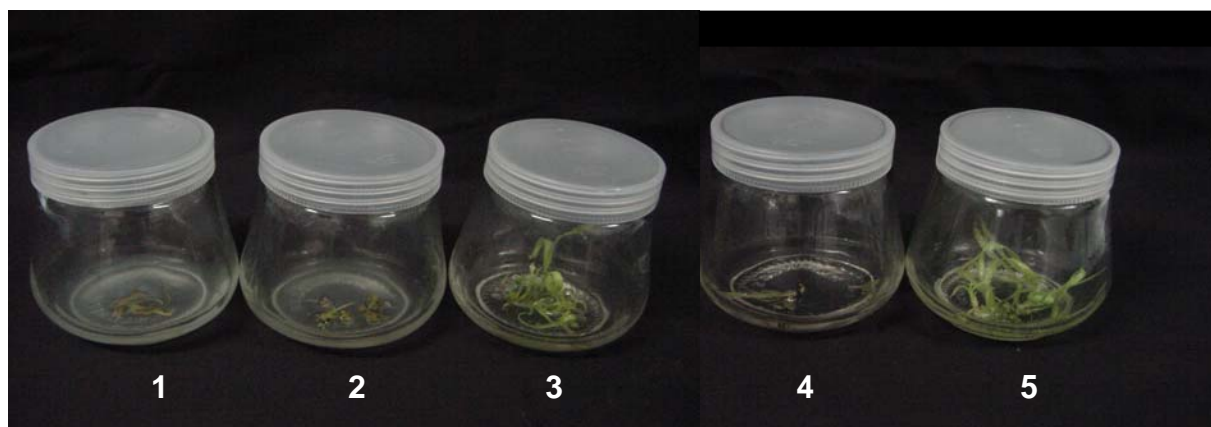
O experimento foi avaliado semanalmente observando os parâmetros: presença/ausência de brotação, número de brotos, presença/ausência de oxidação, morte do explante, presença/ausência de raiz. Nos parâmetros que apresentam presença/ausência foi atribuído valor 1 à presença e valor 0 à ausência. Os valores paramétricos foram transformados em dados que possibilitassem a análise estatística, através da fórmula  $\sqrt{X + 0,5}$ , onde X indica o valor paramétrico. Os dados foram submetidos à análise de variância, complementadas pelo teste de médias de Tukey, realizada com o auxílio do programa ASSISTAT versão 7.4 beta (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise dos 5 tratamentos, o tratamento 3 (NPK 15 g.L<sup>-1</sup>), a partir do 15º dia (Tabela 2), destacou-se positivamente na emissão de novas brotações, proporcionando a melhor média de novos brotos.

Gonzáles (2005), desenvolveu explantes de *Splachnum ampullaceum*, propagados *in vitro* em 10 tratamentos diferentes com fontes e índices distintos de nitrogênio com ou sem sacarose e/ou vitaminas B5. Tal experimento sugeriu que o melhor meio para a cultura em longo prazo dessa espécie foi o meio que continha amônia na concentração relativamente baixa, como o fosfato de amônio ou o sulfato, com as vitaminas B5 adicionadas, mas sem sacarose.

Na figura 1 pode ser observado comparativamente o desenvolvimento dos explantes em meios com diferentes concentrações da solução NPK. Os tratamentos mais bem sucedidos foi o 3 (NPK 25 g.L<sup>-1</sup>) e 5 (meio padrão de cana-de-açúcar). A melhor porcentagem de brotação foi observada no tratamento 3 (NPK 15 g.L<sup>-1</sup>), com média de 3,08 novas brotações por explante 91,66% dos explantes emitindo novas brotações com 15 dias de cultivo (Tabela 2). Não houve ocorrência de mortalidade, mas as plântulas do tratamento 1 (50 g.L<sup>-1</sup>) apresentou menor média de brotos por explante, menor porcentagem de explantes emitindo novas brotação e início de clorose em todos os indivíduos. Esse fato sugere que elevada concentração de nitrogênio (solução NPK) reage de forma fitotóxica no desenvolvimento dos explantes de cana-de-açúcar. Fráguas (2003), concluiu que concentrações superiores a 20 mg.L de uréia são tóxicas ao cultivo *in vitro* de gloxínia.



FIF

Figura 1. Explantes de cana-de-açúcar (RB932520) multiplicadas *in vitro*, submetido a diferentes tratamentos: 1- NPK 50 g.L<sup>-1</sup>; 2 – NPK 25 g.L<sup>-1</sup>; 3 – NPK 15 g.L<sup>-1</sup>; 4 - NPK 0 g.L<sup>-1</sup>; 5 – meio padrão de cana-de-açúcar (controle)

O aumento no número de brotações foi observado em certas espécies multiplicadas em meio de propagação contendo uréia (Roy et al., 1996). Em contra partida contrapartida, Kirby et al.(1987) estabeleceu meios de cultura tendo a uréia como única fonte de nitrogênio e os propágulos multiplicaram mais lentamente que os micropropagados em meios de cultura contendo nitrato e amônio.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que uma solução comercial de NPK pode substituir as formas padrões de nitrogênio que são fornecidas no meio MS sem haver prejuízo para o desenvolvimento *in vitro* de cana-de-açúcar.

Tabela 2. Média de brotos, porcentagem de brotação, média de mortalidade, média de oxidação e porcentagem de enraizamento referentes ao 8º dia de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB932520).

Tratamento	Média de brotos	Brotação (%)	Média da mortalidade	Enraizamento (%)
1	0,50 a	33,33	1,22 a	0
2	1,00 a	66,66	1,22 a	0
3	1,41 a	66,66	1,22 a	0
4	0,41 a	41,66	1,22 a	0
5	1,00 a	66,66	1,22 a	0

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey, a 5% de significância.

Tabela 3. Média de brotos, porcentagem de brotação, média de mortalidade, média de oxidação e porcentagem de enraizamento referentes ao 15º dia de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB932520).

Tratamento	Média de brotos	Brotação (%)	Média da mortalidade	Enraizamento (%)
1	0,58 b	41,66	1,22 a	0
2	1,66 b	83,33	1,22 a	0
3	3,08 a	91,66	1,22 a	0
4	1,08 b	66,66	1,22 a	0
5	1,58 b	83,33	1,22 a	0

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey, a 5% de significância.

#### CONCLUSÃO

Pôde-se concluir que a solução NPK é uma fonte alternativa eficientemente absorvida quando substitui as formas de nitrogênio presentes no meio MS, apresentando, aparentemente, um efeito superior na indução de novos brotos em cana-de-açúcar (RB932520) quando comparada ao meio padrão de multiplicação de cana-de-açúcar.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRÁGUAS, B. C. et al. **MICROPROAGAÇÃO DE GLOXÍNIA EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITRATO DE AMÔNIO E URÉIA**. Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.4, p.811-815, jul./ago., 2003.

GONZALES, M.L. et al. *In vitro* micropropagation and long-term conservation of the endangered moss *Splachnum ampullaceum*. **Biologia Plantarum**, 2005.

IEA, **Low Cost options for tissue culture technology in developing countries**, Viena 2004.

KIRBY, E. G.; LEUSTEK, T.; LEE, M. S. Nitrogen Nutrition. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (Eds.). **Cell and Tissue Culture in Forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. v. 1, p. 67-88.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

ROY, P. K.; RAHMAN, M. M.; ROY, S. K. Clonal propagation of *Syzygium cumini* L. through in vitro culture. **Bangladesh Journal of Botany**, Bangladesh, v. 25, n. 2, p. 159-164, 1996.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Saccharum officinarum*, cultivo *in vitro*, baixo-custo, fontes de nitrogênio.

## CALOGÊNESE IN VITRO DE LIMA ÁCIDA 'TAITI'

Souza, Elma dos Santos<sup>1</sup>; Rebouças, Fabíola Santana<sup>2</sup>; Carvalho, Zuleide<sup>1</sup>; Argôlo, Maria Alice Vicente<sup>2</sup>; Costa, Maria Angélica Pereira de Carvalho<sup>3</sup>; Almeida, Weliton A. Bastos<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Engenharia Agrônômica da UFRB, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, CEP 44380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: [elmagrufba@yahoo.com.br](mailto:elmagrufba@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFRB-BA), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: [fablly2000@yahoo.com.br](mailto:fablly2000@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professor do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, CEP 44380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: [weliton@ufba.br](mailto:weliton@ufba.br).

### INTRODUÇÃO

A lima-ácida-'Taiti' (*Citrus latifolia* Tanaka.), popularmente conhecida no Brasil como um limão, atualmente vem despertando interesse para a ampliação dos plantios comerciais. Isso ocorre em função de seu bom comportamento diante das principais doenças e pragas que estão presentes nos pomares cítricos e que vêm causando grandes prejuízos para os produtores de laranjas doces. O Estado da Bahia é o segundo produtor de lima ácida 'Taiti' do Brasil, com uma produção anual de 44,6 mil toneladas. Os frutos produzidos destinam-se, para o consumo "in natura" no mercado interno e para exportação. Nos últimos anos, com o início das exportações da lima ácida para o mercado europeu, a cultura do 'Taiti' na Bahia vem passando por um processo de acentuada modernização. Essa consolidação do cultivo da lima ácida 'Taiti' como um produto de exportação estimulou o crescimento da área cultivada, cuja produção alcança, aproximadamente, 60% do total colhido na Região Nordeste do Brasil, que totaliza 74,8 mil toneladas (Coelho et al, 2006).

Segundo Coelho et al. (2006) esse interesse sem precedentes do mercado externo pela lima ácida exige, por outro lado, atenção redobrada por parte dos produtores, pesquisadores e agentes da cadeia produtiva em relação à qualidade do fruto e à regularidade na oferta.

A necessidade da ampliação das bases genéticas atuais dos citros, assim como a potencialização de germoplasma já existente impõe a necessidade de conduzir programas de melhoramento. No entanto, as dificuldades de se conduzir programas tradicionais de melhoramento em citros são enormes (Machado, 1997). Nesse sentido, a biotecnologia, através de suas técnicas, surge como uma ferramenta altamente promissora no apoio a programas de melhoramento de plantas, (Almeida et al. 2002).

A resposta morfogênética em explantes oriundos de tecido adulto tem sido muito rara, em virtude dos elevados índices de contaminação, bem como pela baixa totipotência. A transformação genética em citros a partir de tecido adulto será de grande importância em programas de melhoramento, pois as plantas regeneradas não apresentariam características juvenis, permitindo dessa forma uma melhor avaliação e seleção no campo e, portanto, aumentando as chances de um novo cultivar seja lançado em um intervalo de tempo menor (Almeida, 2002). Desta forma, este trabalho objetivou induzir a calogênese em segmentos internodais de lima ácida 'Taiti' em função de concentrações de BAP.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia em parceria com o Laboratório de Biotecnologia da Faculdade Maria Milza – FAMAM situada no Município de Cruz das Almas, BA. Mudanças de lima ácida 'Taiti', foram enxertadas em limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) e mantidas em casa de vegetação, onde foram constantemente podadas, preservando-se o ramo principal. As novas brotações formadas no ramo principal foram utilizadas como fonte de explantes, de onde foram extraídos segmentos internodais com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, que foram desinfestados, durante 20 minutos em solução comercial de hipoclorito de sódio (2,5%) diluída em água destilada na proporção 4:1. Em seguida os mesmos foram lavados quatro vezes em água destilada e esterilizada.

Nesse experimento, os segmentos internodais foram cultivados horizontalmente em placas de Petri (100 x 15 mm) contendo 20 mL de meio de cultura DBA<sub>3</sub> (Deng et al.; 1992), suplementado com 25 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com ágar (0,8%) e 500 mg L<sup>-1</sup> do antibiótico Ceftriaxona sódica (para controle bacteriano) e BAP (Benzilaminopurina) nas concentrações 0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup> combinadas com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de NAA (ácido naftalenoacético). Todos os explantes foram mantidos em ausência de luz à temperatura de 27° ± 2°C e posteriormente, sob fotoperíodo de 16 h (40 μmol. m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de intensidade luminosa).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições (Placa de Petri contendo 10 segmentos internodais). Após 30 dias avaliou-se o percentual de explantes responsivos para calos, atribuindo-se notas para diferenciar a quantidade de células calogênicas formadas por calos (Figura 1). Para as notas dos calos formados em ambas as extremidades dos segmentos internodais, procedeu-se da seguinte forma:

- a) Nota 0, para ausência de calos;
- b) Nota 1, para calos com quantidade celular inferior a 1/3 do comprimento do explante;
- c) Nota 2, para calos com quantidade celular superior a 1/3 e menor que 2/3 do comprimento do explante.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Figura 1, a formação de calos, quando ocorrida, foi observada em ambas as extremidades dos explantes. A figura 2 apresenta os resultados referentes ao percentual de explantes com calos em nota 0,1 e 2. A concentração de 3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP combinada com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de NAA, foi aquela que se destacou apresentando todos os explantes contendo formação de calos. A presença de calos em trabalhos *in vitro* tem sido relacionada com fornecimento exógeno de auxina. Segundo Hussey (1983) a formação e o tipo de organização do calo depende primariamente da espécie vegetal e do tecido utilizado e claro, da composição hormonal do meio de cultivo. Neste trabalho foi fornecido 0,5 mg L<sup>-1</sup> de NAA combinada com as concentrações de BAP.

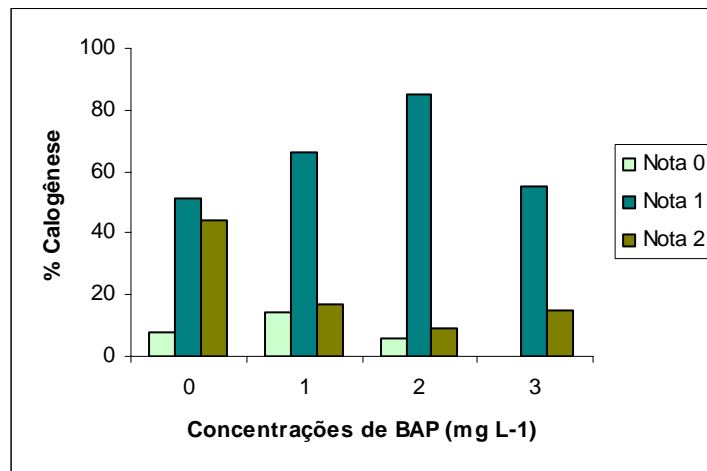
A contribuição de citocinina, especialmente BAP, na formação de calos embriogênicos ou organogênicos em explantes de citros já foi constatada em diversos trabalhos (Almeida et al. 2002; 2003a; 2003b). Oliveira (1993) relata ter obtido 16,25 % de calos de tangerina 'Cleópatra' com o cultivo de nucelos no meio MT contendo 10 mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina. Segundo o mesmo autor, os calos de tangerina 'Cleópatra' obtidos neste meio contendo BAP e subcultivados em meio MT (sem reguladores de crescimento), foram os que tiveram a maior taxa de desenvolvimento após 7 subcultivos mensais. Ling & Iwamasa (1994) induziram calos embriogênicos de tangerina 'Ponkan' usando o meio MT acrescido de 5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Já

Kobayashi et al. (1984) concluíram que o melhor meio de indução de calos embriogênicos em 11 variedades de citros foi o meio MT suplementado com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP.



**Figura 1.** Segmentos internodais evidenciando calos em ambas as extremidades.

Estas notas para os calos (0, 1, 2 e 3) foram atribuídas com o intuito de estabelecer a qualidade do calo. Segundo Gratapaglia et al. (1998), quanto menor a quantidade celular no calo, menor é a probabilidade de resposta morfogênética. A capacidade de indução da dediferenciação celular é uma das mais importantes características exploradas no cultivo *in vitro* das plantas e encontra-se associada às principais técnicas de melhoramento não convencional (Fehér et al. 2002). A adição exógena do regulador vegetal contribuiu para o processo de dediferenciação celular, formando calos organogênicos com diferentes níveis de dediferenciação e, portanto com diferentes graus de determinação celular.



**Figura 2.** Percentual de calogênese de lima àcida ‘Thaiti’ em função de concentrações de BAP.

Os tecidos adultos apresentam baixo percentual de resposta morfogênética e são raros os trabalhos obtendo sucesso *in vitro* em citros, destacando-se os realizados por Cervera et al. (1998), Almeida et al. (2003). Neste sentido, considera-se que as respostas obtidas neste trabalho são de suma importância para obter futuros sistemas de regeneração de plantas *in vitro*, via organogênese.

## CONCLUSÕES

A utilização do BAP combinado com NAA induz a calogênese in vitro em tecidos adultos de lima ácida 'Taiti'.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, W. A. B de.; et al. Agrabacterium-mediated transformation of *Citrus sinensis* and *Citrus limonia* epicotyl segments. **Scientia Agricola**, Piracicaba-SP, v. 60, n. 1, p. 23-29, 2003a.

ALMEIDA, W. A. B. de; et al. Genetic transformation and plant recovery from mature tissues of *Citrus sinensis* L. Osbeck. **Plant Science**, v.164, p.203-211, 2003b.

ALMEIDA, W. A. de; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUEZ, A. P. M. In vitro organogenesis optimization and plantlet regeneration in *Citrus sinensis* and *C. limonia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba-SP, v. 59, p. 35-40, 2002.

CERVERA, M.; et al. Genetic transformation and regeneration of mature tissue of woody fruit plants bypassing the juvenile stage. **Trangenic Research**, v.7, p.51-59, 1998.

COELHO, Y.S.; LORDÊLO, C.M.; CALDAS, R.C. Problemas identificados na lima ácida 'tahiti' do estado da Bahia comercializada na Europa. **Toda fruta**. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acessado em : 25/05/07.

DENG, X. X.; GROSSER, J. W.; GMITER, F. G. J. Intergeneric somatic hybrid plants from protoplast fusion of *Fortunella crassifolia* 'Meiwa' com *Citrus sinensis* cv. 'Valencia'. **Science Horticulture**, Amsterdam, v. 49, p. 55-62, 1992.

FEHÉR, A.; PASTERNAK, T.; DUDITS, D. Activation of embryogenic cell division in leaf protoplastderived alfalfa cells: the role of auxin and stress. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 46, p.13-14, 2002.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. v.1, p.183-260.

HUSSEY, G. In vitro propagation of *G/adiolas* by precocious axillary shoot formation, **Scientia Horticulturae**. 6:287-96.1983.

KOBAYASHI, S.; IKEDA, I; NAKATANI, N. Induction of nucellar callus from orange (*Citrus sinensis* Osb.) ovules, and uniformity of regenerated plants. **Bulletin of the Fruit Tree Research Station**, v.5, p.43-54, 1984.

LING, J.T.; IWAMASA, M. Somatic hybridization between *citrus reticulata* and *citropsis gabunensis* through electrofusion. **Plant Cell Reports**, v.13, p.493-497, 1994.

MACHADO, M. A.; A Biotecnologia na citricultura. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, **Brasília**, p. 8-10, nº 1, 1997.

OLIVEIRA, R.P. **Cultura de calos, células em suspensão e protoplastos de porta-enxertos de citros**. Piracicaba, 1993. 117p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

*Citrus latifolia* Tanaka, Biotecnologia, Calogênese.



## **Influência do carvão ativado no crescimento inicial e na aclimatização de plântulas de *Caularthron bicornutum* (ORCHIDACEAE) germinadas *in vitro***

Galdiano Júnior, Renato Fernandes<sup>1</sup>; Gomes, Elisângela Soares<sup>2</sup>; Lemos, Eliana Gertrudes de Macedo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2600, e-mail: [renatofgaldianojr@yahoo.com.br](mailto:renatofgaldianojr@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Aluna do curso de Graduação em Ciências Biológicas da FCAV-UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2600, e-mail: [trinkabio2005@yahoo.com.br](mailto:trinkabio2005@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professora titular do Departamento de Tecnologia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2675 ramal 217, e-mail: [egerle@fcav.unesp.br](mailto:egerle@fcav.unesp.br)

### **INTRODUÇÃO**

*Caularthron bicornuthum* é uma orquídeacea de porte médio e nativa da Amazônia (Estados de Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia e Roraima). Destaca-se pelo rápido crescimento até a fase adulta e distinta beleza de sua inflorescência, apresentando amplo potencial como planta ornamental (LUZ, 1998).

As orquídeas pertencem ao grupo de plantas que se caracteriza por apresentar segmentos do perianto muito semelhantes, e compõe a maior e mais altamente evoluída família de sua ordem (DRESSLER, 1981). Estimativas sugerem a existência de cerca de 25.000 espécies naturais, subdivididos em 600 a 800 gêneros (HEW e YONG, 1997). Possuem hábito terrestre, rupícola e a maior parcela é representada por espécies epífitas (cerca de 73% do total da família). Com adaptações eco-fisiológicas importantes no sistema radicular e no eixo caulinar, estas plantas atingiram um sucesso substancial na ocupação dos dosséis das florestas tropicais (BENZING, 1983).

Na natureza, a germinação e os primeiros estágios de desenvolvimento do embrião rudimentar das orquídeas são dependentes do estabelecimento de associações com fungos micorrízicos. Acredita-se que durante estes períodos estes embriões seriam heterotróficos e incapazes de utilizar carboidratos complexos (ERNST e ARDITTI, 1990).

As primeiras tentativas de cultivo assimiótico de orquídeas foram realizadas, com sucesso, por Lewis Knudson no início da década de 20, e proporcionaram pesquisas subseqüentes sobre a influência dos chamados “fatores de crescimento” (carboidratos, hormônios, vitaminas, aminoácidos, nutrientes minerais e luz, entre outros), sobre a germinação e crescimento inicial de suas plântulas. Desta forma, em muito se expandiu o comércio das espécies nativas e ornamentais, como também a produção de novos híbridos (VACIN e WENT, 1949).

Carvão ativado é preparado pela carbonização controlada da madeira em vapor ou ar, é utilizado comumente para adsorção de sólidos e gases. Trata-se de um pó de carvão finamente moído para aumentar a área de adsorção de partículas. Mesmo não sendo um regulador de crescimento, tem a capacidade de modificar o meio e, em algumas circunstâncias, melhorar ou regular o crescimento de plântulas *in vitro* (GEORGE, 1993). No entanto, pode induzir endogenia, alterar o pH, remover nutrientes orgânicos e reguladores de crescimento, inibir o crescimento e a morfogenia. O mesmo autor afirmou que a adição de carvão ativado (entre 1,0 a 2,0 g.L<sup>-1</sup>) pode estimular a germinação e o crescimento de orquídeas, principalmente em espécies que liberam substâncias fenólicas *in vitro*.

Plantas em condições *in vitro* estão em meio asséptico com carboidratos e reguladores de crescimento, elevada umidade relativa do ar, baixa irradiação e limitados potenciais osmóticos. Esses fatores contribuem para uma alta taxa de multiplicação, mas também induzem ao aparecimento de anormalidades anatômicas, morfológicas e fisiológicas, as quais interferem no estágio de transplante e aclimatização, causando baixa taxa de sobrevivência em condições *ex vitro* (CALDAS, 1998).

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar os efeitos de diferentes doses de carvão ativado no crescimento de plântulas germinadas *in vitro* e posterior sobrevivência em condições *ex vitro* de *Caularthron bicornutum*, espécie de orquídea nativa do Brasil e de grande interesse para produção comercial.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, utilizando-se sementes de plantas oriundas do acervo do Orquidário da FCAV-UNESP. Cápsulas de sementes maduras foram desinfestadas no interior de câmara asséptica utilizando hipoclorito de sódio e etanol 70% (FARIA e STANCATO, 1998). Em seguida, as cápsulas foram abertas no sentido de sua deiscência e inoculadas em frascos de 280 mL contendo 40 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). Após 60 dias, os protocormos foram inoculados em quatro tratamentos constituídos de meio MS com metade da concentração de macronutrientes e suplementados com quatro concentrações de carvão ativado (tratamento 1: 0 g.L<sup>-1</sup>, tratamento 2: 1 g.L<sup>-1</sup>, tratamento 3: 2 g.L<sup>-1</sup> e tratamento 4: 4 g.L<sup>-1</sup>).

Para cada tratamento, foram utilizados cinco frascos (repetições) contendo 10 plântulas cada, perfazendo um total de 200 plântulas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado e incubadas em câmara de crescimento à temperatura de 25°C, sob iluminação artificial e fotoperíodo de 16 horas de luz durante 150 dias. Após esse período, as plântulas foram retiradas dos frascos e mensurado o número e comprimento da maior raiz, pesadas para análise da massa fresca da parte aérea e radicular juntas. Os dados obtidos foram analisados pelo método de Tukey a 5% de probabilidade e representados por meio de tabelas para avaliação do crescimento das plântulas. Esta fase foi chamada de estágio *in vitro*

Depois de mensuradas, as mudas foram transplantadas em bandejas de plástico e preenchidas com substrato a base de vermiculita e pó de xaxim (1:1 v/v) e então mantidas em casa de vegetação sob tela sombrite com 60% de retenção da irradiação luminosa. Os parâmetros avaliados 90 dias após o início do experimento de estágio *ex vitro* foram: número de plantas sobreviventes, número e comprimento de raízes, massa fresca e massa seca das plantas. Esta fase foi chamada de estágio *ex vitro*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estádio *in vitro*

Após 210 dias incubadas *in vitro*, as plântulas de *Caularthron bicornutum* apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados. Para a parte radicular, a adição de carvão ativado apresentou efeitos sinérgicos: o número de raízes foi maior nos tratamentos 2 e 3, enquanto o tratamento 4 obteve média de comprimento da maior raiz inferior até mesmo ao tratamento 1, e para a massa fresca total foi verificado maiores médias entre os tratamentos 2 e 3, respectivamente, e a menor obtida no tratamento 1 (tabela 1).

ARAUJO (2004), ao estudar o crescimento *in vitro* de *Laelia tenebrosa* também verificou que a adição de carvão ativado ao meio nutritivo em diferentes concentrações também pode trazer resultados contrastantes, sendo necessário ajustar a quantidade deste aditivo conforme a espécie Orchidaceae.

Para o comprimento da maior raiz, o tratamento controle (tratamento 1) apresentou-se mais eficaz. ZAIDAN (2002), observou que carvão ativado inibiu totalmente o enraizamento *in vitro* de mamoeiro (*Carica papaya*) em meio MS com a metade da concentração dos macronutrientes, sugerindo que este aditivo foi responsável por certa inibição do crescimento radicular em meio nutritivo.

Tabela 1. Valores de número de raízes, comprimento maior raiz (cm), massa fresca total (mg) e comprimento do maior bulbo (cm) de plântulas de *Caularthron bicornutum* 210 dias após a semeadura e cultivo *in vitro*. UNESP – FCAV, Jaboticabal – SP, 2007.

Caracteres avaliados	Tratamentos				C.V. (%)
	1	2	3	4	
Número de raízes	1,65AB	2,5A	1,9A	0,5B	43,13
Comprimento maior raiz (cm)	1,38A	1,28A	1,00AB	0,36B	37,8
Massa fresca total (mg)	22,95B	49,05A	50,95A	35,7AB	28,14
Comprimento maior bulbo (cm)	1,31B	1,96A	1,86A	1,82A	29,3

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Para o crescimento aéreo, a adição de carvão ativado apresentou-se benéfica, sendo verificado plântulas mais tenras e vigorosas nos tratamentos suplementados (tratamentos 2, 3 e 4), obtendo a menor eficiência para o crescimento do maior pseudobulbo o tratamento 1. Por consequência, as maiores massas frescas totais (parte aérea e radicular) foram encontradas nos tratamentos 2 e 3 (tabela 1).

#### Estádio *ex vitro*

Após a fase de cultivo em casa de vegetação, as plântulas de *Caularthron bicornutum* apresentaram sensíveis diferenças entre os quatro tratamentos. O número de plantas sobreviventes foi menor nos tratamentos 1 e 4 (70% e 75%, respectivamente), e maiores entre os tratamentos 2 e 3 (100% e 90%, respectivamente). Para o número e comprimento da maior raiz, houve resposta significativa somente no tratamento 2, enquanto a massa fresca e massa seca foram significativamente superiores para os tratamentos 2 e 3.

Segundo COSTA (1998), um fator importante que contribui para a maior sobrevivência das plântulas submetidas às condições *ex vitro* refere-se a seu estado nutricional, bem como à proporcionalidade entre o sistema radicular e a parte aérea. Desta maneira, o tratamento 2 apresentou boa eficiência para o comprimento e massa fresca radicular, bem como massa fresca total, fatores que garantiram às plântulas deste tratamento o melhor desempenho na fase em casa de vegetação.

#### CONCLUSÕES

A adição de carvão ativado em meio de cultura MS com metade das concentrações de macronutrientes apresentou plântulas com massas frescas superiores após o cultivo *in vitro*, porém o mesmo aditivo contribuiu também para o menor crescimento radicular, obtendo assim respostas menos eficientes para a aclimatização nos tratamentos mais concentrados (tratamentos 3 e 4). Assim, o meio MS com metade das concentrações de macronutrientes acrescido de carvão ativado (1%) é o mais recomendado para a propagação (*in vitro*) e aclimatização (*ex vitro*) da orquídea *Caularthron bicornutum*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.G. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídea**. 2004, 80f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavra, Lavras, MG. 2004.

BENZING, D.H. Vascular epiphytes: a survey with special reference to their interactions with others organisms. In: SUTTON, S. T. Witmore T. C. & Chadwick, A. C. (Eds). **Tropical Rain Forest: Ecology and Management**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, p. 11-24, 1983.

CALDAS, L.S. et al. Meios Nutritivos e aclimatização. In: Torres, A. C. (Ed.). **Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa- SPI / Embrapa- CNPH, 1998, v. 1, p. 87-133.

COSTA, A.M.M. Fisiologia da aclimatização. In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. (Ed.). **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p.63-67.

DRESSLER, R.L. **The orchids: natural history and classification**. Harvard: Harvard University Press. 1981. 332p.

ERNST, R.; ARDITTI, J. Carbohydrate physiology of orchid seedlings. III. Hydrolysis of maltooligosaccharides by *Phalaenopsis* (Orchidaceae) seedlings. **American Journal of Botany**, v. 77, p.188-195, 1990.

FARIA, R.T.; STANCATO, G.C. Orquídea – Semeadura. In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A. M. M. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo de Campinas: micropropagação de plantas ornamentais**, 1998. v. 174, p.37.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**, part 1 – the technology. 2. ed. Edington: Limited, 1993. 786 p.

HEW, C.S.; YOUNG, J.W.H. **The physiology of tropical orchids in relation to the industry**, Singapore: World Scientific, 331 p., 1997.

LUZ, F.J.F. **Orquídeas da amazônia**. São Paulo: Casa Amarela. 1998, p.25.

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

VACIN, E.F.; WENT, F.W. Use of tomato juice in the asymbiotic germination of orchids seeds. **Botanical Gazette**, v.111, p.175-183, 1949

ZAIDAN, H.A. **Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro**. 2002, 166f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2002.

#### PALAVRAS CHAVE

Aclimatização; cultura *in vitro*; micropropagação; Orchidaceae.

## Testes de desenvolvimento *in vitro* com helicônia Dwarf Jamaica utilizando agentes solidificantes e BAP.

Dutra, Maria de Fátima Batista<sup>1</sup>; Rodrigues, Isabele Aragão Gomes<sup>2</sup>, Paulo Hercílio Viegas<sup>3</sup>; Macedo, Cristiane Elizabeth C.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ms. Genética e Biologia Molecular – UFRN - Centro de Biociências – e-mail: [mfbdutra@hotmail.com](mailto:mfbdutra@hotmail.com);

<sup>2</sup>Estudante do curso de Ciência Biológicas na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

<sup>3</sup>Prof. Dr. Coordenador do Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Biotecnologia da Amazônia - CBA – e-mail: [phrviegas@hotmail.com](mailto:phrviegas@hotmail.com) ; <sup>4</sup>Profa Dra. do Depto. de Biologia Celular e Genética – e-mail : [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

### INTRODUÇÃO

As Helicônias pertencem à família Heliconiaceae, gênero Helicônias, de origem neotropical ocorrendo naturalmente na América Central e América do Sul. No Brasil, muitas espécies são encontradas na Mata Atlântica, são conhecidas também pelos nomes populares de bananeira de jardim, falsa ave do paraíso e paquevira (Lorenzi & Souza, 1995).

A cultura das flores tropicais tem se destacado em todo Brasil, principalmente nos estados do Norte e Nordeste, existem registros de produções com mais de quinze anos na serra de Baturité no estado do Ceará, onde as condições de cultivo eram realizadas sob vegetação nativa e sem obedecer a nenhum critério técnico (Kämpf, 2000).

O mercado mundial vem mostrando uma crescente saturação na oferta de flores tradicionais, situação ímpar que beneficia a produção e a comercialização de flores e plantas tropicais provenientes de países da África, sudeste da Ásia, América Central e América do Sul.

No mercado internacional, as flores tropicais enfrentam a concorrência das flores de “verão”, flores tradicionais do verão, que no inverno são cultivadas em outros países, como é o caso de Israel, que exporta grande quantidade destas flores, coincidindo com o pico de produção das flores tropicais (Salinger, 1991).

No Brasil, as principais áreas de cultivo estão implantadas nos estados do Rio de Janeiro, Alagoas, Pernambuco, São Paulo, Santa Catarina, Pernambuco, Bahia, Ceará e Goiás.

A produção nacional das flores tropicais é quase que 100% absorvida pelo mercado interno, o que não ocorre em outros países como a Costa Rica onde a produção é voltada para a exportação. No Brasil, a exportação para a Europa e Estados Unidos gera oportunidade de negócios ainda pouco explorada.

Na cadeia produtiva das flores tropicais, vários aspectos devem ser destacados desde o plantio, onde a qualidade e a sanidade do material de origem são fundamentais, até as floriculturas ou pontos de vendas, onde procedimentos como uma boa armazenagem, são indispensáveis (Tombolato et al. 1998).

Doenças fúngicas, bacterianas e fitonematoses podem acometer as helicônias durante seu cultivo por métodos tradicionais, prejudicando seu desenvolvimento rápido e interferindo na produção e qualidade das flores. A cultura de tecidos vem através da multiplicação rápida e livre de contaminações fornecer mudas saudáveis que possam gerar flores de excelente aceitação por parte do mercado nacional e internacional. Este trabalho tem como objetivo criar protocolo para a multiplicação *in vitro* de helicônia Dwarf Jamaica.

### MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados ápices caulinares de helicônia da espécie *Stricta Dwarf Jamaica* (pequeno porte), muito procurada por possuir belas flores e florescer em pequenos vasos. Inicialmente foi realizado uma desinfestação onde os rizomas foram retirados cuidadosamente da planta mãe que estava em vaso protegido por estufa, lavados em água corrente com sabão utilizando-se uma escova macia, foram levados para a câmara

de fluxo laminar, sofreram lavagem rápida em álcool 70%, em seguida colocou-se em hipoclorito de sódio 2% por 30 min. e por fim passaram por 3 lavagens em água destilada esterilizada.

Seguida a desinfestação os ápices foram inoculados em meio MS básico (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de vitamina de Morel (Morel & Wetmore, 1951), 30g L<sup>-1</sup> de sacarose testando-se diferentes concentrações de BAP (0; 2,5; 5 e 7,0 mg L<sup>-1</sup>) e agentes solidificantes : Phytigel (P) 1,5 g. L<sup>-1</sup>, Agar (A) 6,0 g. L<sup>-1</sup> ou ambos Phytigel +Agar (PA) 0,75 g/l + 3,0 g. L<sup>-1</sup>.

Após a inoculação, foram realizadas 4 subculturas a cada 30 dias e avaliações diárias foram feitas para detecção de contaminações, selecionando-se assim os explantes totalmente isentos de contaminantes, as contaminações endógenas foram controladas adicionando-se o antibiótico cefotaxima ao meio de cultura. Os explantes foram mantidos em sala de incubação sob iluminação artificial de 16 horas fotoperíodo para crescimento e multiplicação *in vitro*, a temperatura ficou em torno de 25°C. Durante 120 dias de cultivo e a cada subcultura foi computado e calculado o número médio de brotos regenerados por explante inoculado nos meios contendo os diferentes agentes solidificantes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao agente solidificante, um maior número de brotações foi obtido quando foi adicionado ao meio o Phytigel, este resultado foi observado em todas as subculturas (Gráfico1). Os meios sólidos ou semi-sólidos, tradicionalmente, são solidificados com agar, um polissacarídeo extraído de algas marinhas, a consistência do meio depende da concentração do agar utilizada (Torres, 1998).

Uma nova classe de polímeros está sendo usada com melhores resultados do que o agar em algumas culturas, são gomas do tipo “gelan”, uma enorme vantagem é que os meios preparados com estas gomas utilizam, aproximadamente um quarto da concentração do agar para a mesma consistência, sendo que são mais transparentes, não são tóxicas e resistem a degradação enzimática (Pasqualetto, et al. 1988).

Em todas as subculturas, um maior número de brotações foi obtida na presença de 5 mg L<sup>-1</sup> da citocinina BAP (Gráfico 1), A composição e concentração dos hormônios no meio de cultura são fatores determinantes ao crescimento e no padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultura de tecidos, as auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas em cultura de tecidos.

Também existem diferenças entre as citocininas, sendo que o BAP induz a formação de grandes números de brotos e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação (Torres, 1998).

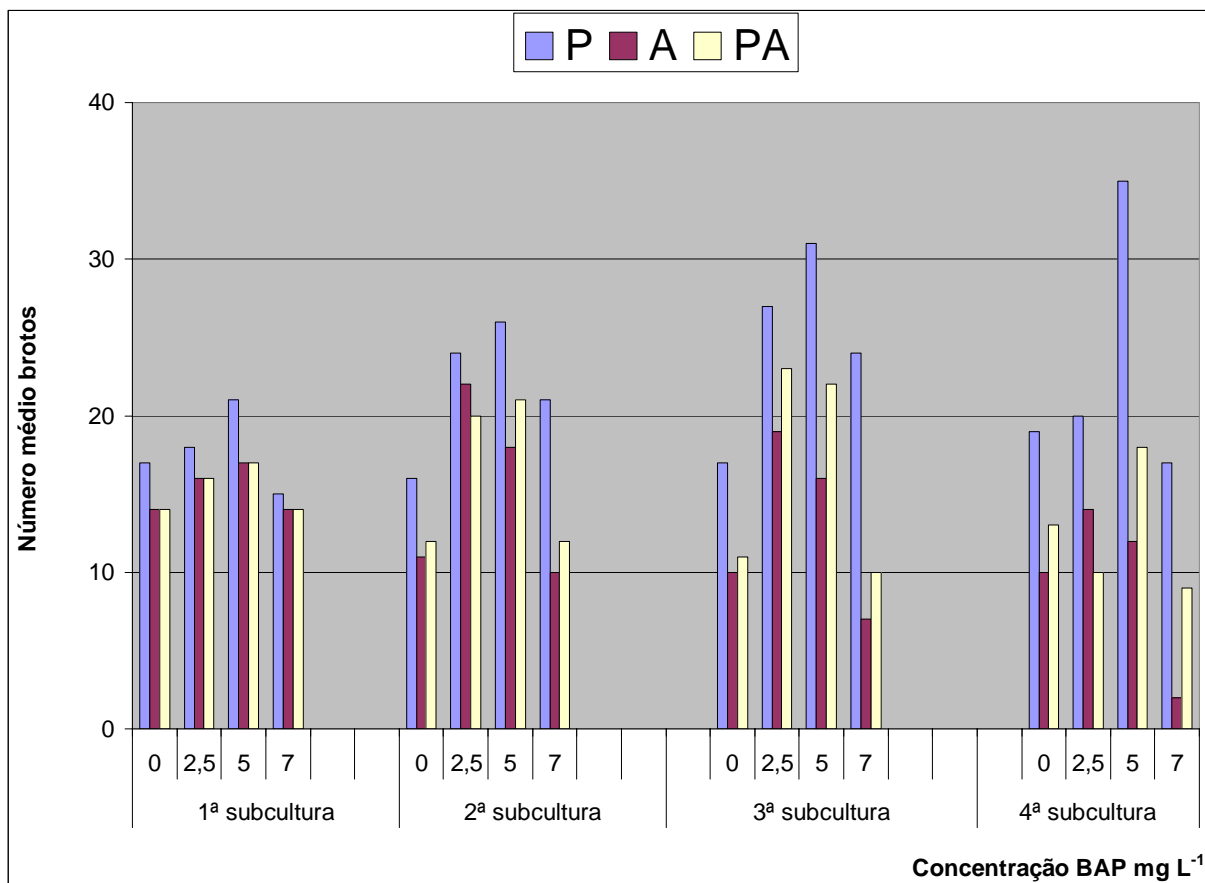


Gráfico 1 – Avaliação da ação de agentes solidificantes associados a testes de concentração de BAP em helicônia stricta “Dwarf Jamaica”.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos conclui-se que a adição do agente solidificante Phytigel + 5 mg L<sup>-1</sup> da citocinina BAP ao meio de cultura é um protocolo indicado para obtenção de grande número de brotos em helicônia Dwarf Jamaica *in vitro*. No entanto, como poucos estudos tem sido efetuados com helicônias em sistemas de micropropagação e especialmente com a Dwarf Jamaica (pequeno porte) é quase inexistente, estudos posteriores certamente devem ser realizados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KÄMPF, A.N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guíba: Agropecuária, 2000. 254p.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. Editora Plantarum Ltda. 1995.

MOREL, G.; WETMORE, R.H. Tissue culture of monocotyledons. **American Journal of Botany**. v.38, p. 138-140, 1951.

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

PASQUALETTO, P.-L.; ZIMMERMAN, R. H.; FORDHAM, I. The influence of cation and gelling agent concentrations of vitrification of apple cultivars in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.14, p.31-40, 1988.

SALINGER, J.P. **Producción comercial de flores**. Espanha: Acribia, 1991.

TORRES, A. C. ; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília:EMBRAPA-SPI/EMBRAPA – CNPH, 1998. p. 102-105.

TOMBOLATO, A.F.C., TAKEBAYASHI, S.S.G., COSTA, A.M.M.; QUIRINO, E.A., Micropropagação de Plantas Ornamentais. **Boletim Técnico Instituto Agrônomo Campinas**, nº 174. maio, 1998. Campinas –SP.

PALAVRAS-CHAVE :

Dwarf Jamaica; Helicônia; *in vitro*.



## EFEITO DO 2,4 D NA INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES DE JENIPAPAPEIRO (*Genipa americana* L.)

Fabíola Santana Rebouças<sup>1</sup>; Darcilúcia Oliveira do Carmo<sup>1</sup>; Rosely Pereira da Silva<sup>2</sup>; Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa<sup>3</sup>; Weliton Antonio Bastos de Almeida<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Eng. Agrônoma, Mestranda em Fitotecnia do Centro Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB, Cruz das Almas-BA [fabyolas@hotmail.com](mailto:fabyolas@hotmail.com)

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup> Agrônoma, Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, ESALQ/USP, Piracicaba -SP; Bolsista CNPq.

<sup>3</sup> Professor Adjunto do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB. Cruz das Almas – BA [weliton@ufba.br](mailto:weliton@ufba.br)

### INTRODUÇÃO

A espécie, *Genipa americana* L. (Rubiaceae) conhecida como jenipapo, apresenta porte arbóreo, grande importância ecológica e econômica, tanto pelo uso em plantios mistos em áreas degradadas de preservação permanente, quanto pela produção de alimentos (ANDRADE et al., 2000; VALERI et al., 2003). À semelhança de muitas fruteiras nativas, ainda são poucos os conhecimentos capazes de contribuir para um maior desenvolvimento da cultura. Geralmente estas fruteiras multiplicam-se por reprodução sexual, porém a alta variabilidade genética resultante, torna inviável a exploração econômica e racional das culturas. A micropropagação é a aplicação mais prática da cultura de tecidos da qual pode-se originar um grande número de plantas saudáveis e geneticamente uniformes. No entanto, são necessários ensaios que permitam conhecer e avaliar o potencial organogênico, como a indução de calos, que são de grande importância para estudos morfogenéticos *in vitro* e através da suspensão de células para a obtenção de produtos secundários, incluindo fármacos, representando uma biotecnologia de grande interesse científico e comercial. Objetivou-se neste trabalho otimizar um protocolo para indução de calos de jenipapo em meios implementados com diferentes concentrações de 2,4 D (ácido 2,4-diclorofenilacético).

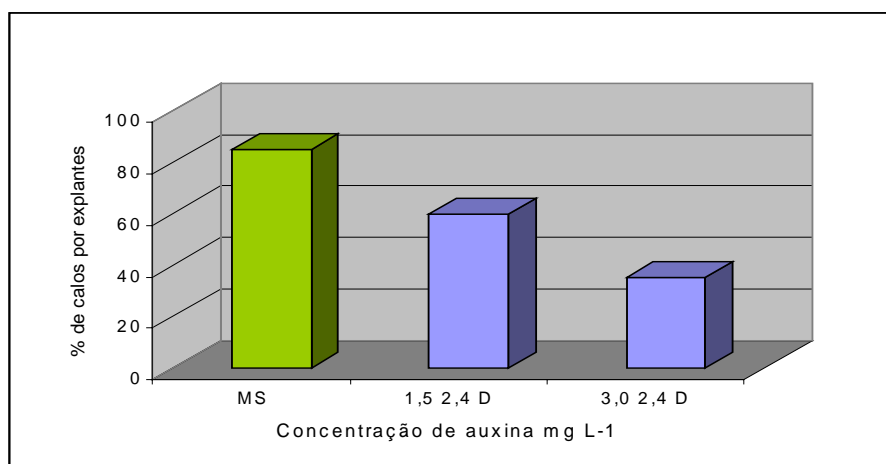
### MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus de Cruz das Almas - BA. Os explantes utilizados foram provenientes de sementes germinadas *in vitro* e consistiram de segmentos de epicótilo, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento. Os explantes foram cultivados em placa de Petri, contendo 20ml do meio de cultura MS básico (Murashigue e Skoog, 1962), suplementado com 30 g. L<sup>-1</sup> de sacarose, 8 g.L<sup>-1</sup> de agar nos

seguintes tratamentos: 1 - Testemunha: MS básico; 2 - MS + 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4 D; 3 - MS + 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4D. Cada tratamento foi constituído de 7 repetições, com 5 explantes por repetição. As placas foram mantidas no escuro por 120 dias, onde após este período foram avaliados à percentagem de explantes responsivos para a formação de calos. Os calos obtidos no experimento anterior foram divididos e colocados em um segundo cultivo contendo MS + 0,25 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB; com 6 repetições e 8 explantes por repetição. Passados 60 dias no escuro, foram feitas aferições quanto ao número de calos friáveis e número de explantes com gemas e/ou embriões.

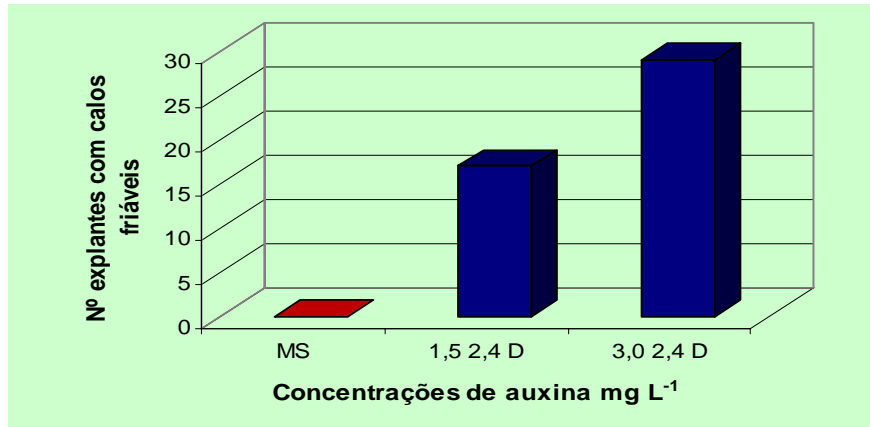
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a percentagem de explantes responsivos verificou-se que em todos os tratamentos houve a formação de calos, sendo a testemunha que obteve melhor resultado com 85% de explantes responsivos (**Figura 1**).



**Figura 1** – Percentagem de explantes responsivos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006

Observou-se formação de calo nos tratamentos em que foi utilizado 2,4 D, contudo não houve diferença significativa entre as dosagens utilizadas. No tratamento testemunha não ocorreu formação de calos friáveis. Os explantes originários do meio que continha 3,0 mg.L<sup>-1</sup> 2,4-D desenvolveram maior números de calos friáveis a partir do subcultivo dos mesmos (**Figura 2**). Em estudos com *Salix*, Santos *et al.* (2005) verificaram que concentrações do ácido 2,4-D entre 2,0 e 5,45 mg L<sup>-1</sup> proporcionam maior indução de calos friáveis. A ausência de calos friáveis observados na testemunha está de acordo com a literatura, já que para a formação de calos desta natureza é necessária a presença exógena de uma auxina, normalmente em altas concentrações. Serrano *et al.* (1996).



**Figura 2** – Número de explantes com calos friáveis de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006.

A **Figura 3** mostra o número de explantes que formaram embriões nas diferentes concentrações de auxina. O tratamento que obteve a melhor resposta para essa variável foi o tratamento que recebeu 1,5 mg.L<sup>-1</sup> 2,4D. Foi relatado que a auxina é necessária para a formação de agregados embriogênicos a partir de células individuais, expressando a totipotência das células competentes (Komanine *et al.*, 1992). Segundo Chée & Cantliffe (1988), em muitas espécies, o processo de iniciação de embriogênese somática se verifica ao se cultivar o explante em meio com a concentração relativamente elevada de 2,4-D. O desenvolvimento subsequente dos embriões somáticos ocorre após a transferência do calo ou suspensão celular para meio com reduzida concentração de auxina, ou desprovido deste regulador.

**Figura 3** – Número de explantes com embriões de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006.

## CONCLUSÕES

- O tratamento com  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  2,4 D desenvolveu maior número de explantes com calos friáveis.
- O tratamento com  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de 2,4D, favoreceu o maior número de explantes com embriões.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHÊE, RP.; CANTLIFEE, D.J. 1988. Selective enhancement of */pomea batatas* Poir. Embryogenic and non-embryogenic callus growth and production of embryos in liquid culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 15: 149-159.

HUSSEY, G. In vitro propagation of *G/adio/as* by precocious axillary shoot formation, **Scientia Horticulturae**. 6:287-96.1983

KOMANINE, A et alii. Mechanisms of somatic embryogenesis in cell cultures. **Physiology, biochemistry and molecular biology. In vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, 28: 11-14, 1992.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, pA73-497, 1962.

SANTOS B. R.; PAIVA R.; MARTINOTTO C.; NOGUEIRA R C.; PAIVA P. D. O.Indução de calos friáveis em explantes foliares de *Salix* (*Salix humboldtiana* Willd). **Ciência Rural**, vol. 35, nº 3 , Santa Maria, 2005.

SERRANO, M.S. & PINOL SERRA, M.T. **Biotecnologia Vegetal**. Ciencias de la vida p.285. 1996.

VALERI, S. V.; PUERTA, R.; CRUZ, M. C. P. Efeitos do fósforo do solo no desenvolvimento inicial de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, [S.l.], v. 64, p. 69-77, 2003.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Genipa americana*; Organogênico; Ácido 2,4-diclorofenilacético.

## Organogênese em patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.).

Santos, Aline Vieira<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fátima<sup>2</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>; Almeida, Thatiana Carvalho Santos<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>UFS Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos – DEA, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, email: aline\_ufs@hotmail.com; <sup>2</sup> Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas – Itabaiana – SE, email: arrigoni @ufs.br. (Apoio: RARO'S).

## INTRODUÇÃO

O patchouli é uma espécie aromática pertencente à família Lamiaceae que possui grande valor comercial devido ao óleo essencial extraído de suas folhas. É uma espécie originária da Malásia, Filipinas e sul da Índia, mas que devido ao seu valor comercial têm sido cultivada em várias partes do mundo (DONELIAN, 2004). O cultivo de patchouli apresenta alguns problemas que afetam o rendimento do óleo essencial. Alguns fatores que contribuem para um baixo rendimento do óleo essencial são: a suscetibilidade da planta a diversos vírus e ao nematóide *Meloydogine incognita* (KUKREJA et al., 1990).

A propagação *in vitro* de plantas é uma alternativa para a produção de plantas de patchouli, pois permite obter plantas livres de doenças como virose, por exemplo. O sistema mais frequentemente usado neste caso e com maiores êxitos é o cultivo de meristemas, suplementado em muitos casos por tratamentos de termoterapia e quimioterapia (CONCI, 2004). A regeneração ou morfogênese *in vitro* é o processo de formação de órgãos a partir de outros pré-existentes, podendo ocorrer através da embriogênese somática ou organogênese (BRANDÃO et al., 2005).

A organogênese *in vitro* ocorre com a formação de gemas adventícias, que são assim denominadas por terem origem em locais diferentes daqueles onde se formam no curso normal de desenvolvimento da planta. Esta via de regeneração pode ser indireta ou direta, dependendo da formação ou não de calos, respectivamente. O sucesso para qualquer via de regeneração *in vitro* depende de vários fatores, onde os fitorreguladores se destacam como os principais controladores da morfogênese *in vitro* (MOURA et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência de cinetina e ácido indolacético (AIA) na morfogênese *in vitro* de patchouli (*P. cablin*).

## METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizado no município de São Cristóvão-SE, Brasil.

Como fonte de explantes foram utilizados segmentos foliares retirados de plantas de patchouli genótipo POG 002 cultivadas em estufa agrícola. Estes passaram por um processo de desinfestação em câmara de fluxo laminar com álcool 70% por 30 segundos, em seguida com cloreto de mercúrio 0,1% por 3 minutos.

O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 8 g.L<sup>-1</sup> de ágar. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 4, sendo cinco concentrações de cinetina (0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 mg.L<sup>-1</sup>) e quatro concentrações de ácido indolacético (AIA) (0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup>), com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por quatro frascos contendo dois explantes cada.

O experimento foi mantido em sala de crescimento com temperatura controlada de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12 horas e radiação fotossintética ativa de  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Aos 40 dias foram avaliadas as variáveis, regeneração de plantas (%), massa (g) fresca e seca de parte aérea. E os valores obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram comparados pelo Tuckey a 5% de probabilidade e regressões polinomiais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A regeneração direta de propágulos de patchouli a partir de segmentos foliares foi promovida na presença de cinetina e AIA (Tabela 1), enquanto que para as variáveis massa fresca e seca de parte aérea houve interação entre os referidos reguladores de crescimento (Tabelas 2 e 3).

A regeneração de parte aérea apresentou um efeito quadrático para cinetina e AIA, sendo os pontos máximos de  $3,6\text{mg.L}^{-1}$  de cinetina (61%) e  $1,08 \text{mg.L}^{-1}$  de AIA (55,5%), independentemente, os que promoveram os maiores valores. Resultados diferentes foram obtidos por Rajan e Shakila (1997) e Vijayalalitha (1998) ao utilizarem a mesma espécie, o mesmo tipo de explante e os mesmos reguladores de crescimento ( $1,0 - 2,5 \text{mg.L}^{-1}$  de AIA e  $4,0 - 5,5 \text{mg.L}^{-1}$  de cinetina), tendo como resultado a indução de calos. Entretanto para o feijão Azuki [*Vigna angularis* (L.) Walp.] a utilização de  $1,0 \text{mg.L}^{-1}$  de cinetina promoveu a regeneração direta (COUTINHO et al., 2003).

Em relação à massa fresca de parte aérea houve um efeito linear em função da interação das diferentes concentrações de cinetina e ausência de AIA, enquanto que nas demais concentrações de AIA o efeito foi cúbico ( $0,5 \text{mg.L}^{-1}$ ) e quadrático ( $1,0$  e  $2,0 \text{mg.L}^{-1}$ ). Já dentro de cada concentração de cinetina e diferentes concentrações de AIA houve um efeito quadrático, exceto na ausência dos dois reguladores de crescimento (Tabela 2).

Para massa seca de parte aérea, os resultados foram similares aos encontrados para massa fresca, já que houve efeito linear quando da ausência de AIA em função das diferentes concentrações de cinetina; um efeito cúbico com  $0,5 \text{mg.L}^{-1}$  de AIA e um efeito quadrático com  $1,0$  e  $2,0 \text{mg.L}^{-1}$  de AIA; e dentro de cada concentração de cinetina o efeito também foi quadrático em relação a todas as concentrações de AIA analisadas, exceto na ausência dos dois reguladores de crescimento (Tabela 3).

TABELA 1. Regeneração de parte aérea de patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.), em função das concentrações de cinetina e ácido indolil-3-acético. São Cristóvão, UFS, 2006.

Cinetina ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Regeneração (%)
0	0
1,0	50,00
2,0	64,37
4,0	67,50
6,0	48,75
Equação (Y) =	$6,82 + 38,5784X - 5,351X^2$ $R^2 = 90,65^{**}$
AIA ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Regeneração (%)
0	33,50
0,5	56,50
1,0	50,50
2,0	44,00
Equação (Y) =	$36,0227 + 35,4773X - 15,9545X^2$ $R^2 = 73,24^{**}$
CV (%)	32,24

TABELA 2. Massa fresca (g) de parte aérea de patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.), em função da interação de cinetina e ácido indolil-3-acético. São Cristóvão, UFS, 2006.

Cinetina (mg.L <sup>-1</sup> )	AIA (mg.L <sup>-1</sup> )				Equação (Y) =
	0	0,5	1,0	2,0	
0	0,0	0,0	0,0	0,0	ns
1,0	175,1633	2692,2466	2412,8348	1884,1650	404,7899 + 4233,1794X - 1765,8814X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 83,12
2,0	429,0033	2923,0966	2842,1000	2870,8592	644,8948 + 4180,9762X - 1551,9879X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 87,35
4,0	548,8232	2264,5094	2877,8147	2353,3492	591,2614 + 3868,8885X - 1497,4588X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 99,28
6,0	1749,5043	2240,4600	2393,2033	2393,2933	1768,8472 + 1017,0846X - 354,04269X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 98,36
Equação (Y) =	-111,976 + 266,3364X R <sup>2</sup> = 86,99**	+ 78,1164 + 3400,7812X - 1142,6884X <sup>2</sup> + 106,0651X <sup>3</sup> R <sup>2</sup> = 97,62**	413,0540 + 1604,4529X - 217,4948X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 85,88**	353,3226 + 1392,7112X - 181,9332X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 81,43**	
CV (%)	33,08				

TABELA 3. Massa seca (g) de parte aérea de patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.), em função da interação de cinetina e ácido indolil-3-acético. São Cristóvão, UFS, 2006.

Cinetina (mg.L <sup>-1</sup> )	AIA (mg.L <sup>-1</sup> )				Equação (Y) =
	0	0,5	1,0	2,0	
0	0,0	0,0	0,0	0,0	ns
1,0	18,4950	169,9966	162,5891	136,7050	31,1948 + 262,9492X - 106,1554X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 86,75
2,0	37,9433	187,2900	176,1067	183,5942	51,8918 + 240,6972X - 88,5854X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 84,85
4,0	54,9650	150,2575	178,8195	153,0758	58,1647 + 207,1862X - 80,1320X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 98,59
6,0	119,5120	141,7750	135,0500	128,6133	ns
Equação (Y) =	-2,1112 + 18,5747X R <sup>2</sup> = 95,05**	4,8882 + 213,2164X - 70,1591X <sup>2</sup> + 6,4088X <sup>3</sup> R <sup>2</sup> = 97,72**	28,6775 + 102,5604X - 14,4580X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 82,75**	25,2822 + 95,6043X - 13,4610X <sup>2</sup> R <sup>2</sup> = 81,50**	
CV (%)	28,61				

## CONCLUSÕES

A utilização de meio de cultura MS com adição de 3,6 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina + 1,08 mg.L<sup>-1</sup> de AIA e segmentos foliares foi eficiente na organogênese direta patchouli.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRANDÃO, R. L. et al. **Circular Técnica 59: Regeneração em cultura de tecido de cultivares de *Sorghum bicolor* através de organogênese.** 1 ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005.

CONCI, V. C. **Obtención de plantas libres de virus.** Disponível em <[http://argenbio.org/h/biblioteca/libro/29\\_VIII\\_5.pdf](http://argenbio.org/h/biblioteca/libro/29_VIII_5.pdf)> Acesso em 20 Jul 2005.

COUTINHO, M. V. et al. **Circular Técnica 27: Regeneração de plantas de feijão Azuki (*Vigna angularis*) via organogênese direta.** 1 ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003.

DONELIAN, A. **Extração do óleo essencial de patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth] utilizando dióxido de carbono supercrítico.** 2004. 142 f. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

KUKREJA, A. K.; MATHUR, A. K.; ZAIM, M. Mass production of virus-free patchouli plants [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] by *in vitro* culture. **Tropical Agriculture**, v.67, n.2, p.101-104, 1990.

MOURA, T. L. de. et al. Organogênese *in vitro* de *Citrus* em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n.2, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

RAJAN, G. B.; SHAKILA, A. Propagation of *Pogostemon patchouli* Hook through tissue culture. **Biotechnology of spices medicinal and aromatic plants**, p. 56-59, 1997.

VIJAYALALITHA, S. J. Induction of callus as influenced by explants and growth regulators in culture media *in vitro* culture of patchouli (*Pogostemon patchouli* Pellet.). **Advances in Plant Sciences**, v.11, n.2, p.89-94, 1998.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Pogostemon cablin*; Lamiaceae; organogênese direta.



## EFEITO DO ANA E AIB NA INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES DE JENIPAPAPEIRO (*Genipa americana* L.)

Fabiola Santana Rebouças<sup>1</sup>; Darcilúcia Oliveira do Carmo<sup>1</sup>; Rosely Pereira da Silva<sup>2</sup>; Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa<sup>3</sup>; Weliton Antonio Bastos de Almeida<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Engenheira Agrônoma, Mestranda em Fitotecnia do Centro Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB, Cruz das Almas-BA [fabyolasr@hotmail.com](mailto:fabyolasr@hotmail.com); <sup>2</sup>Eng<sup>a</sup> Agrônoma, Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, ESALQ/USP, Piracicaba -SP; Bolsista CNPq; <sup>3</sup> Professor Adjunto do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB. Cruz das Almas – BA [weliton@ufba.br](mailto:weliton@ufba.br)

### INTRODUÇÃO

O Jenipapeiro, *Genipa americana* L., é originário da América Tropical e Índia Ocidental pertencente à família Rubiaceae. É uma espécie nativa bastante comum em grande parte do Brasil - desde o Pará até Minas Gerais/São Paulo, principalmente em regiões de Mata Atlântica. A propagação desta fruteira é normalmente feita por sementes, o que em espécies alógamas resulta em alto grau de variabilidade de muitas características de importância econômica (Campbell, 1996). Portanto, torna-se fundamental o desenvolvimento de métodos eficientes de propagação vegetativa, com a finalidade de multiplicar com segurança os genótipos que resultem interessantes. A cultura de tecidos é considerada uma técnica importante para a propagação de várias espécies lenhosas e vem sendo utilizada com sucesso (Landa et al. 2000). O cultivo de calos pode ser utilizado para se estudar o desenvolvimento celular, explorar produtos provenientes do metabolismo primário e secundário, obter suspensão celular e propagação via formação de gemas ou embriões somáticos (Landa et al. 2000). O objetivo deste trabalho foi otimizar um protocolo para indução de calos organogênicos em meios suplementados com ANA e AIB.

### MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus de Cruz das Almas. Os explantes utilizados foram provenientes de sementes germinadas *in vitro*. Das plântulas germinadas, foram retirados segmentos, com aproximadamente 1,0 cm, utilizados como explantes. Este material vegetal foi seccionado e a parte seccionada foi colocada em contato com o meio cultivado em placa de Petri contendo 20 mL do meio MS básico (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 8 g L<sup>-1</sup> de ágar e nas seguintes combinações de reguladores vegetais: ausência de regulador; 1,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA; 3,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA; 1,5 mg L<sup>-1</sup> de AIB e 3,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Cada tratamento foi constituído de 7 repetições, com 5 explantes por repetição. As placas foram mantidas no escuro por 120 dias, quando foram feitas avaliações em relação à percentagem de explantes responsivos para a formação de calos. Após esse período os calos obtidos foram divididos e colocados em um segundo cultivo contendo meio MS + 0,25 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 1,5 mg L<sup>-1</sup> de AIB; com 6 repetições e 8 explantes por repetição para cada tratamento inicialmente utilizado. Passados 60 dias no escuro, foram feitas aferições quanto ao número de explantes com calos compactos, calos friáveis e formação de gemas e/ou embriões.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a porcentagem de explantes responsivos verificou-se que em todos os

tratamentos houve a formação de calos, sendo a testemunha e o tratamento com  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB aqueles que demonstraram melhores resultados, com 85% de explantes responsivos (Figura 1). James et al. (1988) em estudos com macieira observaram que o uso do seccionamento do explante aumentou a resposta à calogênese e à organogênese.

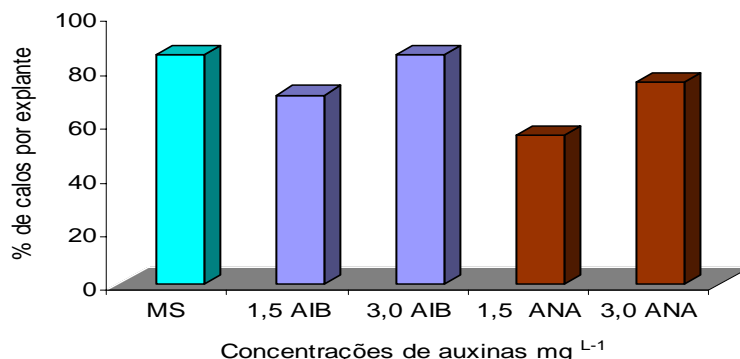


Figura 1 – Porcentagem de explantes responsivos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006.

A Figura 2 mostra que para o número de explantes com calos compactos houve diferença significativa entre os diferentes tipos de auxinas, sendo que os explantes vindo do meio com ausência de auxina formaram maior número de calos compactos em relação aos demais quando submetidos ao meio com  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP +  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB. Os tratamentos provenientes do meio suplementado com  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  ANA não formaram calos compactos no segundo cultivo. O número de explantes que formaram calos friáveis foi diferente, de forma significativa, entre os tratamentos (Figura 3). Os explantes originários do meio que continha  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  ANA desenvolveram maior número de calos friáveis no segundo cultivo. A testemunha não formou calos friáveis. A ausência de calos friáveis observados na testemunha está de acordo com a literatura, já que para a formação de calos desta natureza é necessária a presença exógena de uma auxina, normalmente em altas concentrações Serrano et al. (1996).

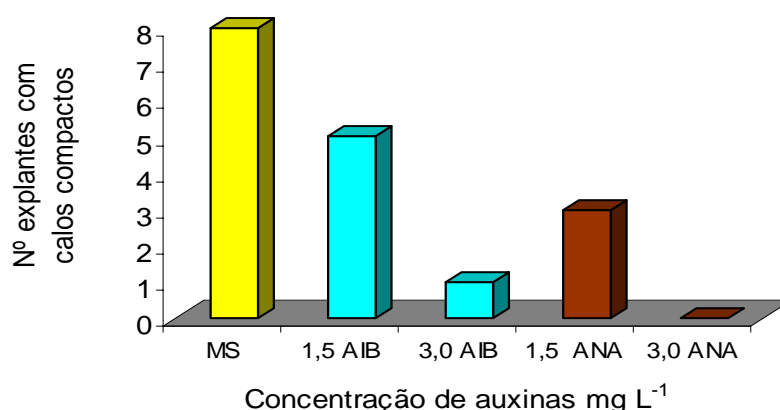


Figura 2 – Número de explantes com calos compactos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006

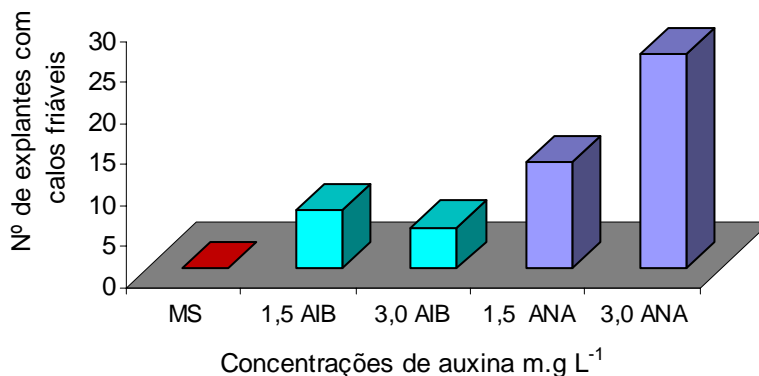


Figura 3 – Número de explantes com calos friáveis de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006.

A Figura 4 mostra o número de explantes que formaram embriões nas diferentes concentrações de ANA e AIB. Como observado, o tratamento que obteve a melhor resposta para essa variável foi o que recebeu 3,0 mg L<sup>-1</sup> AIB, entretanto este não diferiu significativamente do tratamento que com 3,0 mg L<sup>-1</sup> ANA. Foi relatado que a auxina é necessária para a formação de agregados embriogênicos a partir de células individuais, expressando a totipotência das células competentes (Komanine et al.1992). O desenvolvimento subsequente dos embriões somáticos ocorre após a transferência do calo ou suspensão celular para meio com reduzida concentração de auxina, ou desprovido deste regulador.

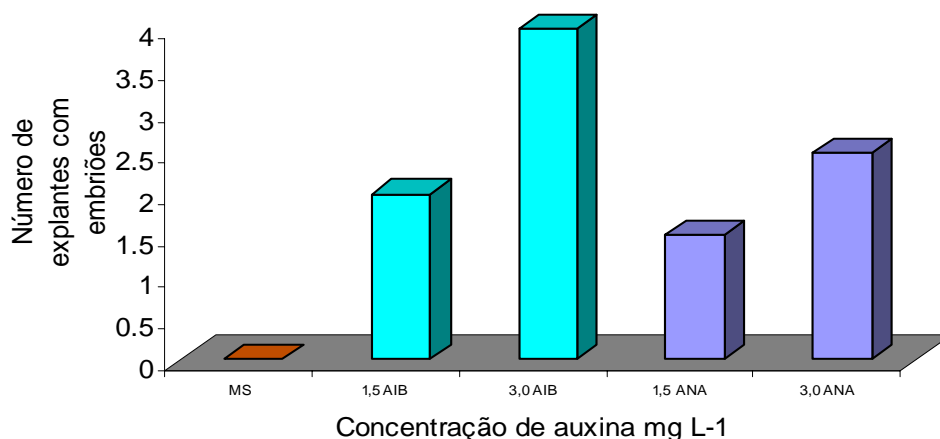


Figura 4 – Número de explantes com embriões de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). Cruz das Almas, 2006.

## CONCLUSÕES

- O tratamento com 3,0 mg L<sup>-1</sup> ANA desenvolve maior números de explantes com calos friáveis.
- O tratamento com 3,0 mg L<sup>-1</sup> AIB, proporciona o maior número de explantes com embriões.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPBELL, R.J. South American fruits deserving further attention. In: JANICK, J. (Ed.) **Progress in new crops**. Arlington:ASHS Press, 1996, p.431-439.

JAMES, D. J.; PASSEY, A. J.; RUGINI, E. Factors affecting high frequency plant regeneration from apple leaf tissues cultures in vitro. Journal **Plant Physiology**, v.132, p. 148-154, 1988.

KOMANINE,A. et alii. Mechanisms of somatic embryogenesis in cell cultures. **Physiology, biochemistry and molecular biology. in vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, 28: 11-14, 1992

LANDA, F.S.L. et al. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi ( *Caryocar brasiliense* Cam.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24 (Edição Especial), p.56-63, 2000.

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

SERRANO, M.S. & PINOL SERRA, M.T. **Biotechnologia Vegetal**. Ciencias de la vida p.285. 1996.

**PALAVRAS-CHAVES:** *Genipa americana*, jenipapo, cultura de tecidos

## CALOGÊNESE EM EXPLANTES DE FEIJÃO CAUPI (*Vigna unguiculata*)

Darcilúcia Oliveira do Carmo<sup>1</sup>, Fabíola Santana Rebouças<sup>1</sup>, Elma dos Santos Souza<sup>2</sup>, Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa<sup>3</sup>, Weliton Antonio Bastos de Almeida<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agrônoma, Mestranda em Fitotecnia do Centro Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB, Cruz das Almas-BA [darciluciac@yahoo.com.br](mailto:darciluciac@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Estudante de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB. Cruz das Almas-BA

<sup>3</sup> Professor Adjunto do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da UFRB. Cruz das Almas – BA. [weliton@ufba.br](mailto:weliton@ufba.br)

### INTRODUÇÃO

O feijão-caupi constitui a base alimentar para populações de baixa renda do Nordeste brasileiro, devido a suas características apropriadas ao plantio, tais como ciclo curto, baixa exigência hídrica e rusticidade para se desenvolver em solos de baixa fertilidade (Embrapa, 2003). A micropropagação é a aplicação mais prática da cultura de tecidos e a de mais larga utilização, da qual pode-se originar um grande número de plantas sadias e geneticamente uniformes. Segundo Einset 1986, a regeneração a partir de calos e a multiplicação de brotos são duas estratégias que têm sido utilizadas para a micropropagação das espécies herbáceas. Contudo, a regeneração via calos, muitas vezes resulta em aparecimento de variação somaclonal, tornando essa estratégia questionável para multiplicação clonal. Para a regeneração de plantas é fundamental encontrar tecidos na planta que ainda retenham a totipotencialidade celular. A capacidade de indução da desdiferenciação celular é uma das mais importantes características exploradas no cultivo *in vitro* das plantas, no entanto, para a utilização desta metodologia, faz-se necessário o prévio estabelecimento das condições necessárias para a regeneração de plantas via calos. Objetivou-se no presente trabalho induzir a formação de calos friáveis em segmentos de raízes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), em diferentes concentrações de ANA (ácido naftaleno acético) e AIB (ácido idolbutírico).

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus de Cruz das Almas. Sementes de feijão-caupi foram coletadas de área de agricultor familiar do município de Cruz das Almas e desinfestadas em solução comercial de hipoclorito de sódio e água destilada na proporção de 2:1, durante 20 minutos. Na câmara de fluxo laminar, as sementes foram lavadas por três vezes em água esterilizada e em seguida, incubadas em frascos contendo 30 mL do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose para favorecer a germinação e mantidas a 27 ± 2 °C, em ausência de luz por quinze dias. Após este período, utilizou-se como explante segmentos de raiz com comprimento aproximado de 1,0 cm. Os segmentos radiculares foram transferidos para os seguintes tratamentos: 1 - MS testemunha (ausência de regulador); 2 - MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA; 3 - MS + 2,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA; 4 - MS + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB; 5- MS + 2,0 mg L<sup>-1</sup>

de AIB. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo introduzidos quatro segmentos de raiz por parcela. O material foi cultivado a  $27 \pm 2$  °C, durante 60 dias no escuro. Após este período foram realizadas as avaliações, onde os parâmetros avaliados foram: % (porcentagem) de calos friáveis formados e diâmetro (mm) do calo. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS - Statistical Analysis System (SAS, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que houve diferenças significativas entre as fontes de auxinas utilizadas e a ausência da mesma. O número de explantes que formaram calos friáveis foram diferentes de forma significativa entre os tratamentos (Figura 1). Os explantes originários do meio MS +  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  ANA desenvolveram maior número de calos friáveis no segundo cultivo. O diâmetro do calo formado não diferiu estatisticamente entre si em tamanho (Figura 2). Como mostra a Figura 3 não ocorreu formação de calos em nenhuma das concentrações de AIB, assim como na ausência de regulador vegetal (testemunha). A ausência de calos friáveis observados na testemunha está de acordo com a literatura, já que para a formação de calos desta natureza é necessária a presença exógena de uma auxina, normalmente em altas concentrações (Serrano; Serra, 1996). Segundo Hussey (1983) a formação e o tipo de organização do calo depende primariamente da espécie vegetal e do tecido utilizado e claro, da composição hormonal do meio de cultivo.

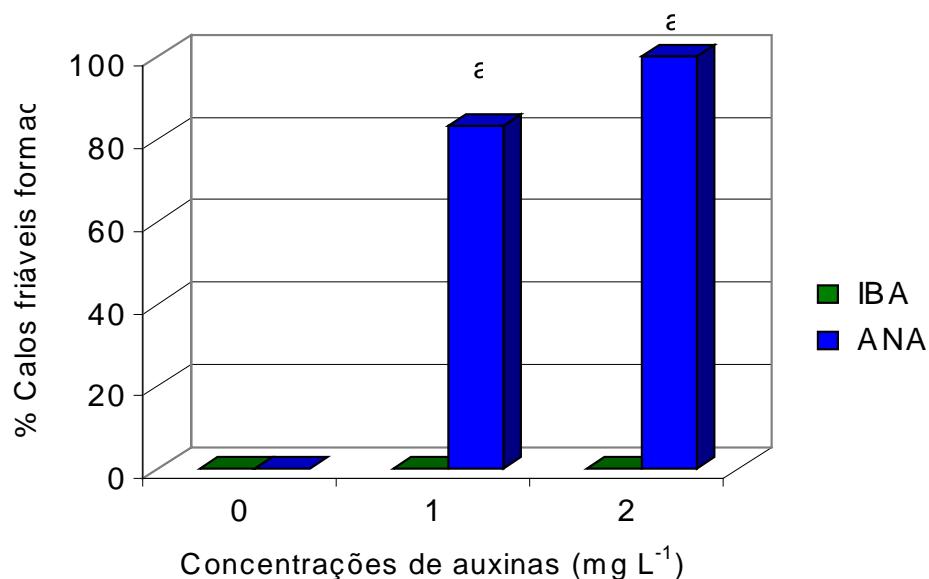


Figura 1: Percentual de calos friáveis formados de segmentos de raízes de feijão-caupi após 60 dias de cultivo em meio MS suplementado com diferentes concentrações de ANA e AIB.

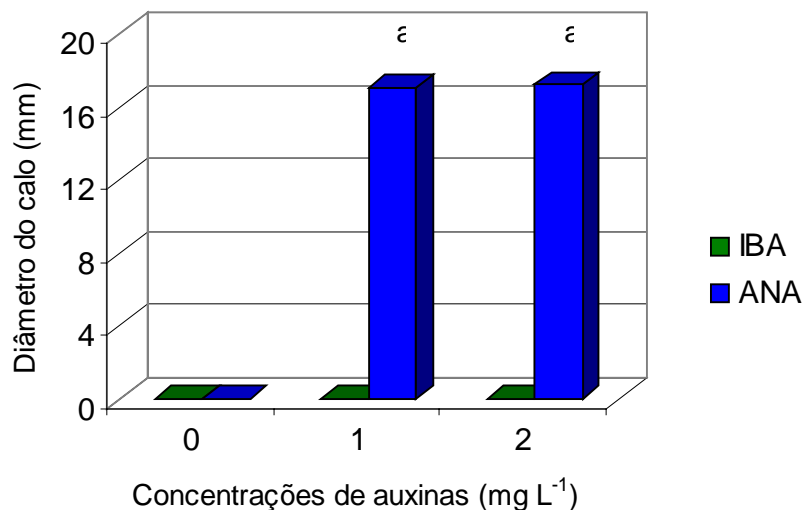


Figura 2: Diâmetro (mm) do calo em segmentos de raízes de feijão-caupi após 60 dias de cultivo em meio MS suplementado com diferentes concentrações de ANA e AIB.

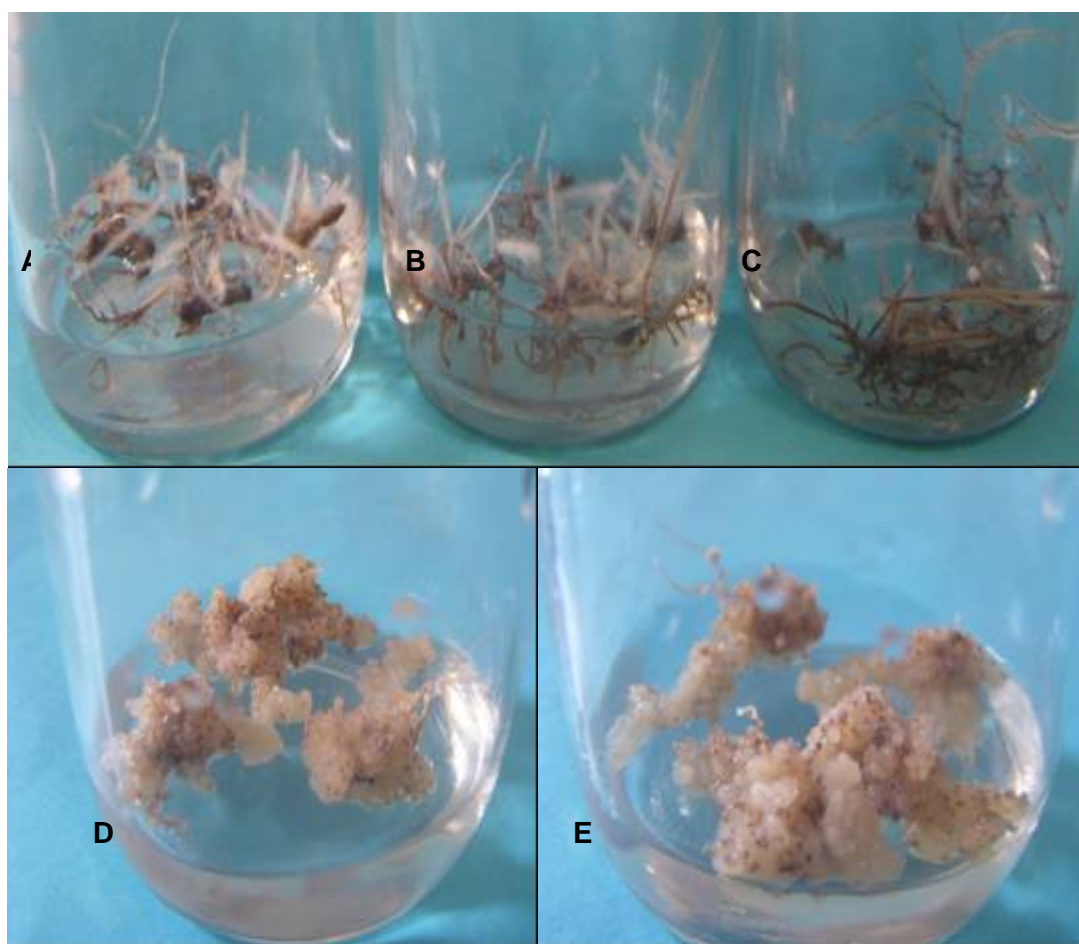


Figura 3: Calos formados a partir de segmentos de raízes de plântulas de feijão caupi, nos respectivos tratamentos: **A**- MS (ausência de regulador); **B** - 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB; **C**- 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB; **D**- 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA; **E**- 2,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

## CONCLUSÕES

- Segmentos radiculares de feijão-caupi originaram um número maior de calos friáveis, quando cultivados em meio MS suplementados com 2,0 mg L<sup>-1</sup> ANA.
- O ácido idolbutírico não favoreceu a formação de calos em explantes radiculares de feijão-caupi.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EINSET, J. W. **A practical guide to woody plant micropropagation**. Arnoldia: Jamaica Plain, v. 46, 1986, p. 36-44.

Embrapa Meio-Norte: **Sistemas de Produção** Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br> Acesso em: 11 fev. 2007.

HUSSEY, G. In vitro propagation of *Gladiolas* by precocious axillary shoot formation, **Scientia Horticulturae**. 6:287-96.1983

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

SERRANO, M.S. ; PINOL SERRA, M.T. **Biotechnologia Vegetal**. Ciencias de la vida p.285. 1996.

**PALAVRAS-CHAVES:** cultura de tecidos, calo, segmento radicular



## Multiplicação *in vitro* de bastão-do-imperador em diferentes concentrações de nitrato de amônia e uréia

Silva Júnior, Jessé Marques<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Carvalho, Janice Guedes de<sup>3</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>4</sup>; Toyota, Márcia<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal (UFLA) bolsista CAPES, e-mail: jesseagronomo@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Professora titular, Depto. De Ciências do Solo (UFLA), e-mail: janicegc@ufla.br; <sup>4</sup>Graduando em Agronomia (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - CNPq, <sup>5</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitopatologia (UFLA) bolsista CNPq, e-mail: mtoyota@yahoo.com.br

### INTRODUÇÃO

A floricultura tropical é uma atividade que está em ascensão no Brasil e no mundo por destacar-se como um agronegócio gerador de renda, fixador de mão-de-obra no campo e adequado como cultura alternativa para pequenos produtores (Lins & Coelho, 2004). No Brasil, existem grandes plantações de flores tropicais, especialmente na região da mata úmida do Nordeste, com destaque para os estados de Pernambuco e Alagoas que já exportam suas flores para outros estados brasileiros (Loges et al., 2005).

As principais espécies de flores tropicais cultivadas no Brasil, pertencentes às famílias Araceae, Heliconiaceae, Musaceae e Zingiberaceae, vegetam naturalmente ou são exploradas em plantios convencionais na faixa tropical da América, Ásia e Pacífico Oeste (Assis et al., 2002). São plantas herbáceas, rizomatosas, perenes de reduzido porte ou arborescentes, caracterizadas por suas brácteas de cores e formas variadas, maior durabilidade pós-colheita, de grande beleza, utilizadas para ornamentação de ambientes.

Neste contexto, insere-se a propagação e cultivo do gênero *Etiligera*, onde se destaca o bastão-do-imperador (*Etiligera elatior* Jack R. M. Smith), pertencente à família Zingiberaceae. Sua propagação é, basicamente, por divisão de touceiras rizomatosas e sementes. Devido à esta prática de propagação vegetativa tradicional, existe a preocupação de disseminação de doenças causadas pelos agentes *Ralstonia solanacearum* (Thammakijawat et al., 1999; Vudhivanich, 2002), *Meloidogyne incognita*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani* em bastão-do-imperador (Lins & Coelho, 2004). Com a propagação *in vitro*, técnica que possibilita a aquisição de material vegetal livre de fitopatógenos, além de se obter maior quantidade de mudas em um curto período de tempo, quando comparado com a propagação vegetativa tradicional.

As principais fontes de N disponíveis para as plantas terrestres são o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e o amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). O  $\text{NO}_3^-$  absorvido pelas raízes, pode ser assimilado nesses órgãos ou nos órgãos aéreos, dependendo da sua disponibilidade e da espécie vegetal. O  $\text{NH}_4^+$  absorvido pela raiz ou produzido por assimilação do  $\text{NO}_3^-$ .

A função do nitrogênio no crescimento e desenvolvimento das plantas é amplamente reconhecida. Entretanto, o efeito benéfico de ambas as formas de nitrogênio ( $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ ) não é bem entendido, já que essas formas e a quantidade de nitrogênio no meio de cultura têm grande influência na taxa de crescimento, morfologia e totipotência celular (Kirby et al., 1987). Além das formas inorgânicas de nitrogênio, podem ser fornecidas as formas orgânicas, as quais são prontamente assimiláveis pelas células vegetais. As formas específicas de nitrogênio orgânico incluem uréia, aminoácidos, poliaminas e ureídeos (Grothge, 1992).

Embora as plantas ornamentais sejam objeto de muita pesquisa, não existem trabalhos realizados com essa espécie na tentativa de se estudar fontes alternativas de nitrogênio no cultivo *in vitro*. Assim, objetivou-se estudar a viabilidade técnica da substituição do nitrato de amônio por uréia, como fonte de nitrogênio no meio de cultura para o cultivo *in vitro* de bastão-do-imperador.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do setor de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Lavras (UFLA) utilizando-se propágulos *in vitro* provenientes de rizomas de plantas adultas.

Fragmentos de rizoma de bastão-do-imparador contendo uma gema foram inoculadas em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina), gelificado com 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, pH ajustado para 5,8 e autoclavado por 20 minutos a 121°C e 1 atm.

Os tratamentos consistiram da substituição de 0, 25%, 50%, 75% e 100% do NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> por uréia, sendo que o balanço final de nitrogênio do meio de cultura MS não foi alterado. A incubação foi realizada em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 67 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Após 60 dias, avaliou-se o número de brotos, comprimento dos brotos (cm) e presença ou ausência de raízes. As variáveis analisadas foram submetidas ao teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e 15 repetições por tratamento, sendo cada uma composta por um tubo de ensaio e cada tudo de ensaio um propágulo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável número de brotações, o melhor tratamento observado foi T1 (100% de nitrato de amônio) com em média 4,26 brotações por explante. Com a adição de uréia a partir do T2 (75% de nitrato de amônio + 25% de uréia) observou-se um certo declínio na taxa de brotação, o qual se permaneceu decrescente nos tratamentos posteriores. Resultados semelhantes foram encontrados por Fráguas et al. (2003) trabalhando com substituição de nitrato de amônio por uréia em *Gloxinia speciosa*, que também é uma espécie ornamental. Os autores verificaram que em concentrações superiores a 20% de uréia houve morte dos propágulos evidenciando um efeito fitotóxico, o qual não foi observado no presente trabalho.

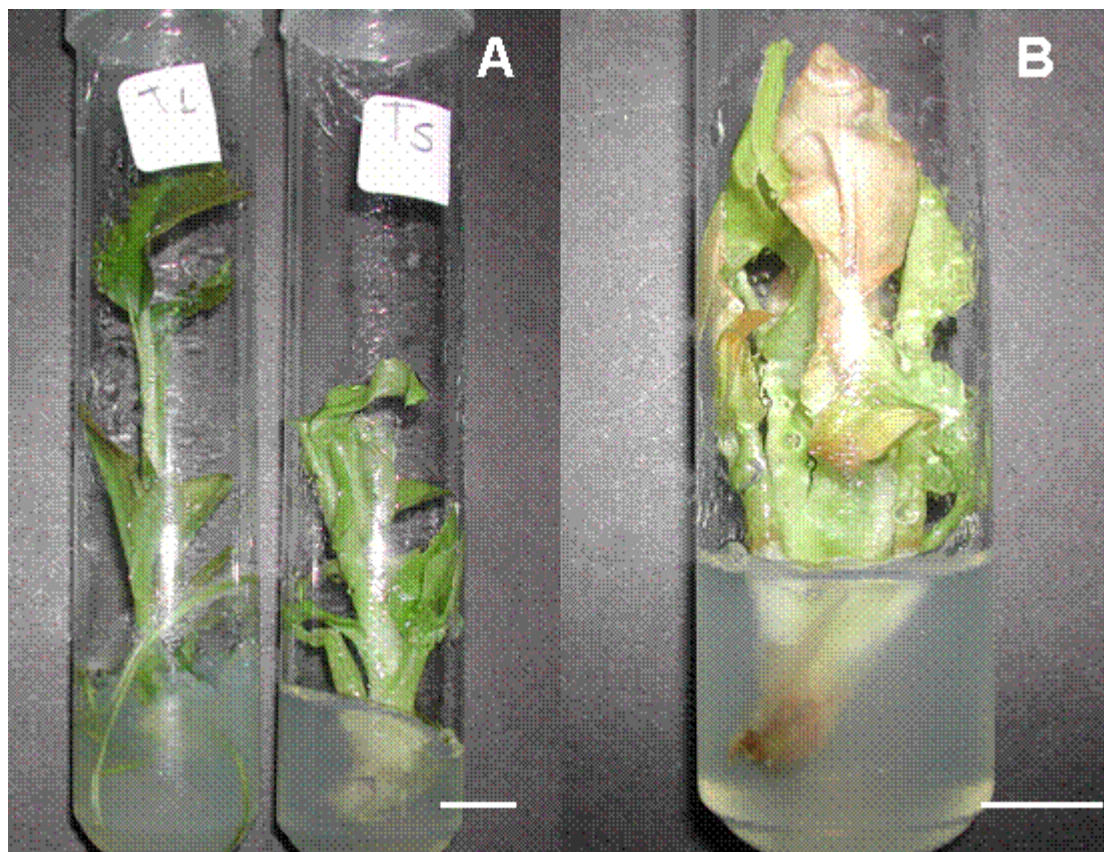
**Tabela 1.** Valores médios das variáveis analisadas, obtidos nos tratamentos de substituição de nitrato de amônio por uréia no meio de cultura em bastão-do-imperador aos 60 dias de cultivo. Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Scott Knott ao nível de 5%.

Tratamento	Nº de brotações	Comprimento médio da maior brotação (cm)	Nº médio de raízes
T1- 100% Nitrato de amônio	4,26 a	8,34 a	4,68 a
T2- 75% de Nitrato de amônio + 25% de Uréia	3,73 b	7,53 a	3,6 b
T3- 50% de Nitrato de Amônio + 50% de Uréia	3,53 b	5,82 b	3,4 b
T4- 25% de Nitrato de Amônio + 75% de Uréia	3,27 b	5,68 b	2,0 c
T5- 100% de Uréia	3,0 b	5,23 b	1,6 c

O melhor resultado para a variável comprimento médio de brotações foi obtido em T1(100% de nitrato de amônio), isto é na concentração original de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  do meio MS (Tabela 1). Quando se adicionou uréia ao meio de cultivo, observou-se uma queda no tamanho das brotações a partir do T2 (75% de nitrato de amônio + 25% de uréia). Resultados semelhantes foram relatados por Marques et al. (1998) trabalhando com fontes de nitrogênio no desenvolvimento de crisântemo *in vitro*, verificaram um menor comprimento de brotações quando se adicionou  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de uréia no meio MS.

O melhor tratamento para a formação de raízes foi o tratamento T1 (100% de nitrato de amônio), ou seja, na ausência de uréia, mas trabalhos realizados por Marques et al. (1998) concluíram que dosagem até  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de uréia adicionada ao meio de cultura favoreceu uma maior formação de raízes que o meio MS original, contrastando com o presente trabalho.

Uma observação interessante foi em relação à coloração das folhas nos tratamentos onde uréia foi adicionada ao meio de cultura. Estas apresentaram uma coloração verde claro, folhas secas, menor desenvolvimento, provavelmente por uma diminuição no teor de clorofila e fitotoxidez ao suplemento com uréia (**Figura 1**).



**Figura 1.** A- aspecto do desenvolvimento de propágulos de bastão-do-imperador nos tratamentos (100% de nitrato de amônio) esquerda e (100% de uréia) direita; B- propágulo de bastão-do-imperador apresentando senescência foliar e desenvolvimento anormal em tratamento (100% de uréia). A barra mede 1 cm.

## CONCLUSÕES

- O tratamento T1 (100% de nitrato de amônio) é o recomendado para multiplicação de bastão-do-imeperador.

- Com a adição de uréia a partir de 25% houve um declínio nas três variáveis analisadas (nº de brotações, comprimento médio da maior brotação e nº de raízes).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, S.M.P., MARINHO R.R.L., GONDIM Jr., M.G.C., MENEZES, M. & ROSA, R.C. T. Doenças e pragas de helicônias. Diseases and pests of heliconias. Recife: UFRPE. 2002.

FRÁGUAS, C. B.; CHAGAS, E. A.; FERREIRA, M. M.; CARVALHO, J. G. & PASQUAL, M. Micropropagação de gloxínia em diferentes concentrações de nitrato de amônio e uréia. Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.4, p.811-815, jul./ago., 2003

GROTHGE, M. T. **Efeito de várias fontes de nitrogênio na multiplicação *in vitro* de clones de *Eucalyptus grandis* HILL ex MAIDEN.** 1992. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1992.

KIRBY, E. G.; LEUSTEK, T.; LEE, M. S. Nitrogen Nutrition. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (Eds.). **Cell and Tissue Culture in Forestry.** Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. v. 1, p. 67-88.

LINS, S. R. O. & COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v 29, n. 3, Brasília, May/June, p. 332-335, 2004.

LOGES, V; TEIXEIRA, M. C F; CASTRO A. C. R. DE & COSTA A S. DA. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**. vol.23 no.3 Brasília Julho/Setembro 2005.

MARQUES<sup>1</sup>, D. A.; SHEPHERD, S. L. K. & e CROCOMO, O. J. Influência de fontes de nitrogênio sobre o desenvolvimento das gemas axilares de explantes caulinares de *Chrysanthemum morifolium* Ramat. cultivado *in vitro*. **Rev. bras. Bot.** v. 21 n. 2 São Paulo, Ago. 1998

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

THAMMAKIJJAWAT, P.; THAVEECHAI, N.; PARADHONUWAT, A.; WANNAKAIROJ, S. & SUTHIRAWUT, S. Bacterial rhizome rot of patumma and detection of seed-borne rhizome. In: **37th Kasetsart University Annual Conference**, 3-5 February, Ed. Oates, C. G. Text and Journal Publication Co, Ltd, Bangkok, Thailand:. 295-302, 1999.

## PALAVRAS-CHAVES

*Etiligera elatior*, Zingiberaceae; cultivo *in vitro*; nitrogênio.

Análises isoenzimáticas em somaclones de bananeira Berlim  
Costa, Deivid Almeida da<sup>1</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>2</sup>; Martins, Luiza Suely  
Semen<sup>3</sup>; Willadino, Lilia<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador do Centro de Tecnologias Estratégicas para o Nordeste – CETENE. Rua Prof. Luiz Freire, 01. Cidade Universitária. Recife-PE. CEP 50740-540. e-mail: [costa.deivid@gmail.com](mailto:costa.deivid@gmail.com); <sup>2</sup>Professora do Depto de Química -(UFRPE), e-mail: [tkrcamara@pq.cnpq.br](mailto:tkrcamara@pq.cnpq.br) .<sup>3</sup>Professora do Depto de Biologia UFRPE, e-mail: [lilia@pq.cnpq.br](mailto:lilia@pq.cnpq.br).

## INTRODUÇÃO

As cultivares comerciais de bananeira produzem frutos por partenocarpia, de modo que os cultivos subseqüentes são normalmente produzidos a partir de brotações que surgem do rizoma da planta mãe. O uso de vitroplantas obtidas por gemação *in vitro* é uma dos principais avanços no cultivo da bananeira na última década. Entre as plantas cultivadas em larga escala, a bananeira é a mais largamente propagada *in vitro* atingindo cerca de 50 milhões de plantas por ano (CIRAD, 2007). Quando se utiliza a micropropagação para a propagação clonal em massa, é esperado que os clones individuais apresentem o mesmo genótipo da planta mãe. Entretanto, variantes genéticas resultantes do processo de cultivo *in vitro* foram detectados em várias culturas (Larkin & Scowcroft, 1981) e denominados de variantes somaclonais. A variação somaclonal é caracterizada por apresentar modificações genéticas propriamente ditas, e não apenas variações epigenéticas. A freqüência de variação somaclonal não pode ser prevista por ser dependente de vários fatores. Entre estes fatores destacam-se a espécie, o tipo de explante, a composição do meio de cultura, as condições físicas do cultivo *in vitro*, a duração entre os sucessivos subcultivos e o número de subcultivos. Os variantes somaclonais podem ser identificados por caracteres morfológicos, bioquímicos, fisiológicos ou genéticos. Muitos trabalhos indicam que as variações podem ser detectadas pelo número de cromossomas, padrões isoenzimáticos e polimorfismo do DNA (RAPD). O presente trabalho visou examinar padrões isoenzimáticos (esterase, peroxidase e fosfatase) em clones de bananeira do genótipo Berlim (diplóide), provenientes de três anos de sucessivos subcultivos (45 dias entre subcultivos).

## MATERIAL E MÉTODOS

As plantas do genótipo diplóide Berlim, foram cultivadas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE, no período de novembro de 2004 a abril de 2007, a partir de mudas *in vitro* obtidas do banco de germoplasma do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical - CNPMF/EMBRAPA. A cada 45 dias as mudas foram subcultivadas em meio basal de MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 6-benzilaminopurina (BAP) na concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup>. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento à temperatura de 25°C ± 2°C com luz branca fria a 47,6 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, com fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados três sistemas isoenzimáticos: esterase (EST), peroxidase (PRX) e fosfatase ácida (ACP). Para as análises isoenzimáticas foram utilizadas amostras foliares de 8 clones do genótipo Berlin mantidos por três anos *in vitro*. O tecido

vegetal foi macerado em almofariz, em banho de gelo, com 2,5 mL de tampão Scandalios (1969), 300 mg de sacarose e 300 mg de polivinilpirrolidona (PVP). Os homogenados foram centrifugados a 10.000 rpm, durante 1 minuto, a 4 °C, e o sobrenadante foi usado na identificação das isoenzimas. Do sobrenadante foram retirados 10 µL de cada amostra e aplicados nos poços dos géis de poliacrilamida a 7%. A migração eletroforética foi conduzida a 4 °C, a um potencial de 40V, até que a linha de frente atingisse 7,0 cm em direção ao pólo positivo. Após a corrida eletroforética os géis foram corados em soluções específicas e fotografados. O gel de acrilamida usado na corrida eletroforética foi preparado com tampão borato de lítio 0,2 M a pH 8,3; tampão Tris-citrato 0,2 M a pH 8,3; acrilamida estoque (acrilamida 95%, bisacrilamida 5% e H<sub>2</sub>O destilada); Temed e persulfato de amônia. Para a resolução dos sistemas enzimáticos, foi adotada a metodologia proposta por Alfenas et al. (1998), com algumas modificações. Sistema peroxidase: a coloração ocorreu no escuro, à temperatura ambiente, por duas horas. Foram usados 0,065g de 3-amino-9-etilcarbazole; 5,0mL de dimetilformamida; 2,0 mL de CaCl<sub>2</sub>; 4 gotas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30%; 85 mL de tampão acetato de sódio 0,05 M, pH 5,0. Sistema α-esterase e β-esterase: a coloração ocorreu no escuro durante 1 hora a 37°C. Fosfatase ácida: a coloração ocorreu no escuro durante 5 horas a 37°C, de acordo com o método de Scandalios (1969), modificado. Nas cubas, para as corridas eletroforéticas, foram usados: tampão borato de lítio 0,2 M, pH 8,3. Todos os géis, após a coloração, foram lavados e fixados em solução contendo álcool metílico + ácido acético + água destilada (1:1:1 v/v), por 20 minutos e, em seguida, fotografados e avaliados para a confecção dos zimogramas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os três sistemas de isoenzimas utilizados, EST, PRX e ACP, geraram oito bandas nos oito somaclones avaliados (Figuras 1 e 2). Os somaclones foram selecionados ao acaso, de um conjunto de 178 somaclones de bananeira sem variações morfológicas aparentes após três anos de cultivo *in vitro*. Não foram detectadas alterações quanto ao número e posição das bandas em nenhum dos três sistemas. Em um trabalho similar realizado por Flores e colaboradores (2000) a avaliação de somaclones de morangueiro, sem variações morfológicas durante o cultivo *in vitro*, foi detectado o mesmo padrão de bandas do sistema EST para todos os genótipos. O sistema ACP, entretanto, apresentou polimorfismo e permitiu identificar variantes somaclonais. Durante o processo de micropropagação de abacaxi, Feuser et al. (2003) compararam o sistema de imersão temporária com o sistema estacionário no que se refere à indução de variação somaclonal. Somente a combinação entre os dados obtidos por análises isoenzimáticas e os obtidos por RAPD permitiram detectar que o sistema de imersão temporária induziu menor variação somaclonal do que o sistema estacionário. Vale salientar que na comparação dos oito somaclones de bananeira Berlim discutidos neste trabalho observou-se variação na intensidade das bandas de EST e PRX.

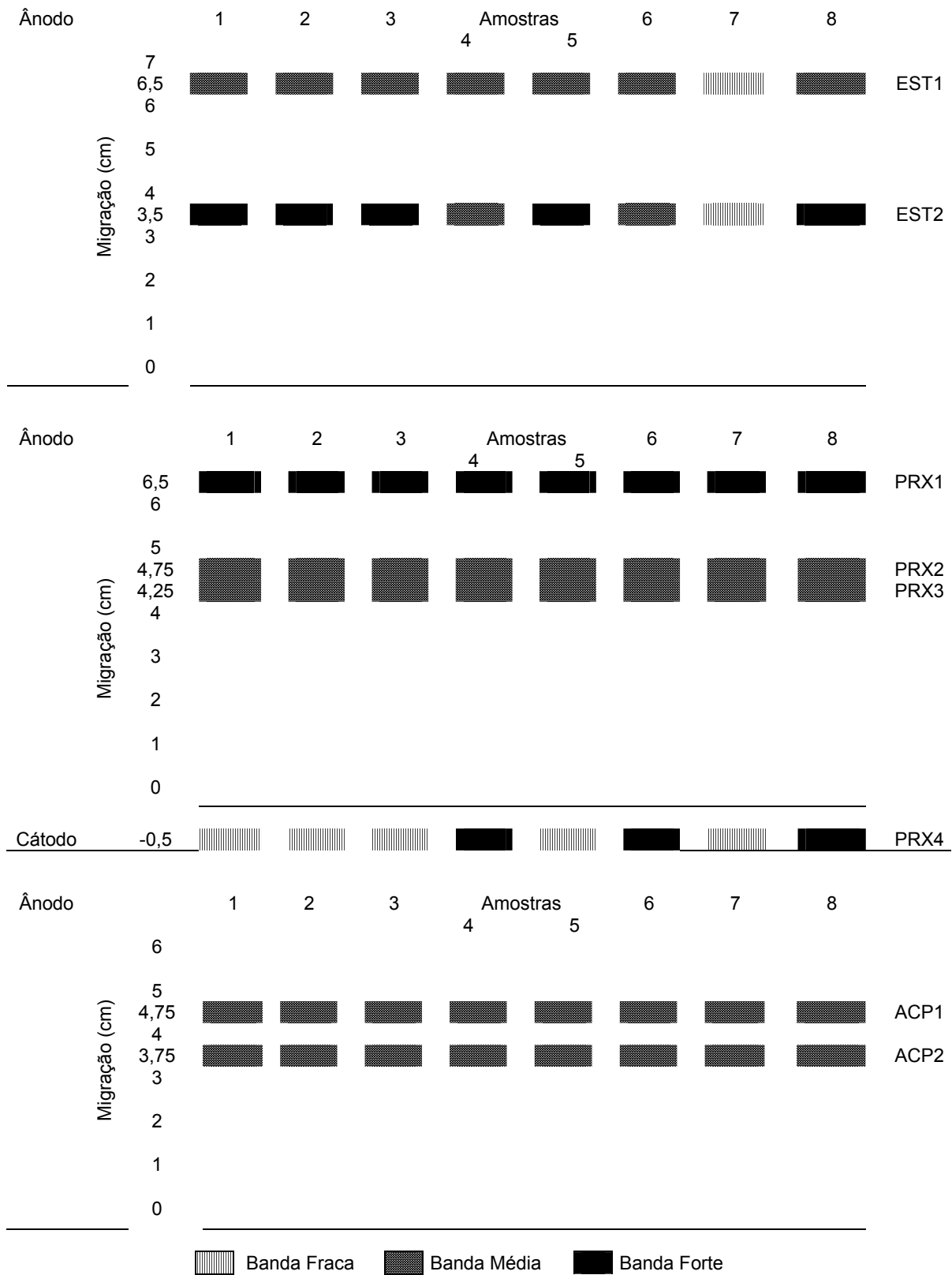


Figura 1 Zimogramas dos sistemas esterase, peroxidase e fosfatase ácida de amostras de oito somaclones de bananeira diplóide Berlim cultivadas *in vitro* durante três anos.



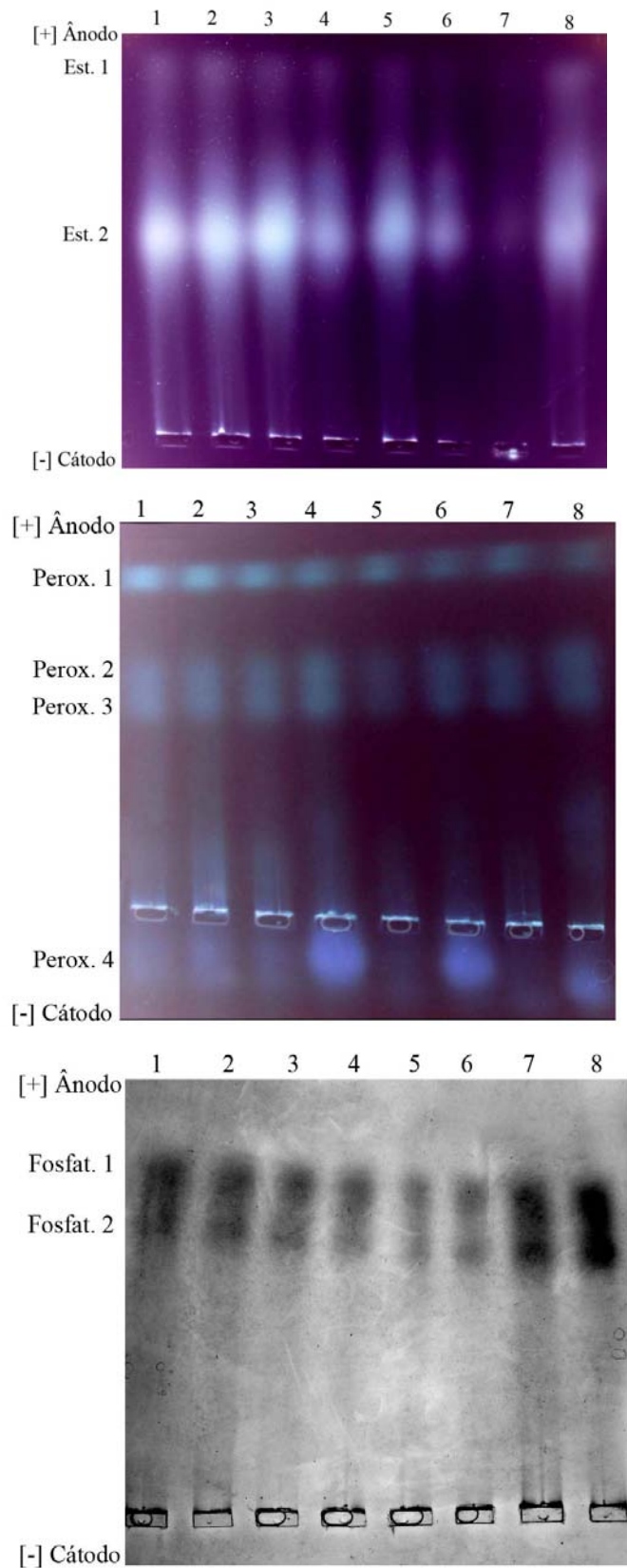


Figura 2. Géis eletroforéticos de isoformas de esterase, peroxidase e fosfatase ácida de amostras de oito somaclones de bananeira diplóide Berlim cultivadas *in vitro* durante três anos.



A ausência de variação somaclonal detectável pelos sistemas isoenzimáticos pode ser consequência do pequeno número de sistemas avaliados uma vez que as variações ocorrem ao acaso e, portanto, nenhum sistema pode ser considerado mais eficiente do que outro. Além do exposto, é importante frisar que as análises de enzimas detectam apenas alterações genéticas que modificam a estrutura (Alfenas et al., 1991) e/ou a carga elétrica das proteínas, em regiões do DNA que correspondem a um número limitado de genes que codificam para as enzimas (Torggler et al., 1995), não cobrindo, portanto, todo o genoma. Por outro lado, estudos baseados no DNA possibilitam a detecção de alterações genéticas, em regiões codificadoras ou não codificadoras. Desta forma, estudos neste sentido devem ser realizados visando confirmar e caracterizar possíveis alterações genéticas nos diversos clones avaliados neste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C. (Ed.). Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa, MG: UFV, 1998. 574p.

CIRAD Disponível em [http://www.cirad.fr/fr/le\\_cirad/index.php](http://www.cirad.fr/fr/le_cirad/index.php) Acesso em 15/04/2007.

FEUSER, S.; MELER, K.; DAQUINTA, M.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Genetic fidelity of micropropagated pineapple plantlets assessed by isozyme and RAPD markers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.72, p.221-227, 2003.

FLORES, R.; ROCHA, B.G.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN, E.; FORTES, G.R.L. Análises isoenzimáticas em somaclones de morangueiro c.v. Vila Nova. **Ciência Rural**, v.30, p.993-997, 2000.

LARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. **Applied Genetic**, v.60, p.547-554, 1981.

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

SCANDALIOS, J. G., Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants. **Biochemical Genetics**, New York, v.3, p. 37-79, 1969.

## Enraizamento *in vitro* de brotações adventícias de variedade botânica de mangabeira do Nordeste.

Freire, Karla Cristina Santos<sup>1</sup>; Machado, Caroline Araújo<sup>2</sup>; Lédo, Ana da Silva<sup>3</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>4</sup>; Silva Junior, Josué Francisco da<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1396, email: karla@cpatc.embrapa.br; <sup>2</sup>Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1396, email: carol@cpatc.embrapa.br; <sup>3</sup>Pesquisadores da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: analedo@cpatc.embrapa.br, josue@cpatc.embrapa.br; <sup>4</sup>Pesquisadora do Deagro, email: sarah@cpatc.embrapa.br.

O cultivo comercial da mangabeira no Nordeste depende, entre outras, da determinação de técnicas adequadas de propagação, principalmente assexuada. O cultivo *in vitro* é um procedimento significativo na propagação de diferentes espécies. Alguns problemas têm sido identificados na micropropagação de variedades botânicas de mangabeira da região Nordeste, dentre eles, destaca-se a dificuldade de enraizamento *in vitro*. Com o objetivo de avaliar o efeito de reguladores de crescimento na rizogênese, brotações adventícias de mangabeira oriundas do segundo subcultivo *in vitro* foram transferidas para meio de cultura ½ MS com 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose, gelificado com 0,3% de phytigel®. Foram avaliadas duas concentrações de AIB (1,0 e 1,5 mg L<sup>-1</sup>) combinadas com 0,01 mg L<sup>-1</sup> de BAP na ausência e presença de carvão ativado (1%). O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 com cinco repetições. Cada parcela foi constituída de cinco tubos de ensaio contendo uma brotação/tubo. Foram avaliadas, aos 30 dias, as percentagens de brotações com calo, com raiz e número de raízes/brotação. Houve efeito significativo da interação entre os fatores. A concentração de 1,5 mg L<sup>-1</sup> de AIB combinada com 0,01 mg L<sup>-1</sup> de BAP, na ausência de carvão ativado, promoveu a formação de calo em 80% das brotações e a emissão de raízes em 30% das brotações (1,07 raízes/brotação). Entretanto, as mesmas destacaram-se com facilidade da base do calo e não apresentaram ramificações e pêlos absorventes. Nos demais tratamentos não foi observada a indução de raízes. Estudos adicionais com a avaliação do efeito de outros reguladores de crescimento, pré-acondicionamento das brotações e alongamento deverão ser conduzidos para indução *in vitro* de um sistema radicular eficiente.

### PALAVRAS-CHAVE

*Hancornia speciosa* Gomes; Apocynaceae; rizogênese; cultivo *in vitro*.

## Micropropagação de lavanda cultivar Lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex *Loiseleur*).

Dal Vesco, Lírio Luiz<sup>1</sup>; Jacomel Júnior, Nelson<sup>2</sup>; Caprestano, Clarissa Alves<sup>3</sup>; Holderbaum, Daniel Ferreira<sup>3</sup>; Guerra, Miguel Pedro<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais-RGV, Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC – Florianópolis, SC, CEP 88034-001, Fone (48) 3721-5336, email: [lirio@cca.ufsc.br](mailto:lirio@cca.ufsc.br); <sup>2</sup> Eng. Agr. MSc., Associação de Agricultura Biodinâmica do Sul. – Florianópolis, SC, CEP 88.034-002, Fone: (48) 3334-3712, email: [terranovaestrela@gmail.com](mailto:terranovaestrela@gmail.com); <sup>3</sup> Acadêmico de Agronomia, Bolsista IC/CNPq, CCA/UFSC, email: [clarissacapre@hotmail.com](mailto:clarissacapre@hotmail.com); e email: [niko@grad.ufsc.br](mailto:niko@grad.ufsc.br); <sup>4</sup> Prof. Dr. RVG/Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC – Florianópolis, SC, CEP 88034-001, Fone (48) 3721-5331, email: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

### INTRODUÇÃO

As espécies de lavandas pertencem à família Lamiaceae (Labiatae) e o gênero *Lavandula* contém mais de 30 espécies e, tem seu habitat natural na Europa, na África e na Ásia. Entre as cultivares de maior importância mundial é a Lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex *Loiseleur*), híbrido estéril entre *L. angustifolia* Mill. e *L. latifolia* Medic, que está sendo amplamente cultivada na região do Mediterrâneo para a produção e óleo essencial (Dronne et al., 1999). A floração da Lavandin é vigorosa e seu óleo essencial diferencia-se daquele da *L. angustifolia* tendo notas menos doces. A produção do óleo essencial das lavandas é obtida a partir de flores e das hastas florais que, de acordo com a origem, apresenta características distintas. O óleo essencial tem alto valor, sendo empregado na indústria farmacêutica e de cosméticos e demonstra propriedades antimicrobianas e antifúngicas (Vokou et al., 2002; Cott, 2005).

No Brasil, o mercado de lavanda é ainda incipiente e baseia-se em consumidores domésticos de mudas e flores frescas e é encontrado em feiras livres e nas floriculturas. Seu emprego tem sido associado ao uso como medicamento fitoterápico, condimentos e aromaterapia.

A propagação convencional das lavandas é feita a partir de estacas herbáceas, porém, apresenta baixa eficiência e quando produzem sementes estas apresentam dormência. Uma alternativa frente estas limitações é a utilização de técnicas de cultura de tecidos vegetais o que permite a propagação clonal massal de genótipos elites por meio da captura e fixação do ganho genético.

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver e aperfeiçoar o protocolo para a micropropagação da lavanda cultivar Lavandin em meios de cultura constituídos por diferentes formulações salinas e concentrações de BAP.

### MATERIAL E MÉTODOS

Gemas axilares excisadas de plantas matrizes, mantidas em Fitotron foram submetidas a um processo de desinfestação com álcool (70%), hipoclorito de sódio (40%) e três enxágües em água autoclavada. Para a indução de brotos, os segmentos nodais foram inoculados em tubos de ensaio (25 x 150 cm), contendo 15 ml do meio de cultura MS líquido, sobre ponte de papel, suplementado com BAP (0,5 µM), vitaminas de Morel (Morel & Wetmore, 1951) e com o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Após a indução os brotos foram repicados para o mesmo meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) + BAP (0,5 µM) e geleificado.

**ENSAIO 1.** Para a indução a proliferação de brotos foram testadas quatro concentrações de BAP (0; 0,5; 0,75 e 1,0 µM) suplementados ao meio de cultura MS geleificado com agar-agar (7g L<sup>-1</sup>). Foram utilizados brotos com um segmento de nó e duas gemas axilares, provenientes do terceiro subcultivo no meio de cultura de indução. Utilizou-se um delineamento completamente casualizado - DCC e, cada unidade experimental foi

constituída de cinco tubos de ensaios com dois segmentos de nó por tubo, repetidos quatro vezes. Após quatro semanas em cultivo foi avaliado o número de brotos por explante.

**ENSAIO 2.** Brotos da cultivar Lavandin, originados do ensaio 1, foram empregados como explantes para testar o efeito de diferentes formulações salinas na taxa regenerativa. O delineamento do experimento foi um fatorial com oito tratamentos: quatro diferentes formulações salinas MS; LPm (Von Arnold & Eriksson, 1981); QL (Quoirin et al., 1977), e DSD1 (Silva & Doazan, 1995) combinado com dois níveis de BAP (0 e 1  $\mu\text{M}$ ). Cada unidade experimental foi constituída de cinco tubos de ensaios com dois segmentos de nó, contendo quatro gemas, por tubo em forma de BCC repetidas quatro vezes. Após quatro semanas de cultivo foi avaliado o número de nós e de brotos por explante.

Brotos com altura superior a 3 cm foram transferidos para fitotron com temperatura de  $25 \pm 2$  °C, intensidade luminosa de  $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  com lâmpadas de vapor de sódio de modelo tubular de 400w, 15 dias antes da aclimatização. Após o isolamento dos brotos-microestacas foram acondicionados em bandejas de isopor de 128 células com substratos numa mistura na proporção de 1:2:1 (v/v/v) de: Plantmax HT®; Casca de arroz carbonizada e areia média, e mantidos em ambiente de fitotron por mais 15 dias. Em seguida foram transferidas para túnel com irrigação intermitente. Após 60 dias as mudas foram acondicionadas em recipientes plásticos, com a mesma mistura de substrato, e mantidas nas condições de campo.

Os dados coletados de cada parâmetro foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste Student-Newman-Keuls (SNK-5%) de separação de médias, quando necessário os dados originais foram transformados em  $\log(x+1)$  ou  $(x+0,5)^{0,5}$ , segundo as recomendações de Steel & Torrie (1980) e Compton (1994).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A excisão de brotações jovens de plantas matrizes mantidas em fitotron permitiu com sucesso a desinfestação dos explantes. A indução a proliferação de brotos de lavanda *in vitro* ocorreu em duas semanas após o isolamento das gemas (Figura 1a).

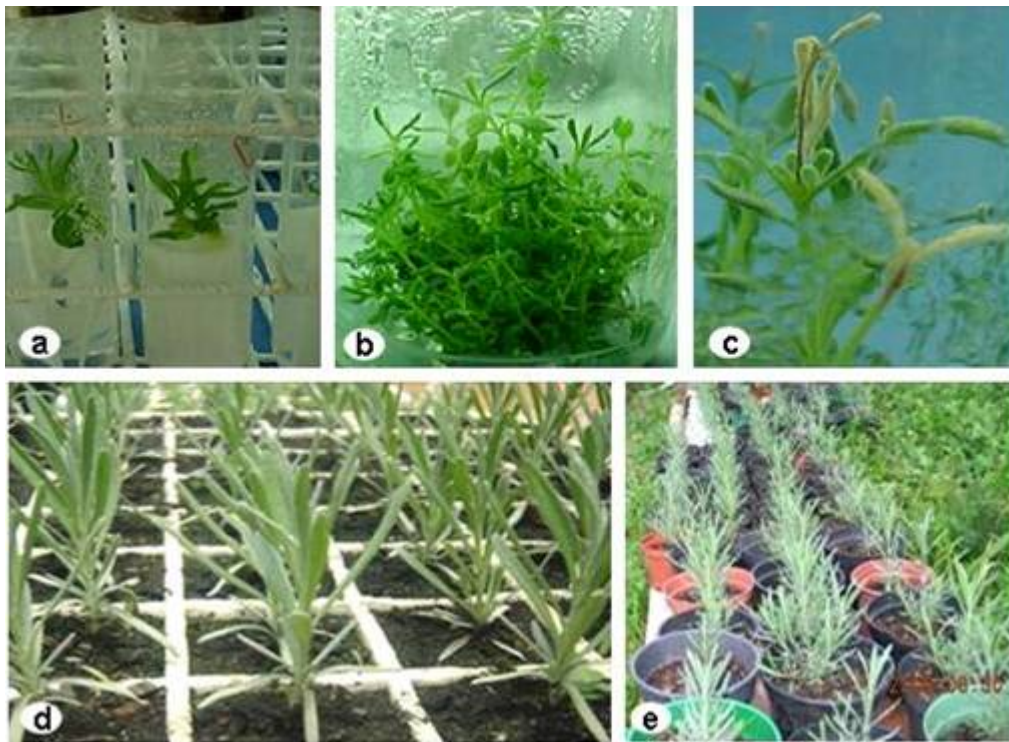
No primeiro ensaio o BAP (1,0  $\mu\text{M}$ ) suplementado ao meio MS resultou em valores significativamente superiores ( $p=0,05$ ) para o número médio de brotos por explantes (6,5 brotos) da cultivar Lavandin, após 30 dias de cultivo (Figura 2). Alta taxa de proliferação de brotos de *Lavandula viridis* também foi obtida com o cultivo em meio MS suplementado com 0,67  $\mu\text{M}$  de BA, após quatro semanas em cultivo (Dias et al., 2002).

A evolução do número de brotos em resposta aos níveis de BAP testados (Figura 2) seguiu um modelo quadrático da análise de regressão. A confiabilidade destas trajetórias foi expressa pelos altos valores do coeficiente de determinação ( $r^2= 0,99$ ) e T-valor significativo ( $p<0,05$ ). Em sistemas biológicos, consideram-se altos aqueles valores de  $r^2$  que ocorrem entre 0,5 e 0,9 (Compton, 1994).

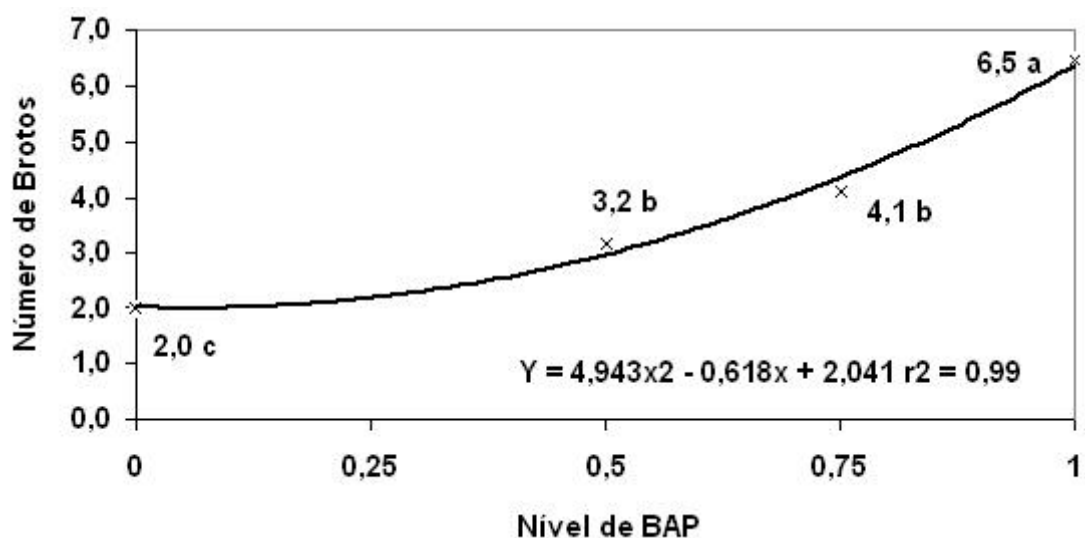
O aumento do nível de BAP também induziu um maior número de brotos hiperhídricos enquanto que a ausência de BAP no meio de cultura resultou em maior alongamento de brotos, procedimento este que pode ser indicado para o cultivo de brotos que serão destinados para a aclimatização. O cultivo de *L. vera* em meio de cultura MS suplementado com altos teores dos fitorreguladores TDZ (4,5  $\mu\text{M}$ ) e BAP (4,4 a 8,8  $\mu\text{M}$ ) também resultou na formação de brotos hiperhídricos (Andrade et al., 1999). Em estudos semelhantes com a espécie *Lavanda angustifolia* também se verificou a presença de brotos hiperhídricos em meio de cultura suplementado com BAP (Caprestano et al., 2005).

No segundo ensaio o BAP (1  $\mu\text{M}$ ) também resultou em valores significativamente superiores ( $p<0,01$ ) para o número médio de brotos e de nós por explante comparativamente aos meios isentos deste fitorregulador. A suplementação de BAP (1  $\mu\text{M}$ ) à formulação salina QL resultou no mais alto número médio de nós (4,7 nós) e brotos por explante (2,3 brotos). No entanto, estes valores não se diferenciaram para o teste SNK (5%) em relação aos resultados obtidos com o meio MS + 1  $\mu\text{M}$  de BAP (4,6 nós e 2,4 brotos) após 30 dias de cultivo (Figura 3). Contudo, brotos regenerados em meio contendo a

formulação salina QL mostraram-se mais vigorosos e com menor incidência de hiperhidricidade (Figura 1b) e com necrose das folhas e dos ápices caulinares (Figura 1c).

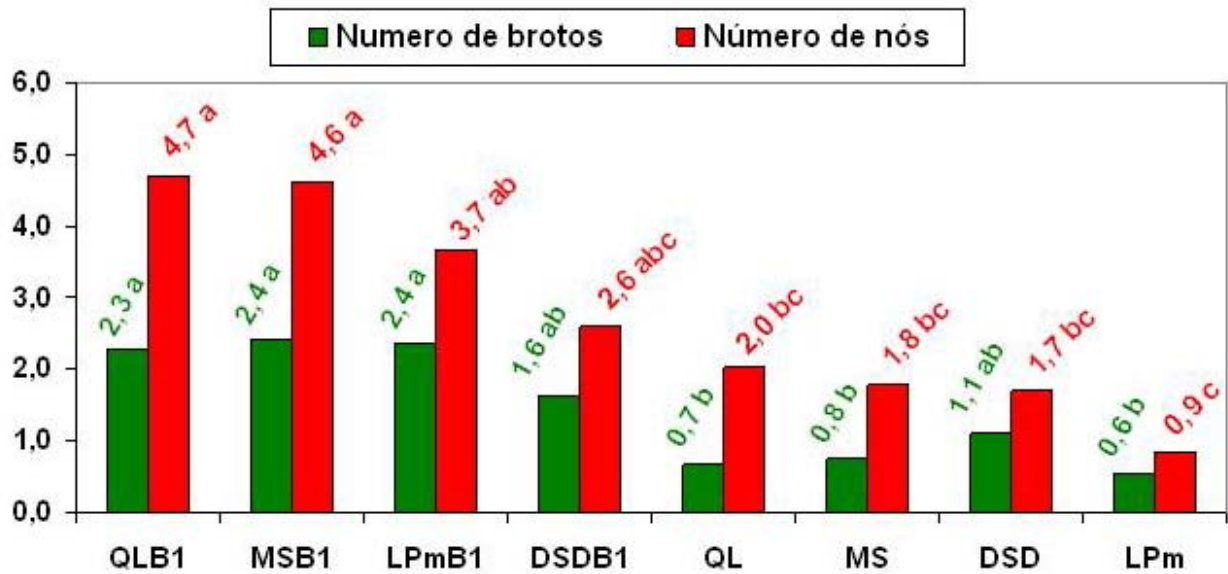


**Figura 1.** Micropropagação de lavanda cultivar Lavandin. **a)** Isolamento e Indução de gemas; **b)** Proliferação de brotos em meio de cultura básico QL + BAP (1 µM); **c)** Necrose do ápice em meio de cultura MS + BAP (1 µM); **d)** Mudas aclimatizadas após 45 dias em condições *ex vitro* e; **e)** Transferência para vasos após 90 dias.



**Figura 2.** Número médio de brotos/explante de Lavandin em resposta ao BAP (0, 0,5, 0,75 e 1 µM) suplementado ao meio de cultura MS, após quatro semanas de cultivo. \*Média de três repetições. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas,

indicam valores que diferem para o teste SNK (5%). CV(%) = 10,6. Dados transformados em log (x+1).



**Figura 3.** Número médio de brotos e nós por explante de Lavandin em resposta a diferentes formulações salinas, (MS-Murashige & Skoog, 62; LPm - email: Von Arnold & Eriksson, 1981; QL-Quoirin et al., 1977, e DSD1-Silva & Doazan, 1995), isenta ou suplementada com 1  $\mu$ M de BAP (B1) após quatro semanas em cultivo. \*Média de três repetições. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada parâmetro, indicam valores que diferem para o teste SNK (5%). CV(%) = 17,4; dados transformados em  $(x + 0,5)^{0,5}$ .

Estes fatores foram identificados no primeiro ensaio e durante as repicagens que antecederam para obtenção da fonte de explante para os experimentos. Estes eventos provavelmente influenciaram na redução da taxa média de multiplicação no ensaio 2, em relação ao ensaio 1. Por outro lado, a ausência de BAP no meio de cultura em todas as formulações salinas testadas, resultou em brotos mais alongados, ausência de brotos hiperhídricos e de coloração verde menos intenso.

Broto mais vigorosos com ou sem raízes e não hiperhídricos foram aclimatizados com sucesso em substratos e quando mantidos em ambiente controlado resultaram em mais de 80% de sobrevivência das mudas que mostraram um bom desenvolvimento após 45 dias (Figura 1d). Mudas transplantadas para recipientes plásticos com substratos baseados numa mistura na proporção de 1:2:1 (v/v/v) de: Plantmax HT ®; Casca de arroz carbonizada e areia média, tiveram excelente desenvolvimento em vaso a campo, após 90 em condições *ex vitro* (Figura 1e).

## CONCLUSÃO

A micropropagação da cultivar Lavandin é favorecida com a suplementação de 1,0  $\mu$ M de BAP ao meio de cultura básico MS. Quando se emprega a formulação salina QL suplementada com 1,0  $\mu$ M de BAP observa-se um melhor desenvolvimento dos brotos, com menor frequência de brotos vitrificados e com necrose foliar e apical. Brotos com altura superior a 3,0 cm com ou sem raiz quando transferidos para substratos, acondicionados em bandejas de isopor são aclimatizados com sucesso.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, LB; ECHEVERRIGARAY, S; FRACARO, F.; PAULETTI, GF.; ROTA L. The effects of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (*Lavandula vera* DC). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.56, p. 79–83, 1999.

CAPRESTANO, C. A.; STEINMACHER, D. A.; DAL VESCO, L. L.; JACOMEL JUNIOR, N.; GUERRA, M. P. Micropropagação de *Lavandula angustifolia* In: 3º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2005, Gramado - RS. **Anais ...** Passo Fundo - RS: Embrapa Trigo, 2005.

COMPTON M. Statistical methods suitable for the analysis of plant tissue culture data. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.37, p.217-242, 1994.

COTT, J. Lavander: The Genus *Lavandula*. **Phytomedicine**, v.12, p.160, 2005.

DIAS, M.C.; ALMEIDA, R.; ROMANO A. Rapid clonal multiplication of *Lavandula viridis* L'H'er through *in vitro* axillary shoot proliferation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** v.68, p. 99–102, 2002.

DRONNE, S.; JULLIEN, F.; CAISSARD, J.-C.; FAURE, O. A simple and efficient method for *in vitro* shoot regeneration from leaves of lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loiseleur). **Plant Cell Reports**, v.18, p. 429–433, 1999.

MOREL, G.M.; WETMORE, R.H. Tissue culture of monocotyledons **American Journal of Botany**, v. 38, p.138-140, 1951.

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

QUOIRIN M.; LEPOIVRE R.; BOXUS P., Un premier bilan de dix années de recherche sur la culture de méristèmes et la multiplication *in vitro* de fruitiers ligneux. C.R. **Recherches Agronomiques**, p. 93-117, 1977.

SILVA, A. L. ; DOAZAN, J. P. . Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de vigne *in vitro*. **Journal International Des Sciences de La Vigne Et Du Vin, Bordeaux** (França), v. 29, n. 1, p. 01-09, 1995.

STEEL., R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics** – A biometrical approach. 2. Ed. New York: McGraw-Hill Book Co. 1980, 633p.

VOKOU, D.; CHALKOS, D.; KARAMANLIDOU, G.; YIANGOU M. Activation of soil respiration and shift of the microbial population balance in soil as a response to *Lavandula stoechas* essential oil. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 4, p.755-768, 2002.

VON ARNOLD, S.; ERIKSSON, T. *In vitro* studies of adventitious shoot formation in *Pinus contorta*. **Canada Journal Botany**, v.59, p. 870-874, 1981.

Palavras Chave: Micropropagação, *Lavandula x intermedia*, Lavandin, Lavanda.

## Efeitos de fontes de Silício e diferentes meios de cultura na propagação *in vitro* de orquídeas.

Rodrigues, Joyce Dória<sup>1</sup>; Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Santos, Jean Carlos de Souza<sup>4</sup>; Silva, Andrieli Leão Pereira da<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG, e-mail: [filipealmendagna@yahoo.com.br](mailto:filipealmendagna@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [fvilla2003@libero.it](mailto:fvilla2003@libero.it); <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>4</sup>Aluna de graduação em Agronomia, Cesur, Rondonópolis, MT, e-mail: [andrielileao@hotmail.com](mailto:andrielileao@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

As orquídeas são conhecidas não só pela sua importância ornamental, mas também industrial. Ocorrem em quase todas as regiões da Terra, com exceção dos pólos e desertos, sendo mais freqüentes e exuberantes nos trópicos (Silva, 2003). Entre estes se localiza o Brasil, portador de um invejável banco de germoplasma, tornando-se também responsável pela sua preservação. O elevado número de espécies e híbridos tropicais possibilita variadas formas, cores e flores, exploradas comercialmente em todo mundo. Podem ser propagadas tanto por meio de sementes como vegetativamente, sendo que nesta última utiliza-se a cultura de tecidos onde se obtém uma grande quantidade de mudas em um curto espaço de tempo. Esta técnica tem sido utilizada, entre outras, para estudos de micropropagação e nutrição mineral (Arditti & Ernst, 1993).

Os meios nutritivos utilizados para a cultura de tecidos de plantas fornecem substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). No entanto, as exigências nutricionais para o crescimento ótimo de um tecido *in vitro* podem variar com a espécie e, mesmo na própria planta, explantes de diferentes partes podem requerer meios distintos para o crescimento satisfatório (Pasqual, 2001).

O silício (Si) é absorvido pelas plantas em grandes quantidades. Em muitas espécies os teores encontrados nos tecidos superam os de nitrogênio e potássio, nutrientes majoritários para as plantas, considerado um componente essencial, atualmente incluído como micronutriente. Depois do O<sub>2</sub>, é o elemento mais abundante da crosta terrestre, sendo o maior componente de minerais do grupo dos silicatos. Ocorre em altos teores em solos minerais, principalmente na forma de silicatos (Malavolta et al., 1997).

A sílica solúvel tem sido pouco estudada, principalmente pelo fato do silício não ser elemento essencial às plantas. Entretanto inúmeros trabalhos em campo têm demonstrado o efeito benéfico da sua utilização em diversas culturas. A ação benéfica do silício tem sido associada a diversos efeitos indiretos como aumento da eficiência da capacidade fotossintética, redução da transpiração e aumento da resistência mecânica das células. A falta de informações sobre o uso de Si em orquídeas (*in vitro/ex vitro*) justificou o presente trabalho, que objetivou avaliar diferentes fontes de Si sobre características de crescimento e multiplicação *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de *Cattleya loddgesii*, obtidas através de germinação *in vitro* de sementes oriundas de auto-fecundação, foram submetidas à uniformização, em meio de cultura KC (Knudson C, 1946) modificado, durante três meses. Após este período, cada tubo de ensaio contendo uma plântula de aproximadamente 1,0 cm de comprimento, 15mL dos meios de cultivo; foi acrescido de silicato de sódio (0, 5, 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>), em todas as combinações possíveis. Os meios de cultura (MS, 1962; Knudson, 1946; WPM, Loyd & McCown, 1980 e DSD1, Silva & Doazan, 1995) tiveram seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1 e solidificado com 5% de ágar antes do processo de autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com irradiância em torno de 35 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, temperatura de 25±1°C e fotoperíodo de 16 horas diárias.



O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições e 20 plântulas por tratamento. Ao final de 120 dias foram avaliados número de folhas, número de brotos, número de raízes, comprimento médio de raízes e da parte aérea. Os dados quantitativos foram comparados por meio de regressão polinomial, empregando-se o Software Sisvar (Ferreira, 2000) e os dados qualitativos foram comparados por teste de médias Scott-Knott (1974).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando-se o teste F ao nível de 5% de probabilidade, verificou-se significância apenas para os meios de cultura estudados em relação ao número de brotos, comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento da maior raiz. Para o comprimento da maior raiz de *Cattleya loddgesii* observou-se significância para os meios de cultura e a fonte de silício separadamente. Não se verificou interação significativa para o número de folhas e peso da matéria fresca (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância para as características número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR) e peso da matéria fresca da parte aérea (PMFPA) de plântulas de *Cattleya loddgesii*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios					
		NF	NB	CPA	NR	CMR	PMFPA
MC	3	9,347 <sup>n.s.</sup>	1,819*	5,4223*	8,6375*	17,625*	0,0258 <sup>n.s.</sup>
Silício	3	5,777 <sup>n.s.</sup>	0,2801 <sup>n.s.</sup>	0,6574 <sup>n.s.</sup>	0,7188 <sup>n.s.</sup>	1,739*	0,0195 <sup>n.s.</sup>
MC x silício	9	7,127 <sup>n.s.</sup>	0,6739 <sup>n.s.</sup>	0,238 <sup>n.s.</sup>	1,6375 <sup>n.s.</sup>	0,6319 <sup>n.s.</sup>	0,0115 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	64	5,389	0,3686	0,3571	1,5841	0,5458	0,0181
Total	79						
CV (%)		29,33	33,69	24,03	29,69	24,78	51,85

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; MC = meio de cultura; n.s. = não significativo.

A variável número de folhas não apresentou significância para os fatores estudados, nem houve interação entre eles. Dessa forma, para a variável em questão não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 1).

Para a variável número de brotos houve significância apenas para o fator meio de cultura. Pela Tabela 2, verifica-se que melhores resultados foram obtidos com os meios MS (2,07) seguido do Knudson (1,98) e do WPM (1,77). O meio DSD1 mostrou-se inferior (1,39) aos demais para esta variável.

Tabela 2. Número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e comprimento da maior raiz (CMR) de plântulas de orquídea *in vitro* cultivadas em diferentes meios de cultivo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Meios de cultura	NB	CPA	NR	CMR
MS	2,07 a	1,74 b	3,40 b	1,58 b
Knudson	1,98 a	2,52 a	4,07 b	3,37 a
WPM	1,77 a	2,85 a	4,91 a	3,54 a
DSD1	1,39 b	2,84 a	4,58 a	3,44 a

Médias seguidas por letras iguais, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Maior número de brotos foi obtido em meio MS. Em contrapartida, piores resultados para essa variável foram verificados no meio de cultivo DSD1, devido ao fato desse meio possuir baixa concentração de sais na sua composição (Krikorian, 1991). Segundo Pasqual

(2001), o aumento nas concentrações dos sais, principalmente amônio e nitrato, no meio MS, proporciona melhor crescimento de células e tecidos de plantas, tornando-se o meio de cultura mais utilizado em trabalhos com cultura de tecidos vegetais (Pasqual, 2001).

Maior comprimento da parte aérea foi observado em meios de cultura Knudson, seguido dos meios WPM e DSD1. Segundo George (1996), existe uma relação entre o número de brotos e seu tamanho e nessa relação quanto maior for o número de brotos, menor o tamanho dos mesmos.

Nos meios de cultivo WPM e DSD1 foram observados maior número de raízes. Rego-Oliveira & Faria (2005) estudando a influência de diferentes meios de cultura em duas espécies de orquídea (*Catasetum fimbriatum* e *Cyrtopodium paranaensis*) verificaram maior número de raízes em  $\frac{1}{2}$  e  $\frac{1}{4}$  do meio MS, respectivamente. Quando se aumenta a quantidade de raízes formadas *in vitro*, aumenta-se também a área de contato raiz/substrato, refletindo em maior absorção dos nutrientes. Desta forma, os macro e micronutrientes presente nos meios WPM e DSD1 contribuíram no aumento do número de raízes. Kanashiro (2005) também observou em bromélias (*Aechmea blanchetiana*) uma maior absorção de nutrientes em meio MS modificado, ocasionando um aumento no seu sistema radicular.

Os meios de cultura Knudson, WPM e DSD1 se destacaram no comprimento da maior raiz. Na Tabela 1 pode-se observar significância para o comprimento da maior raiz em relação à fonte de silício. Com incremento nas concentrações de silicato de sódio verificou-se aumento de forma quadrática no comprimento da maior raiz até certo ponto, sendo maior comprimento observado com  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Altas concentrações da fonte de silício ( $20 \text{ mg L}^{-1}$ ) empregada acarretaram em menor comprimento da maior raiz. Segundo Malavolta et al. (1997), todo nutriente em excesso, como nesse caso o sódio, provoca um desbalanço nutricional no sistema, ou seja, na plântula de orquídea e no meio de cultura.

Num substrato com deficiência de nutrientes; como é o caso dos meios WPM, DSD1 e Knudson, aumentar o comprimento das raízes é uma maneira da plântula buscar os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, mesmo que isto implique em gasto de reservas. Observou-se que a adição de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de silicato de sódio no meio de cultura influenciou o comprimento médio do sistema radicular desta maneira. Evidencia-se assim que, para promover o comprimento médio do sistema radicular, a adição de silicato de sódio até  $10 \text{ mg L}^{-1}$  no meio de cultivo é benéfica. Os benefícios do silício conferidos às plantas são devidos a sua contribuição para a estruturação da parede celular de raízes. Portanto, este elemento não tem papel metabólico definido nas plantas e sua ação, segundo Malavolta et al. (1997), provoca efeitos indiretos, os quais, no conjunto contribuem para uma maior produtividade.

O crescimento de plantas, órgãos, tecidos e células *in vitro* depende do desenvolvimento de meios de cultura otimizados para a perfeita interação de componentes essenciais como fontes de carbono e nutrientes minerais. Os fatores que limitam esse crescimento *in vitro* são similares àqueles que limitam *in vivo* (Amaral, 2003).

Devido à falta de informações sobre a influência de fontes de silício e o emprego de diferentes meios de cultura na micropropagação de plântulas, principalmente de orquídeas; torna-se necessário à realização de trabalhos futuros, a fim de elucidar a real função do silício na estrutura da plântula.

## CONCLUSÕES

Maior número de brotos foi verificado em meio de cultivo MS.

Em meio de cultura WPM foram observados melhores resultados para comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento médio de raízes de orquídea.

A adição de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de silício favoreceu o comprimento da maior raiz de *Cattleya loddgesii*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, A.F.C. **Comportamento *in vitro* de explantes de matrizes de cenoura (*Daucus carota* L.) tratadas com variáveis níveis de potássio.** Piracicaba, 2003. 103p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

ARDITTI, J.; ERNEST, R. **Micropropagation of orchids.** New York: John Wiley, 1993. 682 p.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. **Meios nutritivos.** In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). *Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas.* Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. p. 87-132.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: Reuniao anual da região brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. v.1. 258p. p.225.

GEORGE, E.F. **Plant Propagation by Tissue Culture**, part 1 - The Technology, 2 ed. Edington Limited, 1996, 1574p.

KANASHIRO, S. **Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B. Smith *in vitro*.** 2005. 187p. Tese de Doutorado em Fitotecnia, ESALQ, Piracicaba.

KNUDSON, L. **A new nutrient solution for the germination of orchid seed.** American Orchid Society Bulletin, West Palm Beach, v.14, p.214- 217, 1946.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicaciones.** [S.l.: s.n.], 1991. p. 41-77.

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

MAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 15:473-97, 1962.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura.** Lavras, UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

REGO-OLIVEIRA, L.V.; FARIA, R.T. *In vitro* propagation of Brazilian orchids using traditional culture media and commercial fertilizers formulation. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.27, n.1, p. 1-5, 2005.

SILVA, A.L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal Int. Science of Vigne et Vin**, v. 29, p. 1-9, 1995.

SILVA, E.F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya Pastoral x Laeliocattleya Amber Glow*.** Lavras: UFLA, 2003, 62p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

PALAVRAS-CHAVE: silicato de sódio, meios de cultura, *Cattleya loddgesii*.

## Otimização da micropropagação de bromélias ornamentais em sistema biofábrica.

Dal Vesco, Lírio Luiz<sup>1</sup>; Ribeiro, Ronaldo José<sup>2</sup>; Guerra, Miguel Pedro<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bolsista PIPE/FAPESP, Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais-RGV, Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC – Florianópolis, SC, email: [lirio@cca.ufsc.br](mailto:lirio@cca.ufsc.br); <sup>2</sup> Eng. Agr. Atlântica Assessoria Agro Ambiental Ltda, Registro-SP, Fone (13) 3821 5045.; <sup>3</sup> Prof. Dr. RVG/Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC – Florianópolis, SC, Fone (48) 3721-5331, email: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br).

### INTRODUÇÃO

A floresta tropical atlântica é considerada um bioma de alta diversidade e as bromélias são elementos importantes deste bioma, apresentando espécies com acentuado endemismo nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil (Reitz, 1983). As bromélias consistem em um subsistema ecológico complexo que contribui para a manutenção da estabilidade dos ecossistemas florestais, por apresentarem alto grau de especialização em função de sua adaptação às condições climáticas e oligotróficas extremas (Padilha 1978).

Em estudo realizado pela Conservação Internacional (CI) a Mata Atlântica ocupa o quarto lugar em diversidade de plantas entre os biomas do planeta, com vinte mil espécies das quais seis mil são endêmicas, o que corresponde a 3% das espécies endêmicas do mundo, apesar da destruição de 92,5% de sua área original de 1,2 milhões de Km<sup>2</sup>. A região foi selecionada por apresentar menos de 30% de sua cobertura vegetal original, apresentando índices elevados de diversidade de mamíferos, anfíbios, répteis aves e plantas (Heywood, 1995).

A família Bromeliaceae é composta por 51 gêneros e aproximadamente 3500 espécies, todas nativas do Continente Americano, com exceção da espécie *Pitcairnia feliciana*, que habita a costa ocidental da África. Taxonomicamente as bromélias estão divididas em três subfamílias: Pitcairnioidae, Bromelioideae e Tillandsioidae, baseando-se em análises comparativas entre as estruturas reprodutivas, as quais são consideradas conservativas, isto é, as alterações destas é pouca influenciadas pelo meio ambiente, comparativamente às estruturas vegetativas (Padilha, 1978, Reitz 1983).

Técnicas de cultura de tecidos incluem ferramentas que podem ser aplicadas à propagação massal e a conservação de bromélias em extinção. A micropropagação é uma técnica empregada na propagação clonal de espécies de bromélias ornamentais e também as ameaçadas, tais como: *Vriesea fosteriana* (Mercier & Kerbauy, 1992), *Vriesea hieroglyphica* (Mercier & Kerbauy, 1994), bem como algumas espécies nativas de Santa Catarina, tais como: *Vriesea friburgensis* var. *paludosa* (Alves & Guerra, 2001) e *V. Reitzii* (Rech Filho et al., 2005).

O presente trabalho teve como objetivo gerar (bio)tecnologias para o estabelecimento de protocolos regenerativos para a micropropagação massal de bromélias com base em laboratórios biofábricas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Buscando alternativas ao uso de diferentes tipos de fitorreguladores na indução e seus efeitos morfogênicos, foram testadas diferentes concentrações de Tiazuron (TDZ), na proliferação múltipla de brotos em bromélias..

ENSAIO 1: O experimento obedeceu a um delineamento fatorial (2x5), com 10 tratamentos: duas espécies (*Vriesea fosteriana* e *Alcantharea imperialis*), em combinações com cinco concentrações de TDZ (0; 0,01; 0,1; 1 e 10 µM), suplementados a formulação salina de MS. Cada unidade experimental foi constituída de três frascos por repetição com quatro grupos de brotos/frascos e 5-6 brotos por grupo de brotos, arranjadas na forma blocos completos casualizados (BCC), com três repetições. Dados de número de brotos foram coletados após 13 semanas da inoculação.

ENSAIO 2: Efeito do TDZ na regeneração de microbrotos de *V. splendens* híbrida, espécie que apresenta um grande potencial comercial. O delineamento do experimento foi

um DCC, com brotos de *V. splendens* híbrida, cultivados em meio de cultura MS, suplementados com cinco níveis de TDZ (0; 0,01; 0,1; 1 e 10  $\mu\text{M}$ ). Cada unidade experimental foi constituída de cinco tubos de ensaios por repetição com em média 0,084 g/tubo de peso fresco de microbrotos, arranjados na forma de blocos completos casualizados (BCC), com quatro repetições. Dados peso fresco de brotos foram coletados após 13 semanas da inoculação.

Microbrotos de *V. splendens* híbrida originados do cultivo em frascos do quinto subcultivos *in vitro* foram à fonte de explantes para um ensaio de alongamento, onde foram testados diferentes concentrações de ácido giberélico-AG<sub>3</sub>.

ENSAIO 3: O delineamento foi em blocos completos casualizados (BCC) com seis tratamentos, onde foram testados seis níveis de AG<sub>3</sub> (0, 2, 4, 6, 8 e 10  $\mu\text{M}$ ). As unidades experimentais foram constituídas de cinco tubos de ensaios com grupos de brotos com em média 0,084 g de peso fresco por tubo, arranjadas em blocos com quatro repetições. Dados peso fresco de brotos foram coletados após 13 semanas da inoculação.

Os dados coletados de cada parâmetro foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste SNK (5%) de separação de médias, segundo as recomendações Compton (1994).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para um sistema de biofábrica é de fundamental importância determinar todas as possibilidade e alternativas de uso e tipo de fitorreguladores que podem ser utilizados na indução a proliferação de brotos. A determinação de um só protocolo pode comprometer a produção, principalmente quando não se tem ainda o controle de todo o processo. Por isto foram testadas diferentes concentrações de Tidiazuron (TDZ) para avaliar seus efeitos morfogênicos na proliferação múltipla de brotos em bromélias ornamentais.

Resultados preliminares com o uso de TDZ (0,1  $\mu\text{M}$ ) para a multiplicação de *Vriesea fosteriana* e *Alcantarea imperialis*, espécies de grande importância ornamental e comercial, mostraram que este fitorregulador proporcionou um maior número de brotos (14,3 brotos/explante) para *V. fosteriana*, quando comparada com a produção de brotos da *Alcantarea imperialis* (5,3 brotos/explante) após 13 semanas em cultivo (Tabela 1).

Em *V. fosteriana* a maior ocorrência de brotos (mais de 90%) ocorreu entre as classes de menor tamanho (< 1 cm), o que foi associado ao cultivo com a suplementação de concentrações superiores a 0,1  $\mu\text{M}$  de TDZ. Comportamento semelhante também foi observado com a espécie *Alcantarea imperialis*, onde a maior ocorrência de brotos nas classes de tamanho foi promovida pelos maiores níveis de TDZ.

A proliferação de microbrotos de *V. splendens* híbrida medida pelo peso fresco, resultou em valores não significativos quanto à suplementação do TDZ ao meio de cultura MS após 13 semanas em cultivo. O maior aumento de peso fresco sobre o inóculo inicial (15,3), foi observado no meio de cultura MS isento de fitorreguladores. O segundo aumento (13 vezes) ocorreu em resposta ao uso de 10  $\mu\text{M}$  de TDZ (dados não mostrados).

O uso de qualquer concentração de AG<sub>3</sub> induziu o alongamento inicial dos microbrotos (Tabela 2). Porém foram necessárias sucessivas repicagens para inibir a proliferação e promover um maior alongamento de brotos. A proporção de aumento de peso fresco dos microbrotos diminuiu com o aumento das concentrações de AG<sub>3</sub> suplementado ao meio de cultura basal MS.

Em subcultivos sucessivos observou-se que as concentrações mais elevadas de AG<sub>3</sub> testadas resultaram revelaram um maior alongamento de brotos. Por outro lado, meios de cultura isentos deste fitorregulador resultaram principalmente na proliferação e reduzido alongamento dos microbrotos.

O sistema proposto pode ser resumido na Figura 1 onde é apresentado um fluxograma dos principais procedimentos a serem empregados em um laboratório-biofábrica de bromélias e que foi desenvolvido para a o laboratório da Empresa Atlântica-Registro-SP.

**Tabela 1.** Número médio de brotos por explante de *V. fosteriana* e *A. imperialis*, cultivadas em meio de cultura MS, suplementado com TDZ (0; 0,01; 0,1; 1,0 e 10,0 $\mu$ M), 13 semanas após a inoculação.

Tratamentos	Número de brotos/explante		
	<i>Vriesea fosteriana</i>	<i>Alcantarea imperialis</i>	Média
0,1	14,3 a	5,3de	<b>9,8 A</b>
1	10,9 b	4,3 def	<b>7,6 B</b>
10	8,8 bc	3,5 def	<b>6,2 BC</b>
0,01	4,3 cd	6,5 cd	<b>5,4 C</b>
0 (MS-Testemuna)	1,5 f	3,0 df	<b>2,3 D</b>
<b>Média geral</b>	<b>8,0 A</b>	<b>4,5 B</b>	<b>6,2</b>
<b>CV (%)</b>	<b>21,2</b>		

Média de três repetições. Médias seguidas de letras diferentes minúsculas (entre fatores: nível de TDZ x espécie), e maiúsculas - na linha entre espécies e na coluna entre níveis de TDZ, indicam valores que diferem para o teste SNK (5%). CV(%) = Coeficiente de variação.

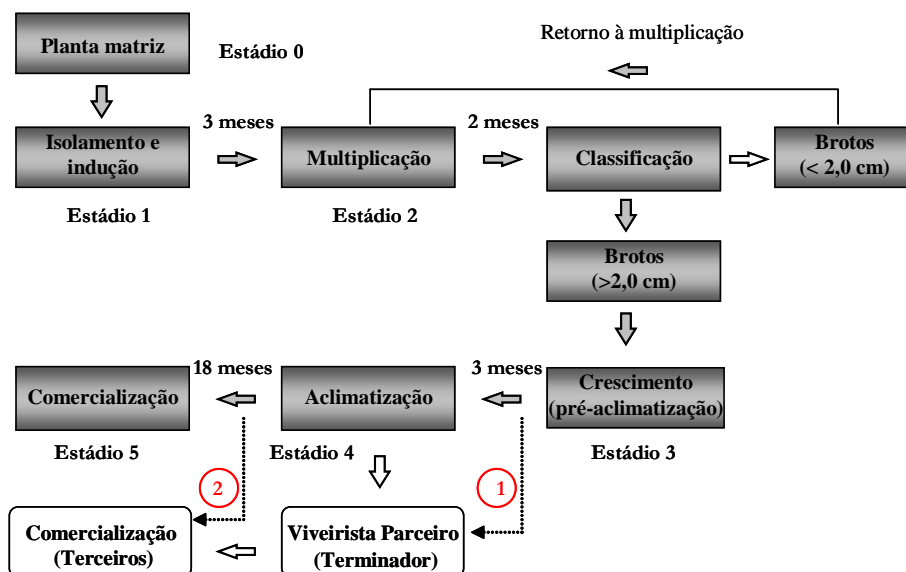
**Tabela 2.** Incremento de peso fresco dos microbrotos de *V. splendens* híbrida, cultivados em meio MS suplementado com GA<sub>3</sub> (0; 2; 4; 6; 8 e 10,0 $\mu$ M) após 13 semanas em cultura.

AG <sub>3</sub> ( $\mu$ M)	Peso Inicial (g)	Peso final (g)	Aumento de peso	Proporção de aumento de peso
0	0,085	1,470	1,385 A	17,6 A
2	0,083	1,102	1,019 A	15,2 A
4	0,084	1,303	1,219 A	15,9 A
6	0,077	1,138	1,062 A	14,9 A
8	0,085	1,208	1,124 A	14,5 A
10	0,088	1,258	1,169 A	14,4 A
Média geral	0,084	1,247	1,163	15,416
CV (%)			16,4	15,9

Média de três repetições. Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas (na coluna) indicam valores que diferem para o teste SNK (5%). CV(%) = Coeficiente de variação

## CONCLUSÃO

O uso de 0,1  $\mu$ M de TDZ suplementado ao meio de cultura MS resulta em altas taxas de proliferação (14,3 brotos) de *V. fosteriana*. Além de ser uma alternativa para promover a proliferação múltipla de brotos em bromélias este procedimento possibilita o uso de concentrações baixas deste fitorregulador (0,1  $\mu$ M), quando comparada ao uso de BAP (4  $\mu$ M). Este fator pode reduzir significativamente o custo de produção das mudas, considerando a quantidade utilizada e o custo do produto. Mesmo em doses baixas de TDZ observou-se uma quebra da dominância apical dos aglomerados de microbrotos, o que pode aumentar a taxa de regeneração. Isto possibilita a sincronização nesta fase e permite o emprego AG<sub>3</sub> na próxima fase para promover o alongamento dos brotos. O alongamento e crescimento final dos microbrotos ocorrem com a sua repicagem para meios de cultura isentos de fitorreguladores. Quando originados de meios de cultura contendo TDZ são necessários vários subcultivos em sucessão com concentrações de 5 e 10  $\mu$ M de AG<sub>3</sub> para ocorrer o alongamento sincronizado destes microbrotos. O sistema assim desenvolvido permite o seu emprego em biofábricas acopladas ao uso de biorreatores de imersão temporária.



**Figura 1.** Fluxograma esquemático utilizado na biofábricas de mudas de bromélias ornamentais utilizado no Laboratório da Empresa Atlântica- Registro-SP. (1) e (2)= estratégia firmada com terceiros. Adaptado de Dal Vesco et al. (2001b).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, G.M. & GUERRA, M.P. Micropropagation for mass propagation and conservation of *Vriesea friburgensis* var. *paludosa* from microbuds. **Journal of the Bromeliad Society**, v.51, n.5, p.202-212, 2001.
- COMPTON, M. Statistical methods suitable for the analysis of plant tissue culture data. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** n.37, p.217-242,1994.
- DAL VESCO, L.L.; PINTO, A. DE A. ZAFFARI, G. R.; NODARI, R.O. REIS, M. S. Dos; & GUERRA, M.P.; Improving pineapple micropropagation protocol through explant size and medium composition manipulation. **Fruits**. v.56, p.143-154, 2001.
- HEYWOOD, V.H. **Global Biodiversity Assessment**. Cambridge. UNEP/Cambridge University Press. 1140p. 1995.
- MERCIER, H. & KERBAUY, G.B. In vitro culture of *Vriesea hieroglyphica*, an endangered bromeliad from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Bromeliad Soc.** v.44, p.120-124, 1994.
- MERCIER, H. & KERBAUY, G.B. In vitro multiplication of *Vriesea fosteriana*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** v.30, p.247-249, 1992.
- PADILHA, V. (1978) Bromeliads: New York, Crow Publishers Inc, 134p.
- RECH FILHO, A.; DAL VESCO L.L. NODARI, R.O. LISCHKA, R.W. MÜLLER, C.V.; GUERRA, M.P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**. V. 14, p. 1799-1808, 2005.
- REITZ, R. **Bromeliáceas e a malária - bromélia endêmica**. (Flora ilustrada Catarinense série 983) Itajai: Herbário Barbosa Rodrigues. 1983, 559 p.

PALAVRAS-CHAVES: *Vriesea fosteriana*; *Alcantarea imperialis*; *V. splendens*; Bromeliaceae; Biofábrica; cultivo *in vitro*.

## Crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri* (Orchidaceae) em diferentes concentrações de sacarose e macronutrientes

Sorace, Mauren<sup>1</sup>; Schnitzer, Jenniffer Aparecida<sup>1</sup>; Faria, Ricardo Tadeu de<sup>2</sup>; Damasceno, Clério Valentin Jr.<sup>3</sup>; Gomes, Gisely Paula<sup>3</sup>; Barbosa, Cristiane Muniz<sup>4</sup>; Vieira, Fabíola Giovanna Nesello<sup>5</sup>; Silva, Geraldo Lopes da<sup>6</sup>; Takahashi, Lúcia Sadayo Assari<sup>7</sup>;

Bióloga, Esp., Mestranda da UEL, e-mail: [mauren.uel@bol.com.br](mailto:mauren.uel@bol.com.br) e [je\\_uel@yahoo.com.br](mailto:je_uel@yahoo.com.br).

<sup>1</sup>Eng<sup>o</sup> Agr., Dr., Professor Associado do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL – PR) – Bolsa produtividade CNPq, Cx. Postal 6001, 86051-960, tel: (43) 3371-4770, e-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br), Londrina, PR.; <sup>2</sup> Acadêmicos de Agronomia da UEL <sup>3</sup>; Acadêmica de Biologia da UEL <sup>4</sup>; Bióloga <sup>5</sup>; Técnico do Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Agronomia da UEL<sup>6</sup>; Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Dra. Professora Adjunta do Departamento de Agronomia da UEL<sup>7</sup>.

### INTRODUÇÃO

A propagação *in vitro* tem sido utilizada como um meio rápido de propagação vegetativa na horticultura ornamental e junto com outras técnicas biotecnologias, permite a obtenção de um grande número de plantas com autenticidade varietal e em qualquer época do ano.

A composição do meio de cultura é importante para a germinação da semente e o crescimento da planta, sendo geralmente constituído de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, sacarose e agente gelificante (Melo, 1999).

O meio nutritivo simplificado formulado com adubo Peters (3 g.L<sup>-1</sup>), sacarose (20 g.L<sup>-1</sup>), banana (60 g.L<sup>-1</sup>) e ágar (4 g.L<sup>-1</sup>) mostrou-se eficiente para o crescimento e enraizamento de plantas de *Dendrobium nobile* (Orchidaceae) (Song *et al.*, 1999).

Conforme, Faria e Stancato (1996), em trabalho desenvolvido com diferentes composições de meio de cultura, obtiveram resultados satisfatórios no cultivo *in vitro* de *Laelia cinnabarina* (Orchidaceae) em meio MS com metade da concentração dos macronutrientes.

De acordo com Bressan *et al.* (1999 a) observaram um melhor desenvolvimento de *Phalaenopsis* (Orchidaceae) *in vitro*, no meio com 1/3 da concentração de sais do MS e na presença de carvão ativado (2 g.L<sup>-1</sup>), 20 g.L<sup>-1</sup> de açúcar e 5 g.L<sup>-1</sup> de ágar, sem vitaminas e fitorreguladores.

A sacarose é um componente importante no meio de cultura servindo como fonte de carbono e energia (Faria *et al.*, 2004). A presença de açúcar no meio de cultura propicia a contaminação por fungos e bactérias, sendo as plântulas cultivadas *in vitro* são consideradas autotróficas (KOZAI, 1991).

Conforme Calvete *et al.* (2002), ao estudarem na propagação *in vitro* do morango o efeito das concentrações de sacarose (15, 30, 45 e 60 g.L<sup>-1</sup>) em meio MS, demonstraram que as plantas em condições *in vitro* necessitam de fontes exógenas de açúcar e que, para a cultivar Vila Nova, as doses entre 30 e 45 g.L<sup>-1</sup> foram as que propiciam melhores resultados.

De acordo com Riquelme *et al.* (1991), avaliaram o efeito de várias concentrações de sacarose na etapa de pré-acondicionamento *in vitro* de plantas de morangueiro, batata, menta e videira, e verificaram que doses de 30 à 45 g.L<sup>-1</sup> foram as mais adequadas durante o pré-acondicionamento *in vitro* e posterior sobrevivência durante a fase de aclimatização.

Experimentos com *Diuris longifolia* (Orchidaceae), mostraram que o enraizamento de mudas é promovido pelo aumento da concentração de sacarose para 40 g.L<sup>-1</sup>, pela adição de 0,05 % de carvão ativado no meio de cultura (Collins & Dixon, 1992).

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar os efeitos da concentração de sacarose e dos macronutrientes no crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri*.



## METODOLOGIA

As flores de *Oncidium baueri* foram polinizadas artificialmente e as cápsulas fechadas contendo as sementes foram coletadas após 6 meses. As cápsulas fechadas foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 2,5% por 20 minutos e as sementes de *Oncidium baueri* foram germinadas em meio Murashige & Skoog, 1962, e ao atingirem  $1 \pm 0,5$  cm de comprimento, foram transferidos para frascos contendo 250 ml de meio de cultura e subcultivadas nos diferentes tratamentos.

Os tratamentos consistiram de diferentes concentrações de sacarose ( $30 \text{ g.L}^{-1}$ ,  $40 \text{ g.L}^{-1}$  e  $60 \text{ g.L}^{-1}$ ), e combinadas com dois tipos de formulações de macronutrientes (N, P, K, S, Ca, Mg e Fe) no meio de cultura (MS completo e MS com metade dos macronutrientes), acrescido de  $1 \text{ g.L}^{-1}$  de carvão ativado e pH ajustado para 6,0, autoclavado a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  e 1 atm, por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os frascos foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições, contendo 20 plântulas por parcela.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5%. Para a análise estatística, os dados foram transformados em raiz quadrada para os variáveis números de brotos e número de raízes.

Os parâmetros avaliados após seis meses do início do experimento foram: altura parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotos, massa seca e massa fresca total.

Em seguida as mudas foram retiradas dos frascos, lavadas em água corrente para retirada de todo o meio de cultura e transplantadas em bandejas de isopor, utilizando o esfagno como substrato e colocadas na casa de vegetação, com 30% de luminosidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de altura da parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotos, massa seca e massa fresca total são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Médias referentes à altura da parte aérea, comprimento da raiz, número de raízes, número de brotos, massa seca e massa fresca total de plântulas de *Oncidium baueri*, após seis meses do início do experimento.

Tratamentos	Altura parte aérea (cm)	Comprimento da maior raiz (cm)	Número de raízes (*)	Número de brotos (*)	Massa seca (mg)	Massa fresca total (mg)
MS Completo + sacarose						
T1 - $30 \text{ g.L}^{-1}$	3,01 b	0,10 b	6,06 b	0,15 a	0,13 a	0,14 b
T2 - $40 \text{ g.L}^{-1}$	3,38 b	0,11 b	7,31 ab	0,16 a	0,16 a	0,16 b
T3 - $60 \text{ g.L}^{-1}$	2,94 b	0,10 b	8,58 ab	0,16 a	0,11 a	0,18 b
MS $\frac{1}{2}$ Macro + sacarose						
T4 - $30 \text{ g.L}^{-1}$	3,05 b	0,13 b	6,32 b	0,15 a	0,10 a	0,16 b
T5 - $40 \text{ g.L}^{-1}$	4,96 a	0,20 a	10,37 a	0,17 a	0,09 a	0,33 a
T6 - $60 \text{ g.L}^{-1}$	3,15 b	0,11 b	8,78 ab	0,13 a	0,09 a	0,19 b
CV%	16,05	21,27	28,95	32,70	33,93	25,95

\* Dados sob transformação raiz quadrada.

\*\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Os dados relativos à altura da parte aérea, comprimento de raiz, massa seca e massa fresca total indicam que os melhores resultados ocorreram com a utilização do meio de cultura contendo MS ½ macro, com adição de 40 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela1). No entanto, Fráguas et al. (2003), obtiveram crescimento satisfatório de plântulas resultantes do cruzamento entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*, em meio de cultura contendo 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose.

Em relação ao número de raízes o tratamento 5 apresentou maior número 10,37, os demais tratamentos não diferiram estatisticamente. De acordo com George e Sherrington (1984), citados por Oliveira (1994), segundo os quais, concentrações elevadas de açúcar podem inibir a formação de raízes “in vitro”. Entretanto, efeitos satisfatórios ocorreram com Leite et al. (2000) em experimento com porta-enxerto de pereira, quando utilizaram sacarose no meio.

Del Rosário e De Guzman (1981) obtiveram um efeito positivo promovido pela alta concentração de açúcar no crescimento de raízes de embriões de coqueiro “makapuno”, usando meio MS. De acordo com Guimarães et al. (1999), o maior número de raízes foi obtido com 7,5 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e na ausência de nitrogênio, e o menor número delas foi encontrado em 60 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e ausência de nitrogênio. Calvete et al. (2002), verificaram que plantas de morangueiro cultivar Campinas produzida na concentração de 45 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, apresentaram enraizamento e na ausência não houve desenvolvimento de raízes.

Em relação ao número de brotos, as maiores médias foram alcançadas no tratamento 5, no entanto, estatisticamente todos os tratamentos foram semelhantes. Guimarães et al. (1999), trabalhando com samambaia-espada e Loescher e Albrecht (1979), citados por Amaki e Higuchi (1992), com produção de brotos de pontas de estolhos da espécie *Nephrolepis exaltata* (L.) Schoot verificaram os melhores resultados com níveis mais diluídos do meio MS, em relação ao padrão.

## CONCLUSÃO

A concentração de sacarose (40 g.L<sup>-1</sup>) e metade da concentração dos macronutrientes do MS, foi a mais eficiente no desenvolvimento vegetativo in vitro de *Oncidium baueri*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAKI, W.; HIGUCHI, H. Micropropagation of Boston Ferns. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Gainesville, v.20, n.104, p.485-494, 1992.

BRESSAN, E.A; LEE, L.L.; SEVERO, V.S. & GERALD, L.T.S. Desenvolvimento de Orquídeas *Phalaenopsis in vitro* – efeito do carvão. 12º- Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. Jaboticabal, S.P., Brasil, p.111. 1999 a.

CALVETE, E.O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M.H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas in vitro e ex vitro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.20, n.4, p. 649-653, 2002.

COLLINS, M.T.; DIXON, K.W. Micropropagation of an Australian terrestrial orchid *Diuris longifolia* R Br. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.32, p. 131-135, 1992.

DEL ROZARIO, A.G.; DE GUZMAN, E.V. The growth of Makapuno coconut embryos in vitro as affected by mineral composition and sugar level of the medium during the liquid and solid culture. *Philippine Journal of Science*, v.105, p. 215-222, 1981a.

FARIA, R.T.; RODRIGUES, F.N.; OLIVEIRA, L.V.R.; MÜLLER, C. In vitro *Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.4, p. 780-783, 2004.

FRÁGUAS, C.B.; VILLA, F.; SOUZA, A.V.; PASQUAL, M.; DUTRA, L.F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. Lavras: *Ceres*, 50 (292): 719-726, 2003.

GUIMARÃES, P.T.C., PASQUAL, M.; MIRANDA, A.M.P. Efeito de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação "in vitro" de samambaia-espada [*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott]. *Ciência e Agrotec.*, Lavras, v. 23, n.2, p. 309-316, 1999.

KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation. *In Vitro*, v. 27, p. 47-51, 1991.

LEITE, G.B.; FINARDI, N.; FORTES, G.R.L. Efeitos de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento "in vitro" do porta-enxerto de pereira OHXF97. *Ciência Agrotec.*, v. 24, n. 2, p. 353-357, 2000.

MELO, A.V. Micropropagação "in vitro" de *Oncidium hians* Lindl (*Orchidaceae*) em diferentes formulações de meio de cultura. Monografia Bacharelado (TCC), ao curso de Ciência Biológicas. Londrina, 1999.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, n.15, p.473-497, 1962.

OLIVEIRA, P.D. de. Propagação "in vitro" de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzlev.) cv. Orange Reagen. Lavras: *Esalq*; 1994. 116p.

RIQUELME, C.; GUIÑAZU, M.E.; TIZIO, R. Pré-acondicionamento y aclimataccion em condiciones de invernáculo de plântulas micropagadas de frutilla, menta, papa y vid. *Phyton*, v. 52, n. 1, p. 73-82, 1991.

SONG, M.K.R.; SILVA, G.L.; FARIA, R.T. & TAKAHASHI, L.S.A. Análise do crescimento e enraizamento in vitro de híbridos de *Dendrobium nobile* Lindl. (*Orchidaceae*) semeados em diferentes meios de cultura. 12<sup>o</sup>- Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. *Jaboticabal*, SP, Brasil, p.110, 1999.

STANCATO, G.C.; FARIA, R.T. In vitro growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (*Orchidaceae*) In: Effects of macro and microelements. *Lindleyana* 11 (1): 41-43. 1996.

#### PALAVRAS-CHAVES

Orquídea, cultura de tecido, carboidrato, *orchidaceae*.

## Propagação *in vitro* de orquídeas brasileiras utilizando espuma de poliuretano em substituição ao ágar

Akiyoshi, Bruna Katsue<sup>1</sup>, Assis, Adriane Marinho<sup>2</sup>; Faria, Ricardo Tadeu<sup>3</sup>, Unemoto, Lilian Keiko<sup>2</sup>; Rovaris, Sara Regina Silvestrin<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Graduação em Agronomia; <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UEL); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina. C.P. 6001, 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil. (43) 3371-4770. e-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br);

A micropropagação ou propagação *in vitro* tem sido uma das técnicas mais utilizadas pelos produtores, para produção de mudas de orquídeas em larga escala, possibilitando a obtenção de plantas de alta qualidade fitossanitária em curto período de tempo. Em meios nutritivos, o ágar é rotineiramente utilizado com agente solidificante, embora meios líquidos tenham apresentado vantagens, quando usados com aerações ou técnica de suporte na propagação *in vitro*. Outros substratos inertes como a vermiculita, a perlita ou espumas de poliuretano, embebidas em meio líquido, podem ser alternativas para a redução nos custos de produção. O trabalho teve como objetivo a propagação *in vitro* de *Cattleya intermedia*, *Oncidium fimbriatum* e *Cattleya forbesii* (Orchidaceae), utilizando a espuma de poliuretano em substituição ao ágar. As sementes foram germinadas em meio Murashige e Skoog (MS, 1962) modificado, com a metade da concentração de macronutrientes. As plântulas ao atingirem uma altura média de  $1,0 \pm 0,3$  cm foram subcultivadas para frascos de vidro com capacidade para 200mL e 10cm de altura, onde foram vertidos 40 mL do meio MS líquido modificado com a metade dos macronutrientes. Os tratamentos avaliados foram: T1 - 7g de ágar por litro + meio MS líquido modificado com a metade dos macronutrientes e T2 - espuma de poliuretano triturada (flocos de  $1 \text{ cm}^3$  de volume em média) + meio MS líquido modificado com a metade dos macronutrientes. Seis meses após o início do experimento, as variáveis analisadas foram: altura da parte aérea, comprimento da maior raiz, número de brotações, número de raízes, massa fresca total e porcentagem de sobrevivência. As análises estatísticas demonstraram que a espuma de poliuretano triturada pode substituir o ágar na propagação *in vitro* de *Cattleya intermedia*, *Oncidium fimbriatum* e *Cattleya forbesii*, reduzindo assim os custos de produção.

### PALAVRAS-CHAVES

Orchidaceae; meio de cultura; propagação.

## Aclimatização de *Oncidium baueri* (*Orchidaceae*) utilizando auxina

Sorace, Mauren <sup>1</sup>; Faria, Ricardo Tadeu <sup>2</sup>; Yamamoto, Lilian Yukari <sup>3</sup>; Schnitzer, Jenniffer Aparecida <sup>4</sup>; Takahashi, Lúcia Sadayo Assari <sup>5</sup>

<sup>1</sup> Bióloga, Esp., Mestranda em Agronomia, e-mail: [mauren.uel@bol.com.br](mailto:mauren.uel@bol.com.br); Eng<sup>o</sup> Agr., Dr., Professor Associado do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL-PR) – Bolsa produtividade CNPq, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, PR. Fone: (043) 3371-4770, e-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br)<sup>2</sup>; Graduanda de Agronomia da UEL <sup>3</sup>; Bióloga, Esp. Mestranda em Agronomia<sup>3</sup>; Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Dra. Professora Adjunta do Departamento de Agronomia da UEL <sup>5</sup>.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Oncidium baueri* é epífita, crescimento simpodial e pseudobulbos estriados, verde-amarelados, achatados, com 11–13 cm de comprimento e 4–5 cm de largura (Garay; Stacy, 1974).

A semeadura *in vitro* é uma técnica de produção de mudas em larga escala e de grande interesse para o produtor, mas um percentual de perdas de plantas durante a fase de aclimatização resulta em prejuízo econômico, devido ao alto investimento e emprego de mão-de-obra especializada nessa técnica (George, 1996).

A etapa de aclimatização é definida como a adaptação climática de um organismo, especialmente uma planta, que é transferida para um novo ambiente *ex vitro*. Esta fase é muito delicada, deve-se basicamente aos fatores: estresse hídrico, fotossíntese, absorção de nutrientes e fitossanidade (Tombolato; Costa, 1998).

As auxinas são fitorreguladores com maior efetividade na promoção de enraizamento, podendo ser utilizada isoladamente ou combinadas no processo de indução de raízes, em concentrações variadas conforme a espécie (Krikorian, 1991; Weaver, 1976).

Na aclimatização de *Dendrobium nobile* foi observado que a aplicação de auxinas proporcionou um maior desenvolvimento de raízes e crescimento vegetativo, evidenciando-se que o ácido naftaleno acético foi mais eficiente em relação ao ácido indol acético e o ácido indol butírico (Faria et al., 2000).

Segundo Hartmann e Kester (1983), aplicações exógenas de auxina proporcionam maior velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento.

Cuquel et al. (1994), avaliou o efeito de doses de ácido indol butírico (IBA) e de diferentes tempos de imersão no enraizamento de estacas de *Chrysanthemum morifolium* cv. white Reagan 606. Esses autores relatam que houve enraizamento em todas as combinações de tratamento e que o tratamento rápido tende a ser mais eficiente quando combinado com as maiores dosagens, enquanto os tratamentos mais demorados com as menores dosagens.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o enraizamento e desenvolvimento vegetativo de plântulas de *Oncidium baueri* utilizando o ácido naftaleno acético (ANA), durante a fase de aclimatização.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Casa de Vegetação, com 50% de luminosidade, do Departamento de Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina (UEL), no período de março à outubro de 2005.

Foram utilizadas plântulas de *Oncidium baueri*, propagadas *in vitro* com seis meses de semeadura, com aproximadamente 3 cm de altura média, quando foram

retiradas dos vidros e lavadas em água corrente para a retirada de todo o meio de cultura (MS). Em seguida foram transplantadas em bandejas de isopor, com dez furos na parte inferior, contendo esfagno como substrato.

A cada trinta dias foi realizada uma adubação foliar com a formulação NPK: 6-6-8, na concentração de 1 mL.L<sup>-1</sup>. A irrigação foi realizada manualmente duas vezes ao dia no verão, e uma vez ao dia no inverno.

A auxina utilizada foi o ácido naftaleno acético (ANA), nas concentrações 0 mg.L<sup>-1</sup>, 40 mg.L<sup>-1</sup>, 200 mg.L<sup>-1</sup>, 1 g.L<sup>-1</sup>. As aplicações da auxina foram realizadas por meio da imersão rápida das plântulas por 10s, antes do transplante, e através de pulverizações semanais no substrato das bandejas de 5 mL nas concentrações com auxina descritas acima durante quatro semanas. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e três repetições contendo dez plântulas cada.

A avaliação foi realizada após sete meses do início do experimento, dos seguintes parâmetros: comprimento da maior raiz, número de raízes, altura, número de brotos, massa fresca total.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste de Tukey à 5%. Para a análise estatística, os dados foram transformados em raiz quadrada para as variáveis número de brotos e número de raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de comprimento da maior raiz, número de raízes, altura, número de brotos e massa fresca total, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Médias referentes à comprimento da maior raiz, número de raízes, altura, número de brotos, massa fresca total de plântulas de *Oncidium baueri*, após sete meses do início do experimento.

Tratamentos com (ANA)	Comprimento da maior raiz (cm)	Número de raízes (*)	Altura (cm)	Número de brotos (*)	Massa fresca total (mg)
T1 – 0 mg.L <sup>-1</sup> Imersão rápida (10 s)	3,73 c	7,2 b	2,57 cd	3,0 c	0,44 c
T2 – 40 mg.L <sup>-1</sup>	3,76 c	7,9 b	3,37 bc	3,3 bc	0,61 abc
T3 – 200 mg.L <sup>-1</sup>	5,57 ab	8,6 ab	3,05 bcd	3,7 bc	0,57 bc
T4 – 1 g.L <sup>-1</sup> Pulverização semanal (5 ml)	5,0 bc	10,4 ab	2,39 d	4,4 ab	0,54 bc
T5 – 40 mg.L <sup>-1</sup>	4,13 bc	11,1 a	2,56 d	4,2 ab	0,65 ab
T6 – 200 mg.L <sup>-1</sup>	6,96 a	8,2 a	4,31 a	5,3 a	0,79 a
T7 – 1 g.L <sup>-1</sup>	4,83 bc	9,4 ab	3,38 b	4,0 bc	0,68 ab
CV%	25,36	24,96	19,23	21,51	24,76

\*Dados sob transformação raiz quadrada.

\*\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Os resultados da análise estatística do comprimento da maior raiz, massa fresca total e altura da plântula indicam que os melhores resultados ocorreram no tratamento 6, com quatro pulverizações semanais no substrato de ácido naftaleno acético (200 mg.L<sup>-1</sup>) (Tabela 1).

Quanto ao enraizamento de estacas caulinares de azaléia, o uso de concentrações de NAA (ácido naftaleno acético) ou da combinação deste com IBA (ácido indol butírico) já foi testado com resultados satisfatórios (Adams; Roberts, 1967; Nakamura et al., 1978).

Em relação ao número de raízes o tratamento 6 (11,1) apresentou maior número e não diferiu estatisticamente de T3, T4, T5 e T7, sendo que T1 e T2 apresentaram número inferior. A indução de um maior número de raízes propicia uma maior absorção de água e nutrientes, conseqüentemente promovem um maior desenvolvimento vegetativo.

Pereira et al. (1991), em trabalho com goiabeira (*Psidium guajava* L.) constataram que a aplicação de IBA nas estacas, mostraram precocidade de iniciação radicular e maior número e peso de raízes.

Para a variável número de brotos, os melhores tratamentos foram T4, T5 e T6, com 4 a 5 brotos por plantas.

De acordo com Faria et al. (2000), o ácido naftaleno acético, na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup>, foi o melhor fitoregulador promotor do enraizamento e crescimento vegetativo de *Dendrobium nobile*.

## CONCLUSÃO

A aplicação do ácido naftaleno acético na concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> em quatro pulverizações semanais foi o mais eficiente no enraizamento e desenvolvimento vegetativo de plântulas de *Oncidium baueri*, durante a etapa de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D.B.; ROBERTS, A.N. A morphological time scale for predicting rooting potencial in *Rhododendron* cuttings. *American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.91, p.753-76. 1967.

CUQUEL, F.L.; MIMANI, K. Enraizamento de estacas de crisântemo [*Dedranthema morifolium* (RAMAT.) TZVELEV] tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco. *Scientia Agrícola*. Piracicaba, v.51, n.1, jan./apr. 1994.

FARIA, A.P.; CAVENAGHI, B.; MÜLLER, C.B.; BENEVUTO, L.; FARIA, R.T. Aplicação dos fitoreguladores enraizadores em mudas de orquídeas em diferentes concentrações. *Resumo...* Londrina, IV Mata, 4, 2000. p. 89.

GARAY, L.A.; STACY, J.E. *Synopsis of the genus Oncidium*. Bradea, Rio de Janeiro, v.1, n.40, p.393-427, set. 1974.

GEORGE, E.F. *Plant propagation by tissue culture*. Part. 2 in practice. 2 ed. Edington: Exejetics, 1996. 1361 p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. *Plant propagation: principles and practices*. 4 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1983. 727 p.

KRIKORIAN, A.D. Médios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W.M.; MIROGINSKY, L.A. (Eds.). *Cultivo de Tejidos em la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. Cali: CIAT, 1991. p.41-77.

NAKAMURA; M.; MATSUI, S.; HARADA, H. Effect of some methods and auxin treatments on the rooting of stem cuttings taken from mature trees. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, Tokyo, v.47, n.2, p.227-236. 1978.

PEREIRA, F.M.; PETRECHEN, E.H.; BENINCASA, M.M.P.; BANZATTO, D.A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) das cultivares "Rica" e "Paluma", em câmara de nebulização. *Científica*, v.19, n.2, p.199-206, 1991.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. Micropropagação de plantas ornamentais. Campinas: *Instituto Agrônômico*, 1998. (Boletim Técnico 174).

WEAVER, R.J. *Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura*. México: Trillas, 1976, 622 p.

**PALAVRAS-CHAVE:**

ANA, orquídeas, fitorreguladores, enraizamento.



## Glicina e inositol no cultivo *in vitro* de duas frutíferas de clima temperado.

Almendagna, Filipe<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Pio, Leila Aparecida Salles<sup>2</sup>; Assis, Franscinely Aparecida<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia, UFLA, Lavras, MG, e-mail: filipealmendagna@yahoo.com.br;

<sup>2</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: fvilla2003@libero.it; <sup>3</sup>Professor Titular do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: mpasqual@ufla.br.

### INTRODUÇÃO

A fruticultura de clima temperado apresenta grande importância no contexto da produção mundial de frutas. Algumas das frutas produzidas em maior volume em todo o mundo, tais como a macieira e a videira, são de espécies pertencentes a esta classe (Chalfun et al., 1998).

No Brasil, a amoreira-preta vem sendo cultivada por pequenos produtores, objetivando a exportação dos frutos. O Rio Grande do Sul é o principal produtor brasileiro, onde a cultivar Tupy responde por 70% da área cultivada. O Sul de Minas Gerais tem apresentado elevado potencial para esta pequena fruta, destacando-se o município de Caldas. A propagação da amoreira-preta faz-se através de estacas de raízes, brotos (rebentos) e estacas herbáceas (Antunes & Raseira, 2004).

A videira é uma espécie frutífera propagada por via vegetativa. Além destes, o cultivo *in vitro* pode ser utilizado como um processo alternativo, visando, por meio de suas técnicas, a obtenção de um grande número de mudas, geneticamente uniformes, livres de vírus e em curto espaço de tempo (Peixoto & Pasqual, 1996).

Um dos objetivos da micropropagação é a maximização da multiplicação de gemas. Muita atenção para sua obtenção tem sido dada à manipulação de substâncias de crescimento no meio de cultura (Lee e Ko, 1984). Vários meios de cultura têm sido testados e um meio específico é identificado pela composição de sais minerais, enquanto as vitaminas, os reguladores vegetais e outros suplementos orgânicos variam em concentração. A suplementação de um meio de cultura pode ser realizada pela inclusão de uma proteína hidrolisada. Qualquer efeito benéfico pode ser avaliado pela substituição desta proteína por uma mistura de aminoácidos. Os aminoácidos têm importância na amplificação das respostas morfogênicas, proporcionando maior crescimento e facilitando a diferenciação no sentido da regeneração (Pasqual, 2001).

O crescimento e a morfogenia de propágulos micropropagados podem ser melhorados com a adição de vitaminas ao meio de cultura. As exigências das células vegetais em vitaminas estão associadas ao tipo de cultura e à espécie (George, 1993). Gonzáles et al. (2000) observaram melhor estabelecimento *in vitro* de mirtilo cv. Berkeley a partir de segmentos nodais, utilizando meio WPM acrescido de vitaminas do MS. Em 4 genótipos de videira estudados verificou-se melhores resultados em meio modificado, com a diminuição de sais e vitaminas do meio de cultivo MS (Zlenko et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações de glicina e inositol, no cultivo *in vitro* de amoreira-preta cv. Tupy e do porta-enxerto de videira 'Kober 5BB'.

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de amoreira-preta (*Rubus* sp.), cv. Tupy e do porta-enxerto de videira 'Kober 5BB' (*Vitis* spp.), com 2 cm de comprimento, oriundos de propágulos preestabelecidos *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubo de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) e DSD1 (Silva & Doazan, 1995), respectivamente. O primeiro meio de cultura foi acrescido de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de benzilaminopurina (BAP), 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, e o pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. O segundo meio de cultura foi

acrescido de 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, e o pH foi ajustado para 6,4, antes da autoclavagem. Posteriormente, os tubos de ensaio contendo os explantes foram transferidos para sala de crescimento, onde as condições de cultivo foram mantidas a 25 ± 2°C, irradiância de 32 μ.mol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas.

O experimento com amoreira-preta (cv. Tupy) consistiu de 5 diferentes concentrações de glicina (0; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg L<sup>-1</sup>) e 5 de inositol (0, 50, 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup>), em todas as combinações possíveis. O experimento com porta-enxerto de videira ('Kober 5BB') consistiu de 4 diferentes concentrações de glicina (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e 4 de inositol (0, 10, 20 e 40 mg L<sup>-1</sup>), retiradas do meio MS, em todas as combinações possíveis.

Ao final de 70 dias de cultivo *in vitro*, foram avaliados número de folhas, peso da matéria fresca da parte aérea, comprimento da parte aérea, número de raízes e peso fresco de calos para as duas frutíferas estudadas e somente número de brotos para a amoreira-preta e comprimento da maior raiz para o porta-enxerto de videira. Os dados foram analisados através do software Sisvar (Ferreira, 2000), utilizando regressão polinomial para concentrações de glicina e inositol. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições constituídas de três explantes.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

As concentrações de inositol e glicina incorporadas ao meio de cultura MS influenciaram no número de folhas de amoreira-preta. Com o aumento nas concentrações de inositol, verificou-se um aumento no número de folhas, sendo que maior número foi observado com 400 mg L<sup>-1</sup> deste e na ausência de glicina. Foi observada interação significativa para glicina e inositol separadamente em relação ao número de folhas do porta-enxerto de videira. Esses resultados divergem daqueles verificados para número de folhas de amoreira-preta. Para o porta-enxerto de videira, pode-se observar que a quantidade de folhas aumenta gradativamente até o ponto de máxima (11,69) para 1,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina e diminui até o ponto de máxima (12,54) para 10 mg L<sup>-1</sup> de inositol.

Observa-se que o aumento gradativo nas concentrações de inositol (retiradas do meio de cultivo MS) reduziu a emissão de novas folhas, corroborando assim com Silva (2003), que estudando o crescimento *in vitro* de um híbrido de orquídea, verificou uma redução no número de folhas emitidas em meio Knudson, com o aumento das concentrações de vitaminas do meio MS.

O inositol influenciou como catalisador metabólico no crescimento de órgãos, confirmando sua função de estimular o crescimento geral do propágulo (George, 1993). Pode-se inferir que o inositol retirado do meio MS adicionado ao meio de cultura DSD1 não é necessário para promover número de folhas do porta-enxerto de videira. Gonzáles et al. (2000) observaram melhor estabelecimento *in vitro* de mirtilo cv. Berkeley a partir de segmentos nodais, utilizando meio WPM acrescido de vitaminas do MS. Em 4 genótipos de videira estudados verificou-se melhores resultados em meio modificado, com a diminuição de sais e vitaminas do meio de cultivo MS (Zlenko et al., 1995).

Observa-se interação significativa para número de brotos de amoreira-preta, em 2,0 e 8,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina, onde maior número foi verificado com 200 mg L<sup>-1</sup> de inositol associado a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina. Concentrações superiores a 200 mg L<sup>-1</sup> de inositol promoveram o crescimento do explante, função principal das vitaminas (George, 1993). Pode-se verificar a interação significativa para o peso da matéria fresca da parte aérea das duas frutíferas estudadas. Maior peso da matéria fresca da parte aérea de amoreira-preta e porta-enxerto de videira foi verificado com 400 e 20 mg L<sup>-1</sup> de inositol, respectivamente, com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina e na sua ausência. Evidencia-se assim que, para promover peso da matéria fresca dessas duas frutíferas estudadas, a glicina do meio MS é inibitória e o inositol é benéfico.

Para a amoreira-preta foi observada influência negativa do inositol até 200 mg L<sup>-1</sup> combinado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina. Com o aumento nas concentrações de inositol associado a 8,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina, verificou-se um aumento de forma quadrática em seu

comprimento. As concentrações de 10 a 40 mg L<sup>-1</sup> de inositol e 2 mg L<sup>-1</sup> de glicina adicionadas no meio DSD1 influenciaram positivamente de forma linear o comprimento do porta-enxerto de videira. O crescimento geral dos propágulos é estimulado pelas vitaminas do meio de cultivo MS, influenciando assim como catalisadores metabólicos (George, 1993).

Pode-se observar uma interação significativa para número de raízes da amoreira-preta na ausência e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina adicionada ao meio de cultivo. Maior número de raízes da cv. 'Tupy' foi verificado com 400 mg L<sup>-1</sup> de inositol associado a 1,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina, porém resultados semelhantes foram observados na ausência e com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina para essa cultivar. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se inferir que não é necessário a utilização da glicina para obtenção de raízes nos propágulos. O número de raízes do porta-enxerto de videira 'Kober 5BB' não foi significativo para as concentrações de inositol e glicina utilizadas.

Num substrato com deficiência de nutrientes, como é o caso do meio de cultura DSD1, aumentar o comprimento das raízes é uma maneira do propágulo buscar os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, mesmo que isto implique em gasto de reservas. As concentrações de inositol do meio MS influenciaram de maneira positiva o crescimento dessas raízes, até o ponto de máxima (3,83 cm de comprimento e 23,6 mg L<sup>-1</sup> de inositol), evidenciando-se que, para promover o crescimento médio do sistema radicular de 'Kober 5BB', o inositol adicionado ao meio de cultivo DSD1 é benéfico.

Pode-se observar interação significativa para peso fresco de calos das frutíferas estudadas, sendo que, maior peso fresco de calos de amoreira-preta foi verificado com 400 mg L<sup>-1</sup> de inositol associado a 2,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina. Já para o porta-enxerto de videira, verificou-se que o inositol incrementou linearmente o peso da matéria fresca calos com aumento de suas concentrações, na presença de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de glicina.

A formação de calos não é desejada nesse estudo, pois pode favorecer o surgimento de variação no genótipo. Provavelmente a glicina e o inositol do meio MS não sejam adequados para a micropropagação do porta-enxerto de videira 'Kober 5BB', pois proporcionou calos mesmo na ausência de ambos. O mesmo foi observado para a amoreira-preta, onde na ausência de inositol ocorreu a formação de calos na base dos propágulos. Kintzios et al. (2000, 2001) observaram em um estudo com folhas de rosa (*Rosa hybrida*) e de *Capsicum annuum* que, na presença de 100 mg L<sup>-1</sup> de inositol um maior crescimento de calos foi obtido. Esses verificaram também que a glicina a 0,1 mg L<sup>-1</sup> foi a menos favorável para o mesmo crescimento e proliferação de embriões somáticos de *Capsicum annuum*.

## CONCLUSÕES

Melhores resultados para micropropagação da amoreira-preta cv. Tupy são obtidos com concentração de glicina até a recomendada no meio de cultura MS (2,0 mg L<sup>-1</sup>) e 4x (400 mg L<sup>-1</sup>) o valor de inositol. Para o porta-enxerto de videira, melhores resultados são obtidos na ausência e/ou com baixas concentrações de glicina e concentração de inositol igual ou superior à recomendada no meio de cultura DSD1 ( $\geq 10$  mg L<sup>-1</sup>).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, L.E.C; RASEIRA, M.C.B. **Aspectos Técnicos da Cultura da Amora-Preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.13. Embrapa Clima Temperado. Documentos, 122).

CHALFUN, N. N. J; PASQUAL, M.; HOFFMANN, A. **Fruticultura comercial: frutíferas de clima temperado**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1998, v.7, 304p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p.255-258.

- GEORGE, E.F. (Ed.). **Plant propagation by tissue culture. Part 1** – The Technology. 2.ed. Edington: Exegetics, 1993. 574p.
- GONZALES, M.V.; LOPEZ, M.; VALDES, A.E.; ORDAS, R.J. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.137, p.73-78, 2000.
- KINTZIOS, S.; DROSSOPOULOS, J.B.; LYMPEROPOULOS, C. Effect of vitamins and inorganic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from young mature leaves of rose (*Rosa hybrida*). **Journal Plant of Nutrition**, v.23, n.10, p. 1407-1420, 2000.
- KINTZIOS, S.; DROSSOPOULOS, J.B.; LYMPEROPOULOS, C. Effect of vitamins and inorganic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from leaves of chilli pepper. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.27, p.55-62, 2001.
- LEE, H.J.; KO, K.C. Effects of culture media and plant hormones on shoot tip culture of Fuji apple cultivar (*Malus domestica*). **Seoul National University Journal of Agricultural Sciences**, Seoul, v.9, n.1, p.67-77, 1984.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74p.
- PEIXOTO, P.H.P.; PASQUAL, M. Influência da origem dos explantes na multiplicação e no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de videira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.20, n.3, p.293-300, 1996.
- SILVA, A.L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal Int. Science of Vigne et Vin**, v. 29, p. 1-9, 1995.
- SILVA, E.F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassicattleya Pastoral x Laeliocattleya Amber Glow***. 2003. 62p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ZLENKO, V.A.; TROSHIN, L.P.; KOTIKOV, I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. **Vitis**, v.34, n.2, p.125-126, 1995.
- PALAVRAS-CHAVE: vitamina, aminoácido, MS, DSD1, amoreira-preta, videira.

## **Análise do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em função do substrato e adubo de liberação controlada.<sup>1</sup>**

Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Ferreira, Ester Alice<sup>3</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: filipealmendagna@yahoo.com.br; <sup>3</sup> Pesquisadora da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, Caixa Postal 351, CEP 38001-970, Uberaba-MG.

### **INTRODUÇÃO**

A técnica de micropropagação utilizando ápices caulinares e meristemas constitui importante ferramenta para a rápida propagação clonal massal e validação de genótipos de bananeira recentemente lançados pelos programas de melhoramento genético. Isso porque a produção de mudas utilizando métodos convencionais de propagação além de se constituir num mecanismo de disseminação de doenças e pragas apresentam baixa taxa de multiplicação, variando entre 3 a 10 filhotes por matriz/ciclo.

Entre as diferentes etapas da micropropagação, a aclimatização é das mais importantes, já que tem por finalidade corrigir as alterações anatômicas e fisiológicas induzidas durante a fase de cultivo *in vitro*. Desta forma, um aspecto a se considerar nessa fase, refere-se ao padrão de crescimento das plantas. Isso se deve ao fato de que ao sofrer mudança abrupta de ambiente, do *in vitro* para o *ex vitro*, normalmente as plantas apresentam uma parada ou redução do crescimento até que se adaptem às novas condições, o que irá demandar dias ou mesmo semanas até que retornem ao crescimento (Pereira & Fortes, 2000). Assim, o rápido crescimento de mudas após sua transferência *ex vitro* é um fator que poderia contribuir significativamente para que mudas micropropagadas chegassem ao setor produtivo de forma mais rápida e barata.

Para tanto, a escolha adequada de substratos associada à aplicação de fertilizações podem ser imprescindíveis, principalmente se forem utilizados adubos de liberação lenta ou controlada de nutrientes (Yamanishi et al., 2004), como o Osmocote<sup>®</sup> e Basacote<sup>®</sup>, os quais são de grande praticidade para a produção de mudas em recipientes devido à liberação contínua dos nutrientes, redução de perdas por lixiviação, além de manter a planta nutrida constantemente durante todo o período de crescimento (Zekri & Koo, 1992).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em condições de casa de vegetação, com uso de fertilizante Basacote<sup>®</sup> e substratos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O material vegetal consistiu de plantas micropropagadas de bananeira 'BRS FHIA-18' (com cerca de 8 cm), provenientes do enraizamento de brotações axilares em meio semi-sólido de MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftaleno acético) e mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C e 16 horas de irradiância (42 W.m<sup>-2</sup>). Obtidas as brotações, estas foram submetidas a lavagem de suas raízes em água corrente, e imediatamente transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos com as diferentes misturas de substrato e as doses de Basacote<sup>®</sup> Plus 6M [16+8+12 (+2)].

Os tratamentos constituíram-se das doses de Basacote<sup>®</sup> (0; 3; 6 e 9 kg.m<sup>-3</sup> de substrato) associadas as seguintes misturas de substratos: Plantmax<sup>®</sup> HT, Plantmax<sup>®</sup> HT + CAC (casca de arroz carbonizada) (1:1 v/v) e Terra de subsolo + CAC (1:1 v/v), todos acrescidos de 50 g.L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples. Em seguida, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, coberta com filme de polietileno transparente (150

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

microns), apresentando sombreamento de 70% (Sombrence®) e sistema de nebulização intermitente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3, com quatro repetições e três plantas por parcela. As avaliações foram realizadas após noventa dias do transplante, considerando as seguintes variáveis: altura da parte aérea, comprimento do sistema radicular, número de raízes e relação entre a massa seca da parte aérea e massa seca de raízes. Para a análise de variância utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Interação significativa entre os fatores estudados (substratos e doses de Basacote®) foi observada somente para a variável número de raízes. As demais variáveis apresentaram efeito isolado dos fatores, com exceção do comprimento do sistema radicular que não apresentou resposta significativa (Tabela 1).

Em relação à altura da parte aérea, os substratos Plantmax® e Plantmax® + CAC proporcionaram resultados significativamente superiores em detrimento da mistura Terra + CAC. Quanto à adubação, a adição de Basacote® promoveu efeitos positivos e significativos, embora nenhuma diferença tenha sido observada entre as doses estudadas (3, 6 e 9 Kg.m<sup>-3</sup>). Essa superioridade na altura das mudas obtida com o uso de Basacote® se deve possivelmente a solubilidade controlada, o que dificulta a lixiviação de nutrientes, bem como ainda pelo maior fornecimento de nitrogênio em detrimento dos demais macronutrientes.

**Tabela 1.** Características de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira 'BRS FHIA-18', influenciadas pelo substrato e adubo de liberação controlada, após 90 dias de aclimatização. UFLA, Lavras, MG (2007).

Basacote® (Kg.m <sup>-3</sup> )	Substratos			Média
	Plantmax HT	Plant. HT + CAC	Terra + CAC	
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>				
0	34,24	30,47	14,30	26,34 b
3	37,48	33,37	26,67	32,50 a
6	40,88	36,02	27,18	34,69 a
9	41,08	39,29	30,90	37,09 a
<b>Média</b>	38,42 A	34,79 A	24,76 B	
<b>Comprimento do sistema radicular (cm)</b>				
0	17,56	19,79	18,70	18,68 a
3	15,85	15,72	18,47	16,68 a
6	17,51	16,85	16,28	16,88 a
9	19,01	15,55	17,15	17,57 a
<b>Média</b>	17,48 A	17,23 A	17,65 A	
<b>Número de raízes</b>				
0	9,25 Ab	5,59 Bc	3,25 Cc	6,03 c
3	13,25 Aa	8,83 Bb	5,67 Cbc	9,25 b
6	11,92 Aa	11,08 Aab	6,17 Bab	9,72 ab
9	12,25 Aa	12,83 Aa	8,50 Ba	11,19 a
<b>Média</b>	11,67 A	9,58 B	5,90 C	
<b>Relação massa seca da parte aérea/ massa seca de raízes</b>				
0	2,51	2,28	1,41	2,06 b
3	2,30	3,25	2,76	2,77 ab
6	3,23	3,17	2,81	3,06 a
9	2,85	3,69	3,88	3,48 a
<b>Média</b>	2,72 A	3,10 A	2,71 A	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. C.V. (%) = 13,00; 16,82; 14,81 e 29,88.

Para o número de raízes, o substrato comercial Plantmax<sup>®</sup> foi significativamente superior aos demais nas doses 0 e 3 Kg.m<sup>-3</sup> de Basacote<sup>®</sup>. Já quando se utilizou 6 e 9 kg.m<sup>-3</sup> de fertilizante, os substratos Plantmax<sup>®</sup> e Pantmax<sup>®</sup> + CAC foram significativamente semelhantes, porém superiores a mistura Terra + CAC. Quanto à relação massa seca da parte aérea/massa seca de raízes, nenhum efeito significativo foi verificado entre os substratos, diferentemente do emprego de Basacote<sup>®</sup>, em que a adição de 6 e 9 Kg.m<sup>-3</sup> de substrato promoveu resultados significativamente superiores quando comparado a ausência deste fertilizante (Tabela 1).

Resultados positivos da utilização de adubo de liberação controlada associada ao substrato comercial plantamx foram relatado por Oliveira et al. (1995) em mudas de cafeeiro. De acordo com estes autores, a adição de osmocote (fórmula 17-9-13) ao referido substrato proporcionou melhoria na qualidade das mudas como maior altura e vigor, melhor sanidade, antecipação de 40 dias na liberação das mesmas e considerável economia de mão-de-obra. Adicionalmente, efeitos benéficos do uso de adubos de liberação lenta sobre o crescimento e teores de nutrientes para a produção de mudas foram reportados por Del Quiqui et al. (2004) e Yamanishi et al. (2004) para as culturas do eucalipto e mamoeiro.

Quanto ao substrato, Silva et al. (2001) obtiveram respostas superiores com a utilização de Plantmax<sup>®</sup>-eucalipto para a formação de mudas de maracujazeiro azedo, o que foi relacionado à composição química deste substrato, que possui consideráveis teores de nutrientes, principalmente N, P, K e Ca + Mg.

## CONCLUSÕES

O substrato plantmax<sup>®</sup> HT acrescido de 3 kg.m<sup>-3</sup> de Basacote<sup>®</sup> Plus 6M [16+8+12 (+2)] é o mais indicado visando o melhor crescimento das mudas de bananeira 'BRS FHIA-18', na fase de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DEL QUIQUI, E.M.; MARTINS, S.S.; PINTRO, J.C.; ANDRADE, P.J.P. de; MUNIZ, A.S. Crescimento e composição mineral de mudas de eucalipto cultivadas sob condições de diferentes fontes de fertilizantes. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.26, n.3, p.293-299, 2004.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3:** sistema de análise estatística. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.

MURASHIGE, T.; SKOOG F. A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, P.S.R.; GUALBERTO, R.; FAVORETO, A.J. Efeito do osmocote adicionado ao substrato plantmax na produção de mudas de café em tubetes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 21, 1995, Caxambu. **Anais...** Caxambu: PROCAFÉ/DENAC, 1995. p.70-72.

PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R. de L. Desfolhamento e baixa temperatura em plantas micropropagadas de macieira como forma de superar a parada de crescimento durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.12, n.2, p.135-145, 2000.

SILVA, R.P. da; PEIXOTO, J.R.; JUNQUEIRA, N.T.V. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.23, n.2, p.377-381, agosto 2001.

ZEKRI, M.; KOO, R. C.J. Use of controlled-release fertilizers for young citrus trees. **Scientia Horticulturae**, v.49, p.233-241, 1992.

YAMANISHI, O.K.; FAGUNDES, G.R.; FILHO, J.A.M.; VALONE, G. de V. Efeito de diferentes substratos e duas formas de adubação na produção de mudas de mamoeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.26, n.2, p.276-279, Agosto 2004.

**PALAVRAS-CHAVE**

*Musa* spp; micropropagação; substratos; fertilidade.



## **Anatomia foliar de cultivares de bananeira, influenciada por mudanças no ambiente de cultivo na fase de enraizamento/alongamento *in vitro*.<sup>1</sup>**

Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Miyata, Luzia Yuriko<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [filipealmendagna@yahoo.com.br](mailto:filipealmendagna@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC.

### **INTRODUÇÃO**

Nos últimos anos, mudanças significativas ocorreram no sistema de produção de mudas de bananeira devido ao aumento de doenças e do nível de tecnificação empregado nas lavouras, assim como também pela ineficiência dos métodos convencionais de propagação que, além de apresentarem baixa taxa de multiplicação, podem se constituir num mecanismo de disseminação de doenças e pragas. Diante desta realidade, tornou-se imprescindível à utilização de mudas com elevado padrão genético e fitossanitário, o que tem sido possível por meio da micropropagação, que além de permitir a obtenção massal de mudas de excelente qualidade, possibilita ainda a rápida propagação e validação de cultivares lançadas pelos programas de melhoramento genético (Rocha, 2005).

Contudo, modificações nos métodos de cultivo *in vitro* de musáceas têm sido foco de pesquisas, destacando-se entre as mais importantes, a substituição das lâmpadas fluorescentes pela luz natural, associada ou não à redução nos níveis exógenos de sacarose (Kodym & Zapata-Arias, 2001; Rocha, 2005). Isso porque os gastos com iluminação artificial nas salas de cultivo somam, aproximadamente, 65% do total de energia elétrica utilizada nos laboratórios de cultura de tecidos de plantas (Standaert de Metsenaere, 1991). Porém, as informações e o entendimento sobre os efeitos da luz natural e da alteração nos níveis de sacarose sobre as plantas cultivadas *in vitro* e sua subsequente aclimatização, ainda são incipientes. Dessa forma, estudos que contribuam para uma melhor compreensão dos efeitos desta fonte de luz na micropropagação de genótipos de bananeira são necessários para sua aceitação e aplicação, na obtenção massal de plantas.

Objetivou-se estudar a anatomia foliar de plantas de bananeira submetidas a alterações no ambiente de cultivo na fase de enraizamento *in vitro*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Como material vegetal foram utilizadas brotações axilares, originadas de explantes em fase de multiplicação e mantidas sob temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , irradiância de  $42 \text{ W.m}^{-2}$  e fotoperíodo de 16 horas. Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético) e  $6 \text{ g.L}^{-1}$  de ágar (Merse<sup>®</sup>), com pH 5,8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento. Os tratamentos consistiram de duas concentrações de sacarose ( $15$  e  $30 \text{ g.L}^{-1}$ ), duas cultivares de bananeira [Caipira (AAA) e Pacovan (AAB)] e dois ambientes de cultivo (sala de crescimento – artificial e casa de vegetação – natural), em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2$ . O cultivo foram realizados em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio e selados com filme transparente.

O ambiente artificial foi constituído de uma sala de crescimento, possuindo iluminação fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial), com irradiância média de  $42 \text{ W.m}^{-2}$ , fotoperíodo de 16 horas e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . O ambiente natural consistiu de uma casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns) e sombreamento de 70%, apresentando os seguintes parâmetros ambientais: (temperaturas máximas, mínimas e médias de  $26^\circ\text{C}/32^\circ\text{C}$ ;

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

16°C/16°C e 20°C/23°C) e irradiâncias máximas, mínimas e médias de 93,95 W.m<sup>-2</sup>/199,69 W.m<sup>-2</sup>; 11,13 W.m<sup>-2</sup>/10,66 W.m<sup>-2</sup> e 49,38 W.m<sup>-2</sup>/99,43 W.m<sup>-2</sup>), referentes a dias nublado e claro típicos do período de experimentação. Dados de radiação solar diurna, incidente na altura dos frascos, foram obtidos por sensores de radiação (LI-200SA, Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Li-cor.Neb), a intervalos de meia hora, enquanto os dados de temperatura foram obtidos com termo-higrógrafo.

Para as avaliações anatômicas foram empregadas seções transversais e paradérmicas (adaxial e abaxial), obtidas do terço médio da segunda folha expandida (direção ápice-base), coletadas de diferentes plantas de cada tratamento e previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen 1940) por 72 horas e conservadas em álcool etílico 70% (v/v). As seções transversais e paradérmicas foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio a 50% (v/v), lavadas em água destilada e coradas com azul de astra-safranina e safranina 1%, respectivamente. Para as avaliações nas seções transversais foi utilizado microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica e objetiva de 40X, sendo efetuadas duas medições em 5 folhas, na região após o terceiro feixe lateral, totalizando 10 repetições/tratamento. Nas seções paradérmicas empregou-se microscópio Olympus CBB (objetiva de 40X), com o auxílio de câmara clara, sendo as avaliações feitas em quatro campos da região mediana de seis folhas/tratamento, totalizando de 24 campos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições e quatro explantes por parcela. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos às análises de variâncias individuais (para cada ambiente de cultivo), realizando-se em seguida, o teste de homogeneidade de variância e a análise conjunta. Para isso, utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo Teste F ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito significativo da interação entre os três fatores estudados (ambiente x sacarose x cultivar) foi observado para a espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso, espessura do limbo foliar e densidade estomática da epiderme da face abaxial (Tabela 1). Por outro lado, as demais características tiveram influência da interação dupla entre os fatores e, em alguns casos, dos fatores isolados (Tabela 2).

Para a cultivar Caipira, incremento significativo na espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso foi verificado em plantas mantidas sob ambiente natural, em ambas as concentrações de sacarose. Quanto ao limbo foliar, nenhuma diferença significativa foi observada entre os ambientes. Já em relação à densidade estomática *abaxial*, diferença significativa entre os ambientes foi observada apenas com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, embora o ambiente natural tenha promovido maior densidade média (Tabela 1).

Na 'Pacovan', resultados significativamente superiores para a espessura do parênquima paliçádico e densidade estomática abaxial foram observados em ambiente natural, em ambas as concentrações de sacarose. Já para a espessura do parênquima esponjoso e do limbo foliar, o ambiente natural foi significativamente superior apenas em meio contendo 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela 1).

Efeito positivo do aumento da irradiância sobre o espessamento do mesófilo e a contribuição significativa do parênquima paliçádico neste espessamento foram observados por Hanba et al. (2002), em espécies de *Acer*. Já estudo realizado por Deccetti (2004) mostrou que plantas de *Annona glabra* enraizadas *in vitro* sob 300  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  tiveram aumentos significativos de espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso. Ainda de acordo com este autor, a diferenciação pronunciada dos parênquimas pode ser determinante na otimização do processo de fotossíntese e potencialmente benéfico na sobrevivência *ex vitro*. Quanto aos estômatos, incremento na densidade estomática da face *abaxial* em explantes de plantas *in vitro* de bananeira sob ambiente natural, com 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose foi anteriormente relatado por Rocha (2005).

**Tabela 1.** Modificações na anatomia foliar de plantas *in vitro* de bananeira, influenciadas pelo ambiente de cultivo (Natural e Artificial), sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>) e cultivares (Pacovan e Caipira), após 45 dias de enraizamento. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Ambiente	Caipira		Média	Pacovan		Média
	15	30		15	30	
<b>Espessura do parênquima paliçádico (µm)</b>						
Natural	67,95 aA	66,60 aA	72,23 a	71,55 aB	82,80 aA	72,23 a
Artificial	48,15 bA	54,10 bA	49,08 b	51,75 bA	42,30 bB	49,08 b
Média	59,85 A	61,45 A		59,85 A	61,45 A	
CV (%)						11,77
<b>Espessura do parênquima esponjoso (µm)</b>						
Natural	85,50 aA	79,20 aA	76,05 a	62,55 aB	76,95 aA	76,05 a
Artificial	67,95 bA	66,00 bA	59,59 b	61,65 aA	42,95 bB	59,59 b
Média	69,41 A	66,23 A		69,41 A	66,23 A	
CV (%)						15,09
<b>Espessura do limbo foliar (µm)</b>						
Natural	277,20 aA	268,20 aA	272,36 a	256,95 aB	287,10 aA	272,36 a
Artificial	279,90 aA	264,00 aA	251,85 b	255,15 aA	208,35 bB	251,85 b
Média	267,30 A	256,91 B		267,30 A	256,91 B	
CV (%)						6,70
<b>Densidade estomática abaxial</b>						
Natural	158,05 aA	167,23 aA	155,60 a	149,48 aA	147,63 aA	155,60 a
Artificial	150,69 aA	131,09 bB	132,47 b	121,92 bA	126,19 bA	132,47 b
Média	145,03 A	143,04 A		145,03 A	143,04 A	
CV (%)						13,61

Médias seguidas por letras distintas, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Para a hipoderme *adaxial*, o ambiente artificial proporcionou espessamento significativamente superior somente com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e para ambas as cultivares. Já para a hipoderme *abaxial*, apenas a 'Caipira' foi influenciada pelo ambiente de cultivo ( $P < 0,05$ ), com maior espessamento em plantas submetidas ao ambiente artificial. Por outro lado, nenhum efeito significativo foi evidenciado para a sacarose (Tabela 2). Respostas semelhantes foram relatadas por Rocha (2005) para a cv. 'Prata-Anã', que observou maior espessura das hipodermes *abaxial* e *adaxial* em plantas mantidas em sala de crescimento.

**Tabela 2.** Modificações na anatomia foliar de plantas *in vitro* de bananeira, influenciadas pelo ambiente de cultivo (Natural e Artificial), sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>) e cultivares (Pacovan e Caipira), após 45 dias de enraizamento. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )	Hipoderme adaxial (µm)			Hipoderme abaxial (µm)			Densidade estomática adaxial		
	Ambiente		Média	Ambiente		Média	Ambiente		Média
	Natural	Artificial		Natural	Artificial		Natural	Artificial	
15	48,15 aB	75,60 aA	61,88 a	45,23*	44,78*	45,00 a	43,51*	37,40*	40,45 a
30	52,88 aA	56,63 bA	54,75 b	45,00*	47,48*	46,24 a	46,58*	37,69*	42,13 a
Média	50,51 B	66,11 A		45,11 A	46,13 A		45,04 A	37,54 B	

Cultivar	Ambiente		Média	Ambiente		Média	Ambiente		Média
	Natural	Artificial		Natural	Artificial		Natural	Artificial	
Caipira	46,80 bB	69,68 aA	58,24 a	46,58 aB	50,18 aA	48,38 a	35,55*	31,26*	33,41 b
Pacovan	54,23 aB	62,55 bA	58,39 a	43,65 aA	42,08 bA	42,86 b	54,53*	43,83*	49,18 a
Média	50,51 B	66,11 A		45,11 A	46,13 A		45,04 A	37,54 B	

Cultivar	Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )		Média	Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )		Média	Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )		Média
	15	30		15	30		15	30	
Caipira	61,88*	54,60*	58,24 a	47,70*	49,05*	48,38 a	32,19*	34,63*	33,41 b
Pacovan	61,88*	54,90*	58,39 a	42,30*	43,43*	42,86 b	48,72*	49,64*	49,18 a
Média	61,88 A	54,75 B		45,00 A	46,24 A		40,45 A	42,13 A	
CV (%)	15,78			12,23			26,24		

Médias seguidas por letras distintas, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade. (\* indica a ausência de interação dupla significativa).

Em relação à densidade estomática *adaxial*, número significativamente superior de estômatos por mm<sup>2</sup> foram obtidos em plantas submetidas ao ambiente natural e na cultivar Pacovan, diferentemente da sacarose que não influenciou nas respostas ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). De acordo Castro (2002) e Kundu & Tigerstedt (1998), o incremento na densidade estomática pode permitir que a planta eleve a condutância de gases, evitando que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições de ambiente.

## CONCLUSÕES

O enraizamento/alongamento *in vitro* de brotações de bananeira em ambiente de luz natural promove maior espessamento dos parênquimas clorofilianos e incremento na densidade estomática. Alterações benéficas na anatomia foliar decorrentes da redução na concentração de sacarose no meio MS são menos evidentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, E. M. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento.** 2002. 221 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DECETTI, S. F. C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p.255-258.

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.

JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine') **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 141-14, 1999.

KUNDU, S. K.; TIGERSTEDT, P. M. A. Variation in net photosynthesis, stomatal characteristics, leaf area and whole plant phytomass production among ten provenances of neem (*Azadirachta indica*). **Tree Physiology**, Victoria, v. 19, n. 1, p. 47-52, Jan. 1998.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas.** 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Lavras, MG.

STANDAERT-DE-METSANAERE, R. E. A. Economic considerations. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation technology and application.** Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 131-140.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp; alterações anatômicas; luz natural; sacarose.

## Desenvolvimento de mudas de *Cattleya* (*Orchidaceae*) em diferentes recipientes

Sorace, Mauren <sup>1</sup>; Padovanni, Nathália <sup>2</sup>; Faria, Ricardo Tadeu <sup>3</sup>; Schnitzer, Jenniffer Aparecida <sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Bióloga, Esp. Mestranda, e-mail: [mauren.uel@bol.com.br](mailto:mauren.uel@bol.com.br); <sup>2</sup> Acadêmica de Biologia da UEL; <sup>3</sup> Eng<sup>o</sup> Agr., Dr., Professor Associado do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL- PR) – Bolsa produtividade CNPq, Cx. Postal 6001, e-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br), 86051-990, fone: (43) 3371-4770, Londrina, PR; <sup>4</sup> Bióloga, Esp. Mestranda em Agronomia.

### INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Cattleya* são encontradas como nativas desde à região do México, América Central até a América do Sul, tendo sido identificadas cerca de 70 espécies das quais 20 são nativas do Brasil (Pabst e Dungs, 1975).

A sobrevivência e o crescimento de plântulas micropropagadas, após a remoção do meio de cultivo *in vitro*, estão entre as principais dificuldades encontradas em várias culturas. Esta fase é muito delicada, não apenas porque representa um estresse para a plântula, mas também, pelo perigo de infecções por fungos e bactérias que podem se desenvolver neste estágio (Tomolato e Costa, 1998).

Existem poucos trabalhos que relatam os detalhes do procedimento de transplante e aclimação das plantas micropropagadas. Assim, as dificuldades e as soluções encontradas em tal processo tornam-se ainda maiores em sistemas de produção comercial.

No processo de aclimação das plântulas, devem ser controlados os fatores que possam ser limitantes do desenvolvimento, como: estresse hídrico, fotossíntese, temperatura, luminosidade, substratos, nutrientes e fitossanidade (Moraes et al., 2002). Entretanto, plântulas cultivadas *in vitro* geralmente apresentam características morfofisiológicas diferentes quando comparadas às que crescem diretamente no campo ou em casa de vegetação, fator responsável pela baixa taxa de sobrevivência *ex vitro* (Preece e Sutter, 1991).

O recipiente onde será colocada a planta exerce grande influência sobre o desenvolvimento da mesma, entre os fatores afetados destacam-se a drenagem e o espaço para o crescimento das raízes. Para tanto, o substrato deve ser ideal para o cultivo com características como economia hídrica, aeração, permeabilidade, poder de tamponamento para valor de pH e capacidade de retenção de nutrientes (KÄMPF, 2000).

As mudas de orquídeas geralmente são plantadas em um único vaso formando um coletivo. Nos estudos de aclimação os recipientes descritos na literatura são os vasos de cerâmica (Colombo et al., 2005), bandejas de isopor (Faria et al., 2005) e vasos plásticos (polipropileno) (Moraes et al., 2002). Porém não há na literatura estudo da eficiência da utilização de diferentes recipientes no enraizamento de mudas de *Cattleya*.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento vegetativo de mudas de *Cattleya loddigesii* e *Cattleya intermedia* x *Laelia purpurata carnea*, utilizando diferentes tipos de recipientes e aplicação de ácido naftalenoacético, na fase de aclimação.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina (UEL), localizada

a 23°23' de Latitude Sul, 51°51' de Longitude Oeste e Altitude média de 556m, durante o período de outubro de 2005 à março de 2006.

Foram utilizados mudas de *Cattleya loddigesii* e um híbrido de *Cattleya intermedia* x *Laelia purpurata carnea*, propagadas *in vitro*, com aproximadamente 3 cm ± 0,5 cm de altura. As mudas foram lavadas em água corrente para retirada de todo meio de cultura (MS), imersas em solução diluída de hipoclorito de sódio (5%), durante dois minutos e transplantadas em diferentes recipientes, contendo esfagno como substrato. Os recipientes foram mantidos em casa de vegetação, com 50% de luminosidade e protegidos de chuva com cobertura plástica.

Os recipientes utilizados foram: T1 - bandeja preta de plástico, de 33,5 cm de largura, e 5 cm de altura e 50 cm de comprimento, composta de 200 células; T2 – bandeja de isopor, de 14,5 cm de largura, e 4 cm de altura e 21 cm de comprimento; T3 – bandeja de plástico fechado (bolo), de 16,5 cm de largura, e 10 cm de altura e 23 cm de comprimento, com tampa transparente; T4 – vaso de cerâmica, de 8 cm de altura e 17 cm de diâmetro.

Semanalmente foram feitas pulverizações de ácido naftalenoacético (ANA), na dose de 200 mg.L<sup>-1</sup>, tendo sido realizadas três aplicações (5 ml) no substrato. As mudas foram irrigadas duas vezes ao dia manualmente durante o verão e no inverno uma vez ao dia, e adubadas mensalmente com adubo biofertil líquido, na concentração de 2 ml.L<sup>-1</sup>.

Os parâmetros avaliados após 6 meses do início do experimento foram: altura, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotos, massa fresca total e massa seca. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições contendo 20 plântulas cada parcela, por espécie. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey à 5%.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados de comprimento da maior raiz, número de raízes, altura da parte aérea, comprimento da maior folha, número de folhas, número de brotos, massa fresca total, da espécie *Cattleya loddigesii* são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Médias referentes à comprimento da maior raiz, número de raízes, altura, comprimento da maior folha, número de brotos, massa fresca total de plântulas de *Cattleya loddigesii*, após sete meses do início do experimento.

Tratamentos com (ANA)	Comprimento da maior raiz (cm)	Número de raízes (*)	Altura (cm)	Comprimento da maior folha (cm)	Número de folhas (*)	Número de brotos (*)	Massa fresca total (mg)
T1 – bandeja isopor	7,36 a	4,28 ab	3,92 ab	3,32 a	2,97 b	0,62 a	1,15 ab
T2 – bandeja preta	7,43 a	4,83 a	4,37 a	3,68 a	3,99 a	0,64 a	1,55 a
T3 – vaso cerâmica	6,0 a	3,69 ab	4,24 a	3,40 a	3,05 b	0,45 ab	1,54 a
T4 – bandeja de plástico (bolo)	4,15 b	3,32 b	3,87 b	3,14 b	2,66 b	0,49 ab	0,78 b
<b>CV%</b>	<b>10,96</b>	<b>15,08</b>	<b>7,52</b>	<b>9,18</b>	<b>6,84</b>	<b>27,13</b>	<b>17,18</b>

\*Dados sob transformação raiz quadrada.

\*\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

A bandeja preta representou os melhores resultados em relação aos parâmetros avaliados, e proporcionou economia na irrigação e substrato, devido ao tamanho pequeno das células. Neste tipo de recipiente as mudas são colocadas de forma unitária, proporcionando um melhor desenvolvimento e livre de concorrência entre ambas. No entanto, a bandeja tipo bolo (plástico), não proporcionou crescimento e desenvolvimento vegetativo ideal para as plântulas, devido o recipiente se encontrar fechado, provocando estiolamento.

Em trabalho desenvolvido com *Oncidium baueri*, Faria et al. (2005) obtiveram resultados satisfatórios no crescimento e desenvolvimento das plântulas com aplicação de solução contendo auxina.

Na tabela 2, são encontrados os resultados de comprimento da maior raiz, número de raízes, altura da parte aérea, comprimento da maior folha, número de folhas, número de brotos, massa fresca total, de plântulas de um híbrido de *Cattleya intermedia* x *Laelia purpurata carnea*.

**Tabela 2** - Médias referentes à comprimento da raiz, número de raízes, altura, comprimento da maior folha, número de brotos, massa fresca total de plântulas de um híbrido de *Cattleya intermedia* x *Laelia purpurata carnea*, após sete meses do início do experimento.

Tratamentos com (ANA)	Comprimento da maior raiz (cm)	Número de raízes (*)	Altura da parte aérea (cm)	Comprimento da maior folha (cm)	Número de folhas (*)	Número de brotos (*)	Massa fresca total (mg)
T1 – bandeja preta	8,37 a	8,69 a	5,47 a	4,23 a	5,35 a	1,46 a	3,47 a
T2 – bandeja isopor	7,51 ab	7,18 ab	4,81 ab	3,95 ab	4,82 ab	1,33 a	2,74 ab
T3 – vaso cerâmica	7,14 a	7,18 ab	4,83 ab	3,79 ab	4,89 ab	1,47 a	2,25 bc
T4 – pote de plástico (bolo)	5,97 b	6,22 b	3,91 b	3,58 b	4,2 b	1,14 b	1,66 c
<b>CV%</b>	<b>16,32</b>	<b>11,27</b>	<b>11,09</b>	<b>8,34</b>	<b>10,27</b>	<b>18,15</b>	<b>15,88</b>

\*Dados sob transformação raiz quadrada.

\*\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Em relação as variáveis analisadas a bandeja preta obteve os melhores resultados, devido o ambiente ser adequado, protegido de pragas e doença, proporcionando crescimento e desenvolvimento vegetativo. No entanto, em relação ao volume de raízes Latimer (1991), concluiu que o tamanho do recipiente afeta o desenvolvimento de mudas de quiabeiro [*Abelmoschus esculentus* (L.)] na germinação.

As condições ambientais da bandeja fechada mostram que o substrato permanece úmido por um período maior em relação aos outros e proporciona menor evapotranspiração, prejudicando o desenvolvimento.

## CONCLUSÃO

As bandejas pretas apresentaram maior eficiência na aclimatização de plântulas *Cattleya loddigesii* e para o híbrido de *Cattleya intermedia* x *Laelia carnea*, em conjunto com aplicação do ácido naftaleno acético na concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> em quatro pulverizações semanais. As plântulas obtiveram maior enraizamento e desenvolvimento vegetativo, além da economia na utilização de substrato devido ao pequeno espaço entre as células.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COLOMBO, L.A.; FARIA, R.T.; ASSIS, A.M.; FONSECA, I.C.B. Aclimatização de um híbrido de *Cattleya* em substratos de origem vegetal sob dois sistemas de irrigação. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 27, n. 1, p. 145-150, 2005.

FARIA, R.T.; SORACE, M.; TAKAHASHI, L.S.A. Influência do ácido naftaleno acético no enraizamento e crescimento de plântulas de *Oncidium baueri* (*Orchidaceae*) durante a fase de aclimatização. Londrina, *IX Mata*; 2005.

KÄMPF, A.N. Produção comercial de plantas ornamentais. São Paulo: *Guaíba Agropecuária*, 2000.

MORAES, L.M.; CAVALCANTE, L.C.D.; FARIA, R.T. Substratos para aclimatização de *Dendrobium nobile* Lindl. (*Orchidaceae*) propagadas *in vitro*. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1397-1400, 2002.

PABST, G.F.J. & DUNGS, F. *Orchidaceae Brasiliensis*. Band I Brücke-Verlag Kurt Schmiersow, Hildesheim. 1975.

PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (Ed.) *Micropropagation: technology and application*. Dordrecht: *Kluwer Academic Publisher*, 1991. p. 71-93.

TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. Micropropagação de plantas ornamentais. Campinas: *Instituto Agrônomo*, 1998. (Boletim Técnico 174).

### PALAVRAS-CHAVES:

ANA, orquídeas, fitoreguladores, enraizamento.



## Meios de cultura e BAP na organogênese direta em barbatimão

Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Vargas, Daiane Peixoto<sup>3</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>4</sup>; Padovani, José Marcelo<sup>5</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Ciências Biológicas (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: gabi\_bioufla@hotmail.com; <sup>2</sup>Professor Associado da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia, Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 38291619; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: dvbio@hotmail.com; <sup>4</sup> Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: fernandapereirasoes@yahoo.com.br; <sup>5</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: marcelo\_pado@yahoo.com.br; <sup>6</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: pedrosacorrea@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

Recentes estudos sobre a flora de Cerrado apontam uma grande riqueza de espécies, aproximadamente 6.500 plantas vasculares catalogadas (Nicioli, 2006), sendo grande parte destas representadas por espécies úteis ao homem. No elenco das espécies úteis de Cerrado, algumas tem destaque quanto ao seu valor econômico, dentre elas, o barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville], como medicinal e tanante, entretanto, poucos estudos ligados à domesticação têm sido realizados.

O barbatimão pertence à família Fabaceae é também conhecido como barbatimão-verdadeiro, barba-de-timão, charãozinho-roxo e casca-da-virgindade. A irregularidade na germinação de suas sementes dificulta a obtenção de mudas. Além disso, segundo Lorenzi (2000), o desenvolvimento das mudas e das plantas no campo ocorre lentamente e de forma heterogênea. Por isso, são necessários estudos que contribuam para a caracterização desta espécie.

As técnicas de cultura de tecidos vegetais têm colaborado expressivamente para o avanço do processo de propagação de espécies lenhosas. Dentre elas, destaca-se a micropropagação empregada na multiplicação de clones selecionados (Grattapaglia & Machado, 1998). Uma das vantagens da micropropagação, assim como, de outras técnicas de propagação assexuada está relacionada à possibilidade de capturar e fixar os componentes aditivos e não-aditivos da variância genética por meio da propagação clonal, tornando-se uma ferramenta poderosa associada aos programas de melhoramento florestal para a propagação massal de genótipos superiores (Stein, 2006).

Outros benefícios da micropropagação, em relação aos métodos convencionais da propagação vegetativa, também é o de possibilitar a manipulação e a propagação de plantas de forma contínua, independentemente da época do ano e de forma mais rápida e, ainda, a possibilidade de obtenção e de manutenção de estoques de plantas livres de doenças e o intercâmbio de germoplasma (Grattapaglia & Machado, 1990; Thorpe et al., 1991). Para tanto, são necessários ensaios que permitam conhecer e avaliar o potencial organogênico dos materiais de interesse (Costa, 2005).

As respostas morfogênicas em culturas de células, tecidos e órgãos *in vitro* são dependentes de fatores externos, químicos e físicos, como meio de cultura, reguladores de crescimento e condições ambientais (Vasil, 1987), e também de fatores inerentes ao material vegetal, como fatores hereditários, estado fisiológico do explante e da planta que lhe deu origem (Thorpe et al., 1991). Dos fatores externos, podem-se destacar a utilização dos reguladores de crescimento como as citocininas, que são indispensáveis à divisão celular, à quebra da dominância apical, à indução e à proliferação de gemas axilares e à diferenciação de gemas adventícias (Preece, 1995).

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do tipo meio de cultura e diferentes concentrações de BAP na indução de brotações *in vitro* de barbatimão.

## MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas provenientes de sementes germinadas *in vitro* em MS (Murashige & Skoog, 1962), mantidas em sala de crescimento, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura, irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  e fotoperíodo de 16 horas foram utilizadas como explantes.

Segmentos caulinares com aproximadamente 2,0 cm, contendo duas gemas caulinares, foram inoculados em meios de cultura MS ou WPM (Lloyd & Mc Cown, 1980) contendo 3% de sacarose, suplementados com diferentes concentrações de benzilaminopurina – (BAP) (0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 3,0  $\text{mg L}^{-1}$ ), totalizando doze tratamentos. O meio foi solidificado com 0,7% de ágar e seu pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a  $120^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura, irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas. Após 60 dias, foram avaliados o número de brotações por explante, o comprimento e o número de gemas da maior brotação e a presença de calos na base dos explantes.

Utilizou-se o experimento inteiramente casualizado com fatorial dois (MS e WPM) x seis (concentrações de BAP), com 15 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio com um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR e as médias comparadas pelos modelos lineares generalizados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Tabela 1, observa-se que dos caracteres analisadas, somente o comprimento das brotações não diferiu estatisticamente dos tratamentos.

Para o número de brotações, o meio MS suplementado com  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP foi o que apresentou melhor resultado, com média de 2,6 brotos por explantes (Figura 1) diferindo dos demais tratamentos. A menor taxa de proliferação de brotos ocorreu nos meios sem adição de BAP.

Com relação ao número de gemas, o tratamento MS +  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP foi o que obteve maior média (3,8 gemas por brotação), sendo significativamente diferente dos demais ( $p > 0,05$ ).

Tabela 1. Número médio de brotações, comprimento e número de gemas da maior brotação nos explantes caulinares de barbatimão no meio MS e WPM acrescidos de BAP em diferentes concentrações.

Meio de cultura+ BAP $\text{mg L}^{-1}$	Número de Brotações*	Comprimento das brotações (cm)*	Número de Gemas*
MS	0,8b	0,8a	1,4b
MS+ 0,1	1,2ab	1,4a	2,6ab
MS + 0,5	1,6ab	0,9a	2,4ab
MS + 1,0	2,0ab	1,5a	3,8a
MS + 1,5	1,6ab	0,7a	1,8b
MS + 3,0	2,6a	1,1a	2,4ab
WPM	0,9ab	1,0a	1,7b
WPM + 0,1	1,8ab	1,4a	2,5ab
WPM + 0,5	1,2ab	1,6a	2,6ab
WPM + 1,0	1,7ab	1,7a	2,8ab
WPM + 1,5	1,0ab	0,8a	1,8b
WPM + 3,0	1,12ab	1,1a	2,5ab

\*Letras minúsculas, na coluna, diferiram entre si ao nível de 1%.



Figura 1. Aspecto visual das brotações *in vitro* de barbatimão obtidos a partir de segmentos nodais em meio MS e WPM com adição de BAP.

Conciliando a maior formação de brotações e de gemas, o meio de cultura MS contendo  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP pode ser indicado para a fase de multiplicação.

Santos et al. (2006), estudando a micropropagação de pequi, concluiu que a presença de BAP no meio de cultivo é essencial para a indução de brotações em segmentos nodais desta espécie. Todavia, a combinação de BAP e ANA possibilita maior taxa de indução e desenvolvimento das brotações.

Em todos os tratamentos acrescidos do regulador de crescimento BAP, tanto no meio MS quanto WPM, verificou-se a formação de calos na base dos explantes.

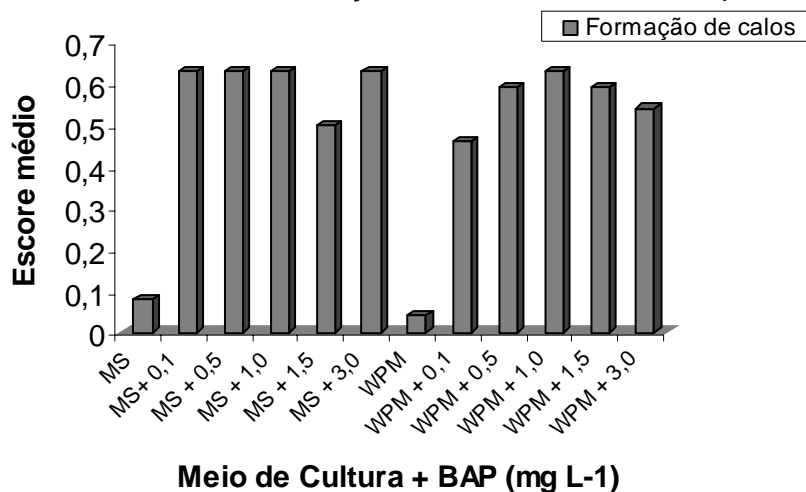


Figura 2. Formação de calos na base de explantes de Barbatimão em meio MS e WPM acrescidos de regulador de crescimento BAP.

Esta calogênese pode ter sido desencadeada pelo balanço hormonal da região em contato com o meio de cultura, onde o equilíbrio entre as concentrações endógenas e exógenas de auxinas e de citocininas promove a formação de calos.

## CONCLUSÕES

A concentração de  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  proporciona a maior formação de brotos.

A concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  produz maior número de gemas.

Recomenda-se a concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP por proporcionar, concomitantemente, maiores valores de formação de brotos e gemas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA M. A. P. de C.; CARMO, D. O. do; SOUZA, F. V. L. D., MAGALHÃES, G. L. de; HANSEN, D. de S. **Efeito de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (ácido giberélico) no alongamento de brotações in vitro de jenipapo (*Genipa americana*)**. Disponível em: [www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvii\\_cbf/propagacao/705.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/propagacao/705.htm) - [anais\\_xvii\\_cbf/fitotecnia/355.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/fitotecnia/355.htm)>. Acesso em: 10 abril. 2007.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA-CNPq, 1990. p. 99-169.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2000. v. 2.

NICIOLI, P.M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron Adstringens* (Mart.) Coville] – Fabaceae**. 2006. 103p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras: UFLA.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PREECE, J. E. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulator. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, Dordrecht, v. 45, n. 1, p. 26-37, 1995.

THORPE, T. A.; HARRY, I. S.; KUMAR, P. P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1991. p. 311-336.

SANTOS, B.R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M.; SILVA, D.P.C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F.P.; PAIVA, P.D. de O. **Micropropagação de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal SP, v.28, n.2, p. 293-296, Agosto 2006.

STEIN, V. C. **Micropropagação, índice mitótico e análise ultra-estrutural de calos de *inga vera* Wild. subsp. *affinis* (DC) T.D. Penn.**. 2006. 100 p. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Lavras: UFLA.

VASIL, I. K. Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grape crops. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 128, n. 3, p. 193-218, May 1987.

### PALAVRAS-CHAVE:

*Stryphnodendron adstringens*, MS, WPM, brotação.

## Efeito de carvão ativado e do grafite no crescimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae).

<sup>1</sup>Gonçalves, Letícia de Menezes<sup>1</sup>; <sup>1</sup>Prizão-Resende, Eliane Cristina; <sup>2</sup>Bassi, Alyadni Janayna Trento; <sup>2</sup>Milaneze-Gutierrez, Maria Auxiliadora; <sup>3</sup>Machado, Maria de Fátima Pires da Silva.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá, Pós-Graduação em Agronomia, Avenida Colombo 5970, CEP 8702900, Maringá-PR, fone (44) 3261 4961; e-mail: let\_over@hotmail.com, elianeprizao@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Cultivo de Orquídeas, Avenida Colombo 5970, CEP 8702900, Maringá-PR, fone (44) 32614961, e-mail: alyadni@hotmail.com; milaneze@uem.br. <sup>3</sup>Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, Laboratório de Genética e Cultura de Tecidos Vegetais, Avenida Colombo 5970, CEP 8702900; Maringá-PR, fone (44) 32614681, e-mail: mfpsmachado@uem.br.

### INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é uma das maiores entre as fanerógamas, sendo altamente especializada, e a mais evoluída dentre as monocotiledôneas (DRESSLER, 1993).

As orquídeas do gênero *Cattleya* são nativas do Brasil (BICALHO, 1980), e apresentam ocorrência natural no México, América Central e do Sul. São as orquídeas mais comercializadas na atualidade, agrupam inúmeras espécies e milhares de híbridos que possuem flores grandes e vivamente coloridas. São, em geral, epífitas, com pseudobulbo ereto e relativamente grande encimado por uma folha (unifoliada) ou duas folhas (bifoliadas) (PAULA e SILVA, 2004). Este gênero abrange mais de 50 espécies, sendo a *Cattleya bicolor* incluída na lista das mais conhecidas no Brasil (ENGLERT, 2000).

Em orquídeas, os métodos de germinação simbiótica foram substituídos pelo procedimento de germinação não-simbiótica, após Lewis Knudson, em 1922, relatar que o fungo não era necessário para a germinação das sementes de orquídeas, caso fossem semeadas em meio de cultura que contém ágar, sais apropriados e açúcar. Das várias fórmulas nutritivas propostas por Knudson, a mais conhecida é a fórmula "C" (KC) de 1946, sendo um meio apropriado para a maioria das espécies de orquídeas (GRIESBACH, 2002).

O carvão ativado é um aditivo bastante utilizado na propagação *in vitro* das mais diversas espécies vegetais, inclusive no cultivo de orquídeas. Diversas funções são atribuídas ao uso de carvão na cultura assimbiótica, e uma das principais utilizações é para o escurecimento do meio de cultura (Pasqual, 2001). Durante as suas revisões, Arditti *et al.* (1982) sugerem a adição de 2 g/L de grafite, quando se deseja apenas o escurecimento do meio em substituição ao carvão ativado, pois este último possui a capacidade de adsorção irreversível de certos compostos como certas vitaminas, hormônios, que podem ser limitantes para o desenvolvimento da cultura.

Neste sentido, a proposta do presente estudo foi verificar os efeitos da concentração de carvão ativado e de grafite, adicionados ao meio de cultura nos processos de desenvolvimento *in vitro* da espécie *Cattleya bicolor*. É possível que a concentração destes compostos possa ser indicada como eficientes para os processos de desenvolvimento das plantas, e que o grafite possa ser usado em substituição ao carvão ativado.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultivo de Orquídeas da Universidade Estadual de Maringá.

Após 8 meses de cultivo, 15 plantas em média de *Cattleya bicolor*, medindo aproximadamente 1,00 cm, foram transferidas para os meios de cultura (KC) adicionados das seguintes concentrações de carvão ativado e grafite: 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 7,5 g L<sup>-1</sup>, sob influência de luz contínua ou fotoperíodo de 14 horas.

O período de cultivo foi de 6 meses, e para cada tratamento com *Cattleya bicolor*, foram utilizadas quatro repetições e 35 ml de meio de cultura por frasco.

A fim de mensurar o desenvolvimento alcançado pelas plantas, foi calculado o Índice de Crescimento (IC) como proposto por Spoerl (1948) e modificado por Milaneze (1997), que considera o número de raízes e folhas formadas. Além do IC, foram observadas as seguintes variáveis: número de brotos, número de folhas, comprimento da parte aérea, número de raízes e comprimento da raiz. Foram consideradas as medidas da parte aérea e da raiz até 2 cm de comprimento, porque somente cerca de 11% e 20% de plantas apresentaram parte aérea e raiz respectivamente acima de 2cm.

Nos ensaios propostos, o pH de todos os meios de cultura foram ajustados com KOH (1N) e HCl (50%) para 5,30 antes da adição de 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e 2,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. Todos os frascos que continham os meios de cultura, juntamente com quatro amostras de pH de cada meio nutritivo para verificação do pH inicial, foram autoclavados por 20 minutos sob pressão de 1 atm. Ao término do período do experimento, foram verificados os valores de pH final alcançados pelos meios nutritivos onde foram cultivados os explantes.

As réplicas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de 25±2°C, sob influência de luz contínua ou fotoperíodo 14 horas, proporcionados por lâmpadas fluorescentes de 40 Watts, com intensidade luminosa de 14,9 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados e os dados foram analisados estatisticamente, utilizando o programa SAS (System for Windows V8) ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F e o Teste de Tukey com 5% da probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição de diferentes concentrações de carvão ativado ou de grafite, no meio de cultura KC, interferiu com a formação de brotos nas plantas de *C. bicolor*, mas não foram dependentes das condições de manutenção da cultura sob luz contínua ou fotoperíodo de 14 horas de luz; não foi verificado também, interação significativa entre a adição do carvão ativado, ou de grafite, e as condições de manutenção das plantas. Embora as comparações entre as médias dos números de brotos nas plantas mantidas nos meios com grafite ou carvão ativado não tenham mostrado diferenças significativas em relação ao meio controle, o maior número de brotos (2,81) em plantas de *C. bicolor* foi observado naquelas mantidas no meio KC que continham 7,5 g L<sup>-1</sup> de grafite, e os menores índices de brotações ocorreram nas plantas mantidas nos meios que continham 3,0 e 4,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado, e 1,5 g L<sup>-1</sup> de grafite (Tabela 1). A interferência negativa do carvão ativado na indução de brotos em plantas cultivadas em meio KC tem sido descrita para orquídeas (Araújo, 2004), e também para outras espécies de plantas (Fráguas, 2003).

O número de folhas formadas em *C. bicolor* não foi diferente nas plantas mantidas em meio de cultura KC que continham as diferentes concentrações de carvão ativado ou de grafite (Tabela 1). Para outras espécies de orquídeas, como para o híbrido *Brassocattleya* 'Pastoral x *Laeliocattleya*' Amber Glow', tem sido indicado que a adição de carvão ativado ao meio de cultura inibe a formação de folhas (Silva *et al.*, 2003). O número de folhas das plantas de *C. bicolor* também não foi dependente das condições de manutenção da cultura sob luz contínua ou fotoperíodo de 14 horas de luz.

Maior número de plantas de *C. bicolor* que apresentaram comprimento da parte aérea em torno de 2 cm ocorreu meio KC adicionado de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite, quando comparado ao tratamento controle.

A adição de 4,5 ou 6,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado ao meio de cultura KC promoveu o desenvolvimento de maior número de raízes nas plantas (Tabela 1). Por outro lado, a adição de diferentes concentrações de grafite não estimulou a formação de raízes em *C. bicolor*, indicando que o escurecimento do meio de cultivo por ambos compostos, carvão ativado ou

grafite, não deve ser o único fator determinante do aumento no número de raízes em plantas cultivadas em meio contendo o carvão ativado.

O número de raízes formadas nas plantas de *C. bicolor* não foi influenciado pelas condições de manutenção da cultura sob luz contínua ou com fotoperíodo de 14 horas, mas o desenvolvimento das raízes, comprimento das mesmas, foi dependente da adição de concentrações específicas de grafite ou carvão ativado, bem como da interação entre as diferentes concentrações destes compostos e as condições de manutenção com luz contínua ou com fotoperíodo de 14 horas; a interação foi significativa. Um maior número de plantas apresentando raízes que atingiram um comprimento de até 2 cm foi observado nos meio KC contendo 3,0 e 7,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado (Tabela 1).

A análise do índice de crescimento que considera o número de raízes e folhas formadas em cada planta, não apresentou diferença estatisticamente significante.

Tabela 1. Teste de média para as variáveis NB (número de brotos), NF (número de folhas), CPA (comprimento da parte aérea), NR (número de raízes), (CR) comprimento da raiz e (IC) Índice de Crescimento em *Cattleya bicolor*.

Tratamentos g L <sup>-1</sup>	Médias dos tratamentos					
	NB	NF	CPA	NR	CR	IC
KC (controle)	1,96 abc	5,56 ab	44,965 b	5,15 c	23,779 c	2514,4 a
KC + Grafite 1,5 g L <sup>-1</sup>	1,49 c	6,49 a	64,964 ab	5,11 c	30,648 abc	2515,0 a
KC + Grafite 3,0 g L <sup>-1</sup>	2,21 abc	5,44 b	65,650 ab	5,26 c	36,041 abc	2505,8 a
KC + Grafite 4,5 g L <sup>-1</sup>	1,82 abc	5,65 ab	69,389 ab	5,20 c	39,284 ab	2599,9 a
KC + Grafite 6,0 g L <sup>-1</sup>	2,59 ab	5,94 ab	81,558 a	5,52 bc	37,153 abc	2638,1 a
KC + Grafite 7,5 g L <sup>-1</sup>	2,81 a	5,71 ab	72,076 ab	6,53 abc	26,405 bc	2696,9 a
KC + Carvão 1,5 g L <sup>-1</sup>	2,28 abc	5,84 ab	64,211 ab	6,47 abc	28,025 abc	2643,0 a
KC + Carvão 3,0 g L <sup>-1</sup>	1,49 c	5,57 ab	66,345 ab	6,46 abc	42,693 a	2741,1 a
KC + Carvão 4,5 g L <sup>-1</sup>	1,51 c	5,97 ab	66,896 ab	7,07 ab	37,920 abc	2754,0 a
KC + Carvão 6,0 g L <sup>-1</sup>	1,92 abc	5,80 ab	65,991 ab	7,70 a	40,740 ab	2858,8 a
KC + Carvão 7,5 g L <sup>-1</sup>	1,67 bc	5,53 ab	65,733 ab	6,18 abc	41,814 a	2635,1 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Os valores de pH dos meios de cultura onde se desenvolveram as plantas de *C. bicolor*, previamente aferidos para 5,30 antes do processo de autoclavagem, foram alterados significativamente quando da adição de grafite ou de carvão ativado. Maiores variações no valor do pH inicial do meio de cultura foram verificadas com a adição de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite e com 4,5 g L<sup>-1</sup> do carvão ativado. O carvão ativado usado na concentração de 3,0 g L<sup>-1</sup> e o controle (KC) não determinaram alterações significativas no pH inicial do meio, enquanto as cinco concentrações de grafite promoveram aumento significativo na variação do pH inicial do meio de cultura KC.

Quanto aos valores do pH final, as diversas concentrações do carvão ativado provocaram a alcalinização dos meios de cultura; uma alteração pronunciada (valor do pH final = 7.12) pode ser verificada com a adição de 3,0 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado no meio de cultura das plantas de *C. bicolor*. Contrastando com as variações de pH detectadas nos meios de cultura contendo carvão ativado, no experimento-controle na ausência de ambos compostos, bem como nos meios contendo as diferentes concentrações de grafite, ocorreu uma acidificação do meio de cultura em relação ao pH inicial da cultura de *C. bicolor* (pH = 5,34).

As alterações nos valores do pH inicial e pH final dos meios de cultura são evidências que merecem destaque porque, o efeito positivo, ou negativo, nas variáveis sob influência das diferentes concentrações de carvão ativado ou grafite pode ser decorrente de alterações do pH dos meios e/ou da interação entre os diferentes fatores com as alterações de pH.

## CONCLUSÕES

O grafite não pode ser utilizado em substituição ao carvão ativado, pois a adição de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite ao meio KC estimulou o comprimento da parte aérea das plantas de *C. bicolor*, mas não promoveu nenhum efeito no desenvolvimento das raízes.

Houve efeito positivo da adição de 6,0 g L<sup>-1</sup> de grafite para promover o desenvolvimento da parte aérea de plantas de *C. bicolor*.

A adição de carvão ativado e grafite promoveram variações pronunciadas no pH inicial e final do meio de cultura KC, principalmente nas diversas concentrações de carvão ativado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, A.G de. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídeas**. 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

ARDITTI, J. et al. Orchid seed germination and seedling culture – a manual. In: \_\_\_\_\_ (Ed.). **Orchid biology: reviews and perspectives II**. New York: Cornell University, 1982. p.244-370.

BICALHO, H.D. Aspectos ornamentais e taxionômicos das orquídeas gênero *Cattleya* no continente sul-americano. In: CONGRESSO DA ESCOLA SUPERIOR AGRONÔMICA LUIZ DE QUEIROZ, 37.; 1980, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1980. p.157-168.

DRESSLER, R.L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Portland: Dioscorides, 1993. 314p.

ENGLERT, S.L. **Orquídeas & bromélias: manual prático de cultivo**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 96 p.

FRAGUAS, C.B. **Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira ‘Roxo de Valinhos’ em diferentes ambientes**. 2003. 109f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

GRIESBACH, R.J. **Development of *Phalaenopsis* orchids for the mass-market: trends in new crops and new uses**. West Lafayette, 2002. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/pdf/griesbach.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2004.

MILANEZE, M.A. **Estudos em orquídeas nativas do Brasil: morfologia de sementes e cultivo assimiótico**. 1997. 233 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1997.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74p.

PAULA, C.C. de.; SILVA, H.M.P. **Cultivo prático de orquídeas**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2004. 106 p.

SILVA, E.F. da. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya* ‘Pastoral’ X *Laeliocattleya* ‘Amber Glow’**. 2003. 62f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003

SPOERL, E. Amino acids as sources of nitrogen for orchid embryos. **American Journal of Botany**, v.35, p.88-95, 1948.



PALAVRAS-CHAVE: *Cattleya bicolor* LINDL., propagação *in vitro*, aditivos.

## **Influência de diferentes concentrações de ANA na multiplicação *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes.**

Soares, Fernanda Pereira<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Souza, Humberto Dias<sup>3</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), Departamento de Biologia - Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, CEP 37200-000. email: [fernandapsoares@hotmail.com](mailto:fernandapsoares@hotmail.com), [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br). <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia - Setor de Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras-MG. email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia, Estagiário do Setor de Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras-MG. email: [lucoutsilva@yahoo.com.br](mailto:lucoutsilva@yahoo.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), pertencente à família *Apocynaceae*, é uma espécie frutífera de ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o Amapá até São Paulo, associada às vegetações de restinga e cerrados interioranos e costeiros.

Apesar de não constar das listas de espécies em extinção, apresenta seu germoplasma bastante ameaçado em diversas regiões, em decorrência da redução das áreas remanescentes dos ecossistemas nos quais ocorre.

O estabelecimento de plantios comerciais de mangabeira tem sido dificultado pelo curto período de armazenamento das sementes e pelo insucesso da sua propagação assexuada pelos métodos tradicionais.

Neste contexto, a micropropagação surge como uma ferramenta da biotecnologia para fixar genótipos de interesse e auxiliar no conhecimento da fisiologia da planta. Sua utilização permite obter plantas em larga escala e em curto espaço de tempo, a partir de pequenos fragmentos de tecidos.

Segundo Bonga (1985), por ser de manipulação relativamente fácil, principalmente devido ao tamanho do explante utilizado, e por originar plantas, em geral, geneticamente mais estáveis, a proliferação de gemas axilares é a técnica mais utilizada para a multiplicação *in vitro* de plantas lenhosas, como a mangabeira.

De acordo com Sano & Almeida (1998), observam-se diversos padrões de multiplicação, dependendo da espécie cultivada. Entretanto, quanto maior o número de brotos, menor será o seu comprimento. A vantagem de se obter brotos normais e alongados (maiores do que 1,5 cm) é que esses enraízam mais facilmente do que brotos curtos.

O crescimento e a organogênese *in vitro* são altamente dependentes da interação entre as substâncias de crescimento que ocorrem naturalmente na planta (hormônios) e os análogos sintéticos (reguladores de crescimento), os quais são adicionados ao meio de cultura (George, 1996).

Quoirin & Lepoivre (1977) constataram que, embora nem sempre as auxinas sejam necessárias no meio de multiplicação, essa classe de reguladores é usada com o intuito de estimular o crescimento das partes aéreas. De acordo com Lundergan & Janick (1979), a presença de uma auxina no meio de multiplicação anula o efeito inibitório das citocininas sobre o alongamento dos explantes. Dentre as auxinas mais usadas nos meios de multiplicação, destacam-se ANA (ácido naftalenoacético), AIB (ácido indolbutírico) e AIA (ácido indolacético).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes concentrações de ANA no processo de multiplicação *in vitro* de mangabeira.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no ano de 2006.

Plântulas de mangabeira germinadas *in vitro* foram utilizadas como fonte de explantes. Segmentos caulinares contendo até duas gemas laterais foram inoculados em meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1980) suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e diferentes concentrações de ANA (0,0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>). Foram utilizados 3% de sacarose e 0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C de temperatura, irradiância de 36 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados o número de brotações, gemas e folhas por explante e o comprimento da maior brotação, aos 35 dias de cultivo.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio contendo um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

As médias referentes ao número de brotações, gemas e folhas e ao comprimento do maior broto foram comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formação de brotações nos explantes caulinares de mangabeira foi observada em todos os tratamentos testados (Figura 1). No entanto, a adição da auxina ANA até a concentração de 0,1 mg L<sup>-1</sup> favoreceu o incremento do número de brotos formados. A partir desse ponto uma queda nos valores dessa variável foi verificada.

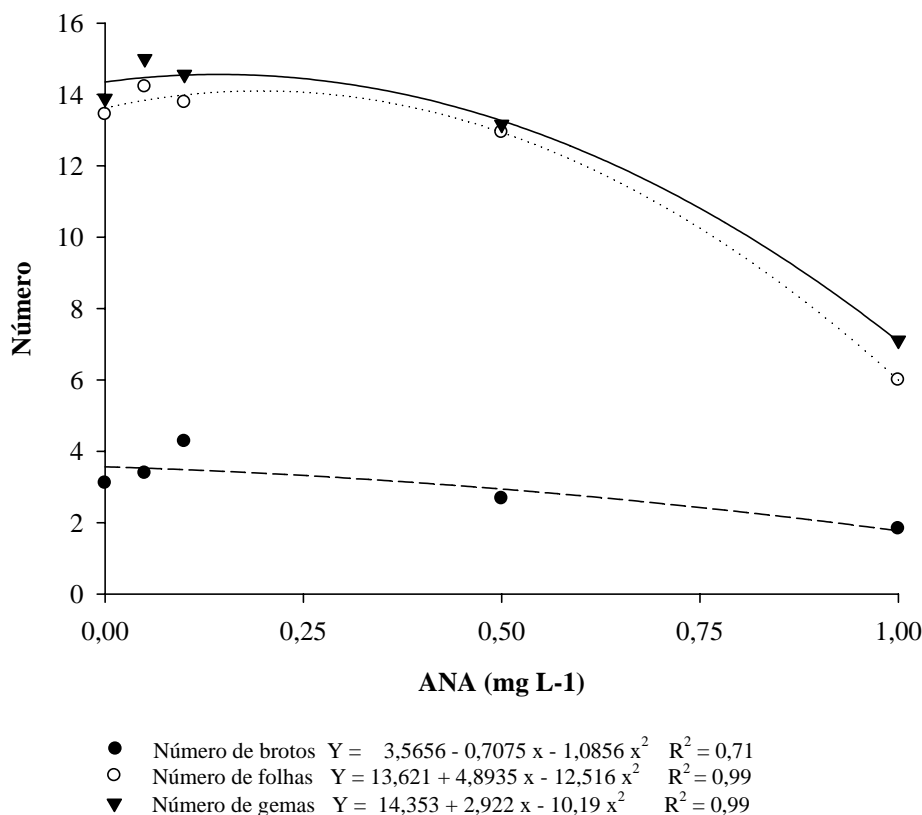


FIGURA 1. Número médio de brotos, folhas e gemas nos explantes caulinares de mangabeira para cada concentração de ANA (0,0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

Maior número de brotos (4,28 por explante) foi encontrado no tratamento que constou da adição ao meio de cultura WPM, de  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA.

Corroborando com esses resultados, trabalhos realizados por Cheema & Sharma (1983) e Ochatt & Caso (1983), na multiplicação *in vitro* de macieira, mostram que a aplicação de baixas concentrações de ANA combinada com BAP, induzem a proliferação de brotações.

Maior número de gemas e folhas (15 e 14,2, respectivamente) foram observados em explantes caulinares cultivados na presença da citocinina BAP, com a suplementação de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA. Os menores valores foram verificados quando a auxina foi adicionada ao meio de cultura na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

Segundo Quoirin & Lepoivre (1977), apesar das auxinas, em alguns casos, serem necessárias para a obtenção de melhores resultados na fase de multiplicação, devem ser adicionadas ao meio de cultura em concentrações baixas.

Para o comprimento da maior brotação, o maior valor médio (4,13 cm) foi obtido em explantes caulinares cultivados em meio nutritivo suplementado apenas com BAP (Figura 2).

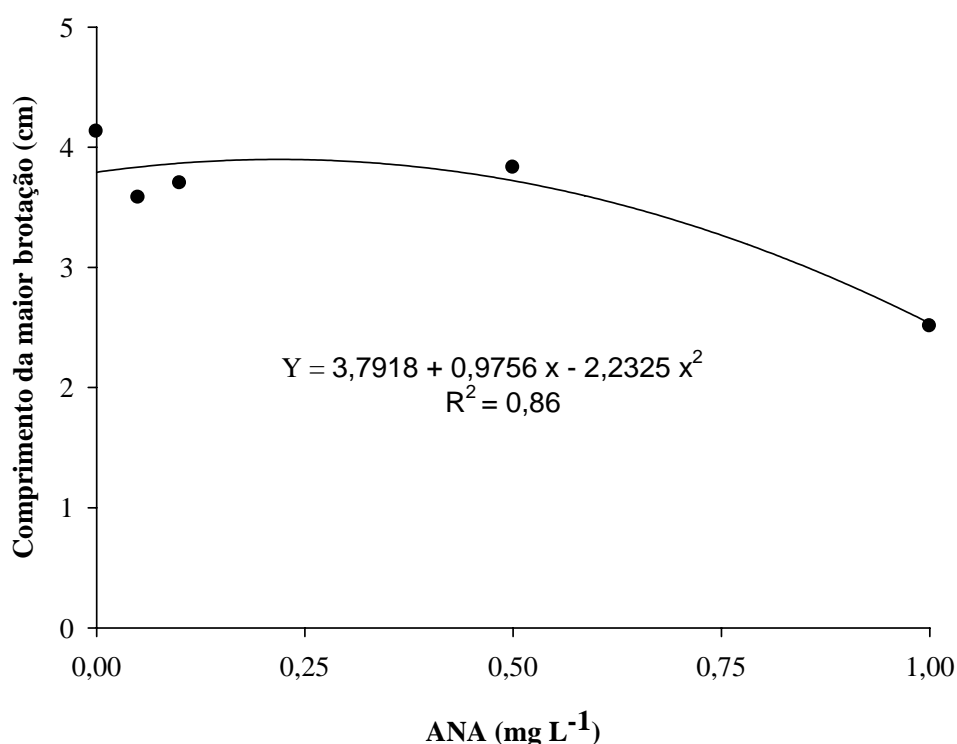


FIGURA 2. Comprimento médio da maior brotação formada nos explantes caulinares de mangabeira, para cada concentração de ANA (0,0; 0,05; 0,1; 0,5 e  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) acrescentada ao meio de cultura WPM suplementado com  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP.

## CONCLUSÃO

O ANA, adicionado ao meio de cultura WPM acrescido de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP, maximiza a multiplicação *in vitro* de mangabeira, somente quando adicionado ao meio de cultura em baixas concentrações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONGA, J.M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J.M., DURZAN, D.J. **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p.4-35.

BORTHAKUR, M.; HAZARIKA, J.; SINGH, R. S. A protocol for micropropagation of *Alpinia galanga*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 3, p. 231-233, 1998.

CHEEMA, G. S.; SHARMA, D. P. *In vitro* propagation of apple rootstocks EMLA 25. **Acta Horticulturae**, v. 131, p. 75-89.

FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 1999.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 1 - The technology. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.

LUNDERGAN, C.; JANICK, J. Low temperature storage of *in vitro* apple shoots. **HortScience**, Alexandria, v. 14, p.514, 1979.

OCHATT, S. J.; CASO, H. C. *In vitro* meristem culture of M.4 apple (*Malus pumila* Mill). Optimal nutrient medium. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 2, p. 39-48, 1983.

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Étude de milieux adaptés aux cultures *in vitro* de *Prunus*. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 78, p.437-442, 1977.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Hancornia speciosa* Gomes; micropropagação; brotações; auxinas.

## Efeito de diferentes fontes de citocinina na micropropagação de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).

Soares, Fernanda Pereira<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>3</sup>; Braga, Franciane Tavares<sup>4</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), Departamento de Biologia - Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, CEP 37200-000. email: [fernandapsoares@hotmail.com](mailto:fernandapsoares@hotmail.com). <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia - Setor de Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras-MG. email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia – Setor de Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras-MG. email: [emcastro@ufla.br](mailto:emcastro@ufla.br). <sup>4</sup>Doutoranda em Fitotecnia, Departamento de Agricultura, UFLA, Lavras-MG. e-mail: [ftbraga@yahoo.com.br](mailto:ftbraga@yahoo.com.br). <sup>5</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras-MG. email: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), espécie da família *Apocynaceae*, vegeta espontaneamente desde os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do Nordeste, até as áreas de cerrado na região central do Brasil. Possui grande importância econômica como espécie frutífera e na recuperação de áreas degradadas (Vieira Neto, 1994).

De acordo com Campbell (1996), a propagação da mangabeira por métodos tradicionais tem sido dificultada pelo fato de suas sementes serem recalcitrantes. Além disso, por ser uma espécie alógama, sua propagação pela via sexuada resulta em elevado grau de variabilidade de inúmeras características de importância econômica.

A propagação vegetativa por meio de estaquia, enxertia e mergulhia, para a mangabeira, também não tem logrado êxito suficiente para ser utilizada em viveiros comerciais (Vasques-Araújo et al., 1996).

Neste contexto, a micropropagação surge como uma ferramenta da biotecnologia para fixar genótipos de interesse e auxiliar no conhecimento da fisiologia da planta. Sua utilização permite obter plantas em larga escala e em curto espaço de tempo, a partir de pequenos fragmentos de tecidos.

Dentre os fatores que controlam a morfogênese, destacam-se os reguladores de crescimento. As citocininas, juntamente com as auxinas, são as classes mais utilizadas. De acordo com Grattapaglia & Machado (1998), para o sucesso da multiplicação *in vitro*, o tipo de citocinina e a sua concentração são os fatores mais importantes a serem observados.

As citocininas são substâncias que, além de serem essenciais à citocinese, promovem alterações na taxa metabólica, atividade enzimática, indução e formação de órgãos, quebra de dominância apical, mobilização de nutrientes orgânicos e inorgânicos e aumento da longevidade de tecidos e órgãos (Oliveira, 2006).

Das citocininas comercialmente disponíveis, a 6-benzilaminopurina (BAP) é a que, em geral, apresenta melhores resultados *in vitro* para promover a multiplicação de diversas espécies, sendo utilizada em aproximadamente 60% dos meios de cultivo, seguida da cinetina (CIN), com cerca de 23% (Grattapaglia & Machado, 1998).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes citocininas na indução de brotações *in vitro* de mangabeira.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no ano de 2006.

Plântulas de mangabeira germinadas *in vitro* foram utilizadas como fonte de explantes. Segmentos caulinares contendo até duas gemas laterais foram inoculados em meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1980) basal e em meio WPM suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de três diferentes citocininas: BAP, CIN e TDZ (thidiazurom). Foram utilizados 3% de sacarose e 0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  de temperatura, irradiância de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados o número de brotações, gemas e folhas por explante e o comprimento da maior brotação, aos 35 dias de cultivo.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 50 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio contendo um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

As médias referentes ao número de brotações, gemas e folhas e ao comprimento do maior broto foram comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve formação de brotações em todos os tratamentos testados (Tabela 1), mesmo na ausência do regulador de crescimento. Entretanto, a adição de citocininas ao meio de cultura basal WPM proporcionou aumento na taxa de proliferação em relação à testemunha.

TABELA 1. Efeito da adição de BAP, CIN e TDZ ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) e formulação salina WPM, no número médio de brotos, gemas e folhas, e tamanho da maior brotação de *Hancornia speciosa* Gomes, 35 dias após a inoculação.

Fonte de citocinina	Nº de brotações por explante	Comprimento médio das brotações (cm)	Nº de gemas por brotação	Nº de folhas
Controle	1,58 b	1,78 c	5,96 c	5,02 c
BAP	1,98 a	4,55 a	19,22 a	18,86 a
TDZ	1,70 b	3,13 b	11,32 b	10,90 b
Cinetina	1,92 a	3,46 b	10,20 b	9,80 b

\* Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

As maiores médias observadas, 1,98 e 1,92 brotações por explante, resultaram da adição ao meio nutritivo de BAP e CIN, respectivamente.

Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al. (2005) que, trabalhando com explantes caulinares de *Anana erectifolius* L. B. Smith, verificou a formação de maior número de brotos (5,83) em meio de cultura suplementado com  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP.

Oliveira (2006), em experimentos visando a indução de brotações em *Annona glabra* L., verificou a formação de 1,33 e 1,26 brotos quando adicionou ao meio de cultura  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP e CIN, respectivamente.

Das citocininas testadas, o TDZ foi a que proporcionou a menor proliferação de brotos. Estes, ao longo da cultura, apresentaram-se mal formados, com caules retorcidos e folhas atípicas. Resultados semelhantes foram encontrados por Nannetti & Pinto (1995) e por Mantovani et al. (2001), na multiplicação de *Heliconia* e *Cordia trichotoma*, respectivamente.

A formação de menor número de brotos com a utilização de TDZ, pode estar relacionada ao fato dessa citocinina ser mais ativa biologicamente que as demais, sendo conveniente o uso de baixas concentrações na cultura de tecidos.

Em relação ao comprimento do maior broto formado, a maior média (4,55 cm) foi verificada na presença de BAP no meio nutritivo.

Maior número de gemas e folhas (19,22 e 18,86, respectivamente) foi observado em explantes caulinares cultivados na presença da citocinina BAP. Os menores valores foram verificados em meio WPM não suplementado com reguladores de crescimento.

## CONCLUSÕES

O meio de cultura WPM, suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> da citocinina BAP, induz as melhores respostas organogênicas na cultura de segmentos caulinares de *Hancornia speciosa* Gomes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPBELL, R. J. South American fruits deserving further attention. In: JANICK, J. (Ed.) **Progress in new crops**. Arlington: ASHS Press, 1996. p. 431-439.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 1999.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.
- LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.
- MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 2, p. 93-101, 2001.
- NANNETTI, D. C.; PINTO, J. E. B. P. Efeito de diferentes níveis de nitrogênio e calico combinados com BAP e TDZ no desenvolvimento de *Heliconia* sp. *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 1995, Lavras. Anais... Lavras, 1995. p. 144.
- OLIVEIRA, L. M. de. **Citocininas nos processos anatômicos, citológicos e fisiológicos durante o cultivo *in vitro* e aclimatização de *Annona glabra* L.** 2006. 110 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SANTOS, A. S. de A.; MACHADO, I. S.; LEÃO, A. L.; RAMOS, A. de. A. Concentrações de BAP e TDZ na propagação *in vitro* de Carauá (*Anana erectifolius* L. B. Smith). **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano VIII, n 35, p. 62-65, 2005.
- VASQUEZ-ARAÚJO, J. E.; LEMOS, E. E. P.; LOUZADA, T. A. Multiplicação de gemas e brotos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em plântulas germinadas *in vitro*. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 14., Salvador, 1996. **Anais...** Salvador: SBF, 1996. p. 313.
- VIEIRA NETO, R. D. **Cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1994. 16 p. (Circular Técnica, 02).

## PALAVRAS-CHAVE

*Hancornia speciosa* Gomes; micropropagação; organogênese; cultura de tecidos.



## **Aclimatização de mudas micropropagadas de gerânio (*Pelargonium graveolens* L.).**

Oliveira, Ana Catarina Lima de<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fatima<sup>2</sup>; Costa, Andréa Santos da<sup>1</sup>; Oliveira, Oliveira, Alisson Marcel Souza de<sup>1</sup>; Fonseca, Valéria O.<sup>1</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFS - Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos - DEA, Av. Marechal Rondon s/n, 49100-000 São Cristóvão-SE; <sup>2</sup>UFS - Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas - 49500-000 Itabaiana-SE. E-mail: arrigoni@ufs.br (Apoio: CNPq).

### **INTRODUÇÃO**

O gerânio (*Pelargonium graveolens* L.), conhecido como malva-rosa é uma de muitas espécies perfumadas do *Pelargonium* usadas como uma fonte do óleo de gerânio. É um subarbusto de 0,80m a 1m de altura, muito ramificado com caule pubescente, perene e nativo da África do Sul (Simon, 1984).

A aclimatização é a fase da micropropagação em que ocorre a transferência das mudas produzidas *in vitro* para o ambiente externo, a casa de vegetação e, posteriormente para o campo. Esse processo consiste de modificações morfo-anatômico-fisiológicas necessárias às plantas para que possam sobreviver em um novo ambiente (Carvalho et al., 1999). Um dos obstáculos para aplicação da prática dos métodos de cultura de tecidos é a dificuldade de transferir com sucesso as mudas da condição *in vitro* para o solo em razão da diferença entre as duas condições (Silva et al., 2003). A aclimatização é constituída de duas etapas: enraizamento (*in vitro* ou *in vivo*) e transferência para condições não estéreis com temperatura e umidade controladas (Dunstan & Turner, 1984).

Fatores como substrato, genótipo, estresse hídrico, tipo e a qualidade do sistema radicular obtidos são importantes para se obter sucesso na sobrevivência das plantas. Raízes curtas, em geral, são mais desejáveis, pois, além de facilitarem o manuseio no momento do plantio, normalmente estão numa fase de crescimento ativo, o que facilita o pegamento da planta (Grattapaglia & Machado, 1998). Quando se trabalha em grande escala, mesmo com um percentual relativamente pequeno de morte dessas plantas, isso pode significar um prejuízo econômico considerável devido ao alto investimento e emprego de mão-de-obra nessa técnica (Terceiro Neto et al., 2004).

Assim sendo o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes misturas de substratos na aclimatização de mudas de gerânio micropropagadas.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado em estufa agrícola protegida com tela sombrite 50% e nebulização intermitente localizada no Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe – UFS.

Mudas de gerânio (*P. graveolens* L.) micropropagadas foram retiradas dos frascos transferidas para bandejas de poliestireno expandido com 72 alvéolos, contendo os diferentes tratamentos. O experimento foi conduzido em ambiente protegido com tela sombrite de 50% e sistema de nebulização intermitente garantindo alta umidade relativa.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando-se quatro substratos: pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) (PCBC); pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) + vermiculita (1:1) (PCBCV 1:1); pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) + vermiculita (2:1) (PCVCV 2:1) e vermiculita + sais MS (VS), Distribuídas em quatro repetições. Cada unidade experimental constituída de cinco plantas..

Aos 40 dias após a implantação do ensaio, as variáveis, sobrevivência (%), altura de planta (cm), comprimento de raiz (cm), número de brotos, número de folhas, peso de massa

fresca e seca de parte aérea. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis, sobrevivência, altura de planta, massa fresca de parte aérea e seca de raiz, foram afetadas significativamente pelas misturas de substratos utilizados na aclimatização de gerânio. Já o comprimento de raiz, número de brotos, número de folhas e massa seca de parte aérea não houve diferenças significativas entre substratos (Tabelas 1 e 2).

As maiores porcentagens de sobrevivência de plantas foram obtidas quando foram utilizados os substratos vermiculita, PCBC e PCBC (1:1) (Tabela 1).

Em relação à altura de plantas, o maior valor foi proporcionado pela utilização de vermiculita, não diferenciando significativamente dos substratos PCBCV (1:1) e PCBCV (2:1) (Tabela 1). Esta mesma tendência foi observada em relação a massa fresca de parte aérea (Tabela 2). Resultados diferentes foram obtidos na aclimatização de mudas de abacaxi, onde a vermiculita proporcionou baixa agregação com as raízes, afetando negativamente o crescimento das plantas (Moreira et al., 2001). Também na aclimatização de mudas micropropagadas de porta-enxerto de macieira 'Marubakaido', ao contrário do obtido com gerânio, a vermiculita mostrou-se o substrato menos eficiente (Hoffmann et al. (2001).

Tabela 1. Médias de sobrevivência (%), altura de planta (cm), comprimento de raiz (cm), número de folhas e brotos na aclimatização de plantas de *P. graveolens* em diferentes misturas de substratos. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Substrato <sup>1</sup>	Sobrevivência (%)	Altura de planta (cm)	Comprimento de Raiz (cm)	Número de Brotos	Número de folhas
PCBC	55,0 ab	2,5 b	7,4 a	0,90 a	7,1 a
PCBCV 1:1	85,0 ab	4,1 ab	10,2 a	1,75 a	13,0 a
PCBCV 2:1	45,0 b	3,6 ab	7,4 a	1,23 a	9,0 a
VS	95,0 a	6,3 a	13,0 a	1,90 a	14,3 a
CV (%)	37,05	39,35	35,50	44,88	37,09

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>PCBC = pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>); PCBCV (1:1) = pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) + vermiculita (1:1); PCBCV (2:1) = pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) + vermiculita (2:1) e VS = vermiculita + sais MS.

Tabela 2. Massa fresca de parte aérea (g) e massa seca de parte aérea e raiz na aclimatização de plantas de *P. graveolens* em diferentes misturas de substratos. São Cristóvão-SE, UFS, 2007.

Substrato <sup>1</sup>	Massa fresca de parte aérea (g)	Massa seca (g)	
		Parte aérea	Raiz
PCBC	55,84 ab	8,30 a	0,06 b
PCBCV 1:1	86,26 ab	11,92 a	0,10 b
PCBCV 2:1	45,68 b	8,62 a	0,05 b
VS	96,47 a	14,89 a	0,19 a
CV (%)	35,28	34,88	40,22

\*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>PCBC = pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>); PCBCV (1:1) = pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) + vermiculita (1:1); PCBCV (2:1) = pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1g.L<sup>-1</sup>) + vermiculita (2:1) e VS = vermiculita + sais MS.

## CONCLUSÃO

De um modo geral o melhor substrato utilizado na aclimatização de plantas micropropagadas de *P. graveolens* L. foi a vermiculita com adição semanal de sais de MS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, G.R.; PASQUAL, M.; RESENDE, E.; SCARANTE, M.J.; CARVALHO, G.R. Aclimatização de plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) propagadas "in vitro". **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n.3, p.483-490, 1999.

DUNSTAN, D.I.; TURNER, K.E. The acclimatization of micropropagated plants. In: VASIL, I.K. (ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants: laboratory produces and application**. Orlando: Academic, 1984. v.1., p.123-129.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1998. p.183-260.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M; CHALFUN N.N.J; FRÁGUAS C.B. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'Marubakaido'. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, p. 462-467, 2001.

MOREIRA, M.A.; CARVALHO, J.G. de; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C.B.; SILVA, A.B. da. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.462-467, 2001.

SILVA, A.B.; PASQUAL, M.; MACIEL, A.L.R.; DUTRA, L.F. BAP e substratos na aclimatização de plântulas de glioxinía (*Sonningia speciosa* Lood. Hiern.) proveniente de cultura de tecidos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.2, p.255-260, 2003.

SIMON, J.E., A.F. Chadwick and L.E. Craker. **Herbs: An Indexed Bibliography. 1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone**. Hamden: Archon Books. 1984. 770 pp.

TERCEIRO NETO, C.P.C.; HERNANDEZ, F.F.F.; BEZERRA, F.C.; SOUSA, R.F.; CAVALCANTI, M.L.F. Efeito da concentração salina da solução nutritiva na aclimatização de plantas micropropagadas de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.4, n.2, p.1-8, 2004.

## PALAVRAS-CHAVES

*Pelargonium graveolens* (L.); Geraneaceae; aclimatização.

## Efeito residual de diferentes fontes de citocinina na rizogênese *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).

Soares, Fernanda Pereira<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Souza, Humberto Dias<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), Departamento de Biologia - Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, CEP 37200-000. email: [fernandapsoares@hotmail.com](mailto:fernandapsoares@hotmail.com), [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br). <sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Biologia - Setor de Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras-MG. email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia (UFLA), Estagiário do Setor de Fisiologia Vegetal, Lavras-MG. <sup>4</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Lavras-MG. e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), pertencente à família *Apocynaceae*, é uma espécie frutífera de clima tropical que vegeta espontaneamente no Nordeste do Brasil, atingindo também o Cerrado da região central do país. Produz frutos comestíveis, consumidos *in natura* e utilizados na industrialização de sucos, doces e sorvetes (Espíndola & Ferreira, 2003).

De acordo com Campbell (1996), as sementes extremamente recalcitrantes da mangabeira têm dificultado sua propagação pelos métodos tradicionais. Além disso, por ser uma espécie alógama, sua multiplicação pela via sexuada resulta na variabilidade de características importantes na formação de pomares comerciais.

A propagação vegetativa por meio de estaquia, enxertia e mergulhia, para a mangabeira, também não tem logrado êxito suficiente para ser utilizada em viveiros comerciais (Vasques-Araújo et al., 1996).

Neste contexto, a micropropagação surge como uma ferramenta importante na fixação de genótipos superiores e na manutenção de coleções de germoplasma. Sua utilização permite a clonagem, em curto espaço de tempo e em condições bem estabelecidas, de um grande número de plantas com alta qualidade genética e fitossanitária.

Dentre os fatores que controlam a morfogênese *in vitro*, destacam-se os reguladores de crescimento. As citocininas, juntamente com as auxinas, são as classes mais utilizadas, as primeiras na etapa de multiplicação e as segundas, na de enraizamento.

Segundo Hartmann et al. (1997), entre as auxinas, o AIB (ácido indolbutírico) tem sido bastante utilizado por não causar fitotoxicidade aos explantes em uma larga faixa de concentração e ser eficiente para uma grande variedade de espécies.

No processo de micropropagação, é comum o efeito cumulativo ou residual de reguladores de crescimento. Segundo Grattapaglia & Machado (1998) a ação das citocininas, por exemplo, não se restringe a uma única sub-cultura, sendo esse efeito, positivo quando se trata do processo de rejuvenescimento *in vitro* de espécies lenhosas, mas problemático quando afeta o alongamento das brotações e torna-se um fator limitante na fase de enraizamento.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito residual de diferentes citocininas no enraizamento *in vitro* de mangabeira.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no ano de 2006.

Brotações de mangabeira, provenientes de meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1980) basal e WPM suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina), CIN (cinetina) e TDZ (thidiazuron), após serem individualizadas, foram inoculadas em meio WPM adicionado de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Foram utilizados 3% de sacarose e 0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, as brotações foram mantidas em sala de crescimento, no escuro, a  $25\pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura. Quinze dias depois, foram transferidas para meio WPM basal e mantidas durante 30 dias sob irradiância de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados o número e o tamanho da maior raiz formada.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio contendo um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

As médias referentes ao número de raízes e ao comprimento da maior raiz foram comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve formação de raízes em todos os tratamentos testados.

A adição das citocininas CIN e BAP ao meio de cultura, durante a fase de multiplicação, provocou uma redução no número de raízes formadas por explante (Tabela 1).

TABELA 1. Efeito da adição de BAP, CIN e TDZ ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) e formulação salina WPM, no número médio de raízes e no comprimento da maior raiz formada em brotações de *Hancornia speciosa* Gomes, 45 dias após a inoculação.

Fonte de citocinina	Nº de raízes por explante	Comprimento médio da maior raiz (cm)
Controle	1,70 a	0,94 a
BAP	0,75 b	0,09 b
TDZ	1,95 a	0,35 b
Cinetina	0,35 b	0,09 b

\* Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram obtidos por Machado et al. (2006) que, trabalhando com a multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de videira 'VR043 – 43', observou que as diferentes concentrações de BAP testadas reduziram a formação de raízes.

Efeito inibitório das citocininas sobre a iniciação de raízes laterais também foi verificado em arroz (*Oryza sativa*) por Debi et al. (2005).

As maiores médias, 1,95 e 1,70 raízes, foram verificadas em brotações originadas de meio de cultura suplementado com TDZ e de meio WPM basal, respectivamente.

Em relação ao comprimento da maior raiz, a maior média (0,94 cm) foi observada em brotações multiplicadas em meio não suplementado com citocinina.

Resultados contrários foram obtidos por Oliveira (2006) que, verificou maior comprimento de raízes (6,58, 4,98 e 4,94 cm) em brotações de *Annona glabra* L. multiplicadas na presença das citocininas BAP, zeatina e cinetina, respectivamente.

## CONCLUSÃO

Brotações de mangabeira oriundas de meio de cultura WPM, não suplementado com citocinina, apresentam maior facilidade de enraizamento *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPBELL, R. J. South American fruits deserving further attention. In: JANICK, J. (Ed.) **Progress in new crops**. Arlington: ASHS Press, 1996. p. 431-439.
- DEBI, B. R.; TAKETA, S.; ICHII, M. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*). **Journal of Plant Physiology**, Leipzig, v. 162, n. 5, p. 507-515, 2005.
- ESPÍNDOLA, A. C. de M.; FERREIRA, E. G. Aspectos nutricionais e adubação da mangabeira. In: Simpósio Brasileiro sobre a cultura da mangaba. 2003, Aracaju. **Resumos...** Aracaju: Embrapa-CPATC, 2003. 1 CD-ROM.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 1999.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. p. 549-622.
- LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.
- MACHADO, M. P.; BIASI, L. A.; RITTER, M.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira 'VR043 – 43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 648-655, 2006.
- OLIVEIRA, L. M. de. **Citocininas nos processos anatômicos, citológicos e fisiológicos durante o cultivo *in vitro* e aclimatização de *Annona glabra* L.** 2006. 110 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- VASQUEZ-ARAÚJO, J. E.; LEMOS, E. E. P.; LOUZADA, T. A. Multiplicação de gemas e brotos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em plântulas germinadas *in vitro*. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 14., Salvador, 1996. **Anais...** Salvador: SBF, 1996. p. 313.

## PALAVRAS-CHAVE

*Hancornia speciosa* Gomes; micropropagação; enraizamento; cultura de tecidos.

## **Análise ultra-estrutural de calos de mamoneiro cv. IAC-80.**

Vargas, Daiane Peixoto<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>3</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>4</sup>; Carvalho, Maria Laene Moreira de<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), bolsista CNPq, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35): 38291619, email: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, email: [nessastein@ig.com.br](mailto:nessastein@ig.com.br); <sup>5</sup>Professora Adjunta, Depto. de Agricultura (UFLA), e-mail: [miaenemc@ufla.br](mailto:miaenemc@ufla.br).

### **INTRODUÇÃO**

A mamona (*Ricinus communis* L.), também chamada carrapateira, baforeira e baga é uma dicotiledônea pertencente à família Euphorbiaceae, que inclui um grande número de espécies nativas da região tropical. É possivelmente originária da antiga Abissínia, hoje Etiópia, no continente africano (Moreira et al., 1996).

Planta oleaginosa de destacada importância socioeconômica, explorada industrialmente em função do óleo contido em suas sementes, é considerada, atualmente, uma das principais alternativas à produção de Biodiesel no Brasil.

A formação de calos em um explante, denominada calogênese, é uma etapa básica para o desenvolvimento de sistemas de propagação massiva de plantas por organogênese ou embriogênese somática. É útil também quando se deseja produzir células para manipulações genéticas, como hibridações somáticas, poliploidizações e transformações (Venturieri et al., 2004).

Segundo Ammirato (1983), na embriogênese somática, uma única célula ou um grupo de células somáticas são precursores de embriões somáticos, sendo esse processo similar ao da embriogênese zigótica. Os embriões somáticos *in vitro* podem ser formados a partir de dois padrões básicos de embriogênese, direto ou indireto, este último com a etapa de formação de calos.

Embora não se conheça, ainda, de forma satisfatória, por que certos eventos regenerativos, *in vitro*, são mais facilmente induzidos em alguns tecidos do que em outros, admite-se que as diferentes expressões morfogenéticas reflitam na natureza e no grau de diferenciação destes tecidos.

Portanto, a compreensão da organogênese de plantas nos estádios iniciais de desenvolvimento das células meristemáticas requer a observação das mudanças subcelulares e as suas correlações com as alterações bioquímicas (Pihakashi-Maunsbach et al., 1993). A grande aplicação desta metodologia é fornecer informações associadas aos parâmetros morfológicos e bioquímicos das células competentes (Santiago, 2003).

As células embriogênicas, de maneira geral, apresentam características comuns ao comportamento de células embriogênicas ativas, incluindo rápida divisão mitótica, pequeno tamanho, citoplasma denso, núcleo grande com nucléolo proeminente, vacúolo pequeno e abundância de grãos de amido. Essas características sugerem uma intensa síntese de RNA e ampla atividade metabólica.

Assim, alguns autores tentam relacionar as características ultra-estruturais ao potencial embriogênico (Radojevic et al., 1975). No entanto, a caracterização citológica de calos durante o desenvolvimento não tem sido realizada com frequência na cultura de tecidos. O estudo das alterações ultra-estruturais durante a organogênese *in vitro* para caracterizar as células

meristemóides e a formação dos brotos é escasso (Pihakashi-Maunsbach et al., 1993; Arai et al., 1997).

Dessa forma, a falta de conhecimento dos fatores que regulam a embriogênese somática e a assincronia no desenvolvimento de embriões somáticos. São os principais responsáveis por sua reduzida aplicação comercial (Pihakashi-Maunsbach, 1993). Uma das estratégias que podem aumentar a eficiência do processo embriogênico seria uma análise ultra-estrutural ainda nos estádios de calos.

O objetivo desse trabalho foi caracterizar as diferenças ultra-estruturais relacionadas à calogênese de anteras de *Ricinus communis* L. cv IAC-80.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a calogênese de anteras, botões florais de mamoneiro foram coletados de populações em área experimental, localizadas na Universidade Federal de Lavras, no período de dezembro de 2007 e armazenados à temperatura de 10°C por 24 horas dia.

Para desinfestação, os botões florais com diâmetro de 3,0 a 3,9 mm foram lavados em água corrente por 20 minutos e, em câmara de fluxo laminar, foram imersos em álcool 70%, por 60 segundos e hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo por 10 minutos. Posteriormente, foi realizada a tríplex lavagem em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, os botões florais seccionados longitudinalmente com bisturi, para o isolamento das anteras, em solução de ácido ascórbico 100mg L<sup>-1</sup>.

As anteras foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com 3 % de sacarose, contendo diferentes reguladores de crescimento: T1: MS acrescido de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), T2: MS contendo 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; e T3 com MS acrescido de 1,0 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> CIN (cinetina); todos com a adição de 1% de carvão ativado em cada tratamentos.

Todos os meios de cultura utilizados foram solidificados com ágar 0,7% e o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, por 20 minutos. Os explantes foram mantidos no escuro à temperatura de 25 ± 2°C por 30 dias.

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) após 45 dias em meio de cultura, os calos de anteras (coletados conforme a coloração apresentada nos diferentes tratamentos: T1- calo marrom, T2- calo amarelo e T3- calo branco) foram fixados em Karnovsky [glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%) em tampão cacodilato, pH 7,0, por, no mínimo, uma hora, em temperatura ambiente.

Posteriormente, os calos foram lavados três vezes (10 minutos) em tampão cacodilato 0,05M e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M por 1-2 horas. Em seguida, foi realizada a desidratação em gradiente de acetona (30%, 50%, 70% e 90%) por 10 minutos.

Após a desidratação, foi realizada secagem ao ponto crítico, por meio de CO<sub>2</sub> líquido e as amostras metalizados com ouro. As observações foram realizadas em microscópio eletrônico (LEO Evo 40), operando entre 10 e 20 kV.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças ultra-estruturais entre as células dos calos de diferentes cores provenientes de anteras inoculadas em diferentes tratamentos. O rompimento de calos e a liberação de grãos de pólen foi observada no tratamento com MS com 0,5 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D conforme verificado na Figura 1a. Na MEV, verificou-se a proliferação de células com formato isodiamétrico em calos de coloração marrom e branca (Figura 1b e 1d).

Algumas células apresentam formato alongado quando as anteras foram cultivadas em meio MS acrescido de 2,0 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D que produziram calos de coloração amarela (Figura 1c).

De acordo com Skoog & Miller (1957) as células não embriogênicas possuem potencial, para desenvolver células meristemáticas e quando em condições satisfatórias, podem dar



origem a uma nova planta. Como observado por Canhoto et al. (1996), usualmente, as células dos pró-embriões apresentam algumas características observadas em células meristemáticas. Segundo Tomes (1985), os calos embriogênicos são compostos por células com dimensões relativamente pequenas e citoplasma denso.

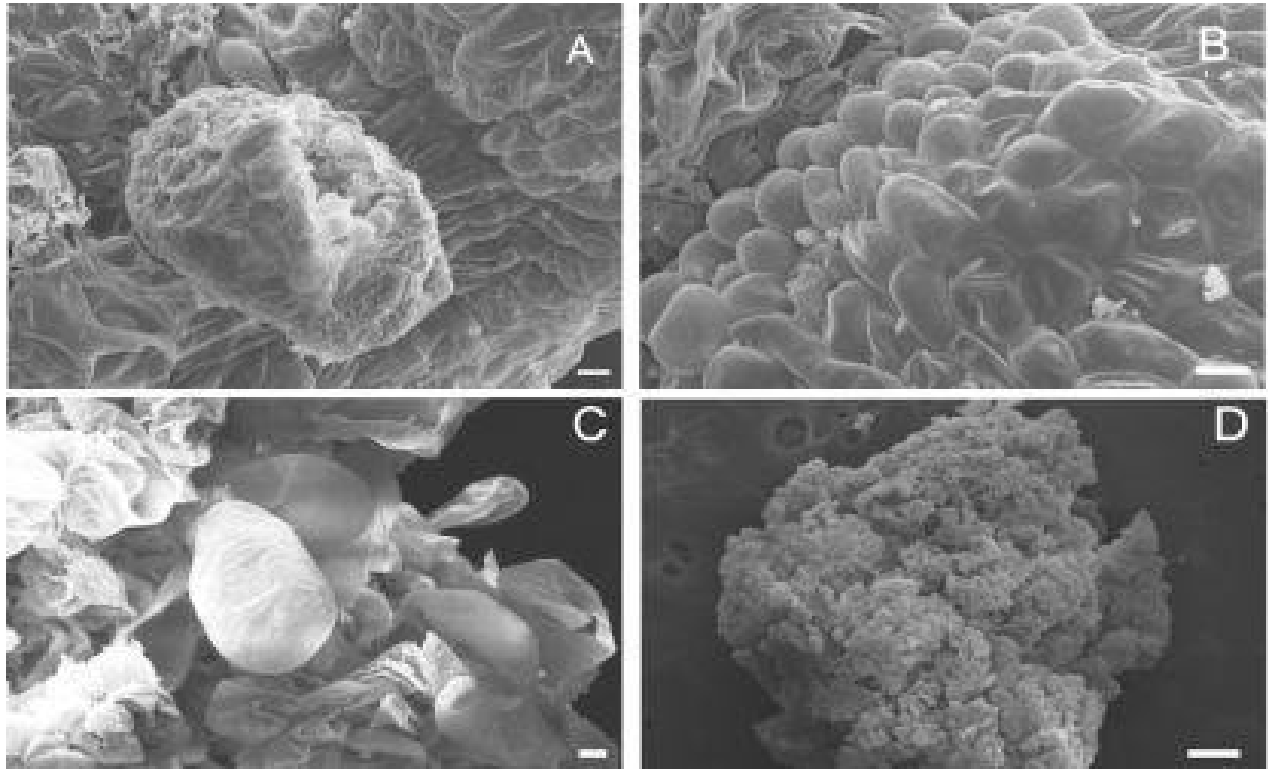


Figura 1. Eletromicrografias de varredura de calos obtidos a partir de anteras de *Ricinus communis* L. cv. IAC-80. Aspectos da superfície do calo (A, B, C e D); Calo de coloração marrom com rompimento e liberação de polens maduros (A). Células isodiamétricas na superfície do calo marrom (B). Células alongadas de calo amarelo (C). Visão geral de calo de coloração branca com células isodiamétricas em divisão células (D). Br=20 $\mu$ m (A, B e C), 20  $\mu$ m (c), 200  $\mu$ m (D).

## CONCLUSÕES

Há diferenças ultra-estruturais entre as células dos calos provenientes de anteras.

Os calos de anteras não apresentaram evidências de formação de embriões somáticos, apesar de suas células apresentarem algumas características embriogênicas.

Anteras de botões florais com tamanhos de 3 a 3,9 mm apresentam pólenes maduros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MOREIRA, J.A.N.; LIMA, E.F.; FARIAS, F.J.C.; AZEVEDO, D..M..P. de. Melhoramento de mamoneira (*Ricinus communis* L.). Campina Grande-PB. Embrapa–CNPA,. 29p. (Embrapa – CNPA. Documentos, 44) 1996.

VENTURIERI, G. A.; VENTURIERI, G. C. Calogenesis of *Theobroma grandiflorum* x *T. obovatum* hybrid (Sterculiaceae). **Acta Amaz.** Oct./Dec. 2004, vol.34, n. 4, p.507-511.

AMMIRATO, P. V. Embryogenesis. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. U.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan Publisher Company, 1983. p. 82-123.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and biomass with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-92, 1962.

PIHAKASHI-MAUNSBACH, K.; NYGAARD, K. B.; JENSEN, K. H.; RASMUSSEN, O. Cellular changes in early development of regenerating thin cell layer-explants of rapeseed analysed by light and electron microscopy. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 87, n. 2, p. 167-176, Feb. 1993.

RADOJEVIC, L.; VUJICIC, R.; NESKOVIC, M. Embryogenesis in tissue culture of *Coryllus avellana* L. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, Jena, v. 77, p. 33-41, 1975.  
com

CANHOTO, J. M.; MESQUITA, J. F.; CRUZ, G. S. Ultrastructural changes in cotyledons of pineapple guava (Myrtaceae) during somatic embryogenesis. **Annals of Botany**, London, v. 78, n. 4, p. 513-521, Oct. 1996.

SKOOG, F.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. **Symposia Society Experimental Biology**, Cambridge, v. 11, p. 118-131,

TOMES, D. T. Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in maize, rice, sorghum and millets. In: BRIGHT, S. W.; JONES, M. G. K. (Ed.) **Advances in agricultural biotechnology, cereal tissue and cell culture**. Boston: Nijhoff/Junk, 1985. p. 175-203.

SANTIAGO, E. J. A de. **Caracterização morfológica e bioquímica de calos de pimenta longa (*Piper hispidinervium* Candolle, DeCandolle)**. 2003. 184 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PALAVRAS-CHAVE: *Ricinus communis* L.; anteras; calogênese.

## Substratos alternativos ao ágar para o cultivo *in vitro* de *Bifrenaria tyrianthina* (Loudon) Rchb. f. (Orchidaceae)

Gonçalves, Letícia de Menezes<sup>1</sup>; Pujals, Alexandrina<sup>2</sup>; Santana, Tamara Francislaine<sup>3</sup>; Milaneze-Gutierrez<sup>3</sup>, Maria Auxiliadora.

<sup>1</sup>Doutoranda do programa de pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá (UEM), [let\\_over@hotmail.com](mailto:let_over@hotmail.com). <sup>2</sup>Pós-graduação em Planejamento Ambiental (CESUMAR), Campus Sede, Av. Guedner, 1610, Maringá, Paraná, CEP 87050-390, fone: (44) 3027-6360, e-mail: [ale\\_pujals@hotmail.com](mailto:ale_pujals@hotmail.com); <sup>3</sup>Departamento de Biologia, Laboratório de Cultivo de Orquídeas do MUDI, UEM, Av. Colombo, n. 5790, 87020-900, fone: (44) 3261-4961, [tfbio2004@hotmail.com](mailto:tfbio2004@hotmail.com) e [milaneze@uem.br](mailto:milaneze@uem.br).

### INTRODUÇÃO

No Brasil a flora de orquídeas é ampla e com muitas espécies endêmicas com valor ornamental. Dentre estas destaca-se *Bifrenaria tyrianthina*, de hábito rupícola, grande porte, com flores atrativas de coloração rósea, o que também a torna alvo do extrativismo por parte de colecionadores e comerciantes. Este gênero possui cerca de 35 espécies, com 25 delas ocorrendo no Brasil, principalmente na região sudeste.

Na família Orchidaceae, o estágio compreendido entre a germinação e o florescimento é considerado lento (Stoutamire, 1964), podendo alcançar vários anos. Também é baixa a taxa de multiplicação por meio dos métodos convencionais, como divisão de rizomas e brotações (a partir de gemas laterais dormentes) ou 'keikis', o que não atende à demanda comercial (Araújo, 2004), e favorece o extrativismo.

Com a técnica do cultivo *in vitro* é possível obter grande quantidade de plântulas em um curto espaço de tempo, independente da sazonalidade, com alta qualidade genética e fitossanitária, mesmo com espaço físico reduzido, possibilitando a redução de custos, e ainda é relevante do ponto de vista comercial (Araújo, 2004).

O substrato mais utilizado no cultivo *in vitro* é o ágar pela sua grande eficiência como agente gelificante, promovendo condições ideais de suporte para as plântulas (Waes, 1987; Stancato e Faria, 1996; Faria *et al.*, 2002; Faria *et al.*, 2006). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998) há uma tendência mundial para a adequação das metodologias *in vitro* utilizando-se meio líquido, em virtude da redução do custo pela eliminação do ágar e da maior agilidade na preparação do meio de cultura. Os autores acima afirmam que substratos inertes, como a vermiculita, a perlita ou espumas de poliuretano, embebidas em meio nutritivo líquido, podem ser alternativas de menor custo que o ágar; enquanto que Mohan *et al.* (2004) utilizaram bagaço de cana como suporte alternativo, de baixo custo, para a propagação *in vitro* de maçã, obtendo ótimos resultados.

Com a importância do cultivo *in vitro* como ferramenta para o combate à biopirataria e o possível barateamento de custo da produção de orquídeas, o presente trabalho teve por objetivo encontrar substratos alternativos ao ágar para o cultivo *in vitro* de *B. tyrianthina*.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração dos experimentos foram utilizadas plântulas de *B. tyrianthina* com 1 ou 2 folhas, obtidas de sementes advindas do município de Umuarama (PR) e mantidas assimbioticamente em meio de cultura "C" de Knudson (meio básico) (Knudson, 1946). Após 6 meses de cultivo, aproximadamente 50 destas plântulas (fase de 1 ou 2 folhas) foram transferidas para novas réplicas contendo 100 mL do meio básico + 6g/L de ágar (controle); 100 mL do meio básico + 6g de bagaço de cana-de-açúcar ou 100 mL do meio básico + 8g de palha de arroz seca (ambos previamente autoclavados por uma hora a 1 atm). O pH do meio nutritivo foi ajustado para 5,3 antes da autoclavagem por 20 minutos a 1 atm.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por três tratamentos (substratos), com 5 repetições cada, as quais permaneceram por 12 meses sob iluminação fluorescente contínua e 25±3°C, no Laboratório de Cultivo de Orquídeas do Museu Dinâmico Interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá.

A análise das culturas incluiu: número de raízes, folhas, pseudobulbos e brotações laterais por plântula. Quanto ao comprimento das raízes foram estabelecidas classes com intervalos de 2 cm, e para a parte aérea, de 3cm.

Para a comparação dos dados obtidos foi utilizada a análise de variância juntamente com comparações das médias através do teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando-se o programa de computador Assistat versão 7.4 beta (Silva e Azevedo, 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das culturas de *B. tyrianthina* demonstrou que o número de raízes nas plântulas mantidas na presença do ágar foi superior ao observado nos substratos alternativos (Tabela 1), permanecendo as culturas com bagaço de cana e a palha de arroz sem diferença significativa entre si, com aproximadamente a metade do valor (3,55 e 3,08, respectivamente) das culturas controle.

**Tabela 1.** Números médios de raízes, folhas, brotos e pseudobulbos por plântulas de *Bifrenaria tyrianthina*.

Tratamentos	Nº de raízes	Nº de folhas	Nº de brotos	Nº de pseudo-bulbos
Ágar	6,35 a <sup>1</sup>	11,09 a	1,62 a	1,13 a
Bagaço de cana	3,55 b	9,02 ab	2,32 a	1,22 a
Palha de arroz	3,08 b	7,36 b	0,65 b	1,05 a

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem, entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Em relação ao comprimento das raízes (Tabela 2) a classe 2 (entre 0,1 e 2,0 cm) apresentou resultados distintos entre os substratos, com destaque para as culturas controle (média de 5,87 destas raízes por plântula), o que difere dos resultados de Mohan (2005) ao observarem que o bagaço de cana foi o melhor substrato para o cultivo de plântulas de maçã *in vitro*, visto que tal substrato propicia uma melhor oxigenação das raízes, devido a sua estrutura porosa, o que induz um aumento no número de raízes. Em adição, Leite (1995) faz refere-se às raízes de pêra crescidas em ágar como pouco eficientes na absorção de água e nutrientes por serem pouco ramificadas, quebradiças e isentas de pêlos de absorção. Quanto às orquídeas, Faria *et al.* (2006) obtiveram maiores médias de raízes nas plântulas de *Oncidium baueri* cultivadas em espuma de poliuretano picada, embora estatisticamente semelhante às culturas com ágar.

Quanto ao número de folhas por plântula (Tabela 1), novamente aquelas mantidas em ágar apresentaram mais folhas, diferenciando-se estatisticamente daquelas cultivadas em palha de arroz, que proporcionou o menor valor médio (7,36). Quanto ao comprimento da parte aérea (Tabela 3), a classe 2 (3,1-6,0 cm) foi a única que apresentou diferença estatística entre o tratamento bagaço de cana (0,38 cm) e o palha de arroz.

O tratamento bagaço de cana e ágar apresentaram os maiores valores médios de brotos laterais por plântula (Tabela 1), diferenciando-se do tratamento palha de arroz. Quanto à presença destes brotos cerca de 70% das plântulas mantidas em ágar os apresentaram, diferindo estatisticamente apenas do tratamento palha de arroz (37,67%) (Tabela 4). Entre os substratos analisados não foram observadas diferenças estatísticas quanto ao número de pseudobulbos por plântula (Tabela 1), sendo a média geral igual a 1,13. Entretanto, quando calculada a porcentagem de pseudobulbos presentes nas plântulas de cada cultura, obteve-se diferença significativa a favor do tratamento ágar, em que 70,7% das plântulas os apresentaram, em detrimento aos outros substratos, com valores em torno de 25%, e não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 4).

**Tabela 2.** Comprimento das raízes das plântulas de *Bifrenaria tyrianthina*, números médios por plântula.

Tratamentos	Médias do comprimento de raiz (cm)				
	Classes				
	Classe 1 0,1- 2,0	Classe 2 2,1- 4,0	Classe 3 4,1- 6,0	Classe 4 6,1- 8,0	Classe 5 > 8,1
água	5,87 a <sup>1</sup>	1,10 a	0,27 a	0,04 a	0,00 a
Bagaço de cana	2,18 b	0,76 a	0,43 a	0,16 a	0,08 a
Palha de arroz	1,21 c	0,86 a	0,35 a	0,16 a	0,24 a

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 3.** Comprimento da parte aérea das plântulas de *Bifrenaria tyrianthina*, números médios por plântula.

Tratamentos	Médias do comprimento de parte aérea (cm)			
	Classes			
	Classe 1 0,1- 3,0	Classe 2 3,1- 6,0	Classe 3 6,1- 9,0	Classe 4 > 9,1
água	0,18 a <sup>1</sup>	0,51 ab	0,31 a	0,00 a
Bagaço de cana	0,26 a	0,38 b	0,29 a	0,01 a
Palha de arroz	0,20 a	0,55 a	0,19 a	0,02 a

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 4.** Porcentagens de brotos e pseudobulbos, por plântulas de *Bifrenaria tyrianthina*, dados médios.

Tratamentos	Porcentagem de brotos	Porcentagem de pseudobulbos
Água	71,98 a <sup>1</sup>	70,73 a
Bagaço de cana	65,66 ab	27,99 b
Palha de arroz	37,67 b	25,21 b

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

A análise do pH alcançado pelo meio de cultura na presença dos três substratos, após 12 meses de cultivo, revelou que as culturas com água ou bagaço de cana não apresentaram diferença estatística entre si, com médias de 3,07 e 3,84 respectivamente; enquanto que nas réplicas com palha de arroz este valor foi significativamente mais elevado, 5,32, e incomum para culturas *in vitro* com plântulas em estágio avançado de desenvolvimento.

## CONCLUSÃO

De acordo com os dados acima, o água mostra-se como o substrato mais indicado para o cultivo assimbiótico de *B. tyrianthina*, quando comparado ao bagaço de cana e palha de arroz. Este último foi considerado a alternativa menos indicada para o cultivo *in vitro* desta espécie, possivelmente devido a propriedade de manter o pH da solução nutritiva relativamente elevado, para esta fase de desenvolvimento das plântulas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A. G. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídeas**. Dissertação (mestrado) Lavras Universidade Federal de Lavras, 73 p., 2004.
- FARIA, R.T. et al. Preservation of the Brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breed. Biotechnol.**, Viçosa, v. 2, n. 3, p. 489-492, 2002.
- FARIA, R.F.; DALIO, R.J.D.; UNEMOTO L.K.; SILVA G.L. Propagação *in vitro* de *Oncidium baueri* Lindl. (Orchidaceae) sem uso de ágar. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 1, p. 7174, 2006.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES et al. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, p.183–260, 1998.
- LEITE, G. B. Efeito de reguladores de crescimento, substratos, sacarose e intensidade luminosa na micropropagação de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Bartlett e do clone OH x F97. **Dissertação de Mestrado**, Pelotas: UFPel, 1995.
- KNUDSON, L. **A new nutrient solution for germination of orchid seeds**. Amer. Orchid. Soc. Bull. V. 15, p. 214-7, 1946.
- MOHAN, R. et al. Use of sugarcane bagasse as an alternative low cost support material during the rooting stage of apple micropropagation. **In vitro Cell. Dev. Biol. Plant**, Largo, v. 40, p. 408-411, 2004.
- MOHAN, R. (2005), **Desenvolvimento de bioprocessos: bagaço de cana-de-açúcar como suporte alternativo na fase de enraizamento e aclimação de plântulas de macieira, morangueiro e cafeeiro**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- SILVA, F. de A. & AZEVEDO, C.A.V. de A. A new version of The Assisat- Statistical Assistance Software. In: **World Congress on computers in agriculture**, 4, Orlando-FL-USA: Anais...Orlando: American Society of Agricultural Engineers, p. 393-396, 2006.
- STANCATO, G.C.; FARIA, R.T. In vitro growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (ORCHIDACEAE) I: effects of macro and microelements. **Lindleyana**, West Palm Beach, v. 11, n. 1, p. 4143, 1996.
- STOUTAMIRE, W.P. Seeds and seedling of native orchids. **Mich. Bot.**, v.3, n.4, p. 104-119, 1964
- WAES, J. Effects of activated charcoal on *in vitro* propagation of western European orchids. **Acta Hort.**, The Hague, v. 212, p. 131-138, 1987.
- PALAVRAS-CHAVE: bagaço de cana, cultivo assimbiótico, substratos alternativos, orquídeas.

## Influência do ácido giberélico na germinação *in vitro* de sementes de mamona (*Ricinus communis* L. cv. BRS 149-Nordestina)

Vargas, Daiane Peixoto<sup>1\*</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>3</sup>, Vitor, Stephania Maíra Machado<sup>4</sup>; Carvalho, Maria Laene Moreira de<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), bolsista CNPq, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35): 38291619, email: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>4</sup>Farmacêutica Bioquímica, bolsista Apoio Técnico CNPq, Setor de Fisiologia (UFLA), email: [stephaniamachado@hotmail.com](mailto:stephaniamachado@hotmail.com); <sup>5</sup>Professora Adjunta, (UFLA), Depto. de Agricultura, e-mail [mlaenemc@ufla.br](mailto:mlaenemc@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa de destacada importância socioeconômica, pois seu óleo, extraído pela prensagem das sementes, contém cerca de 90% de ácido graxo ricinoléico com uma ampla gama de utilização industrial. É considerada, atualmente, uma das principais alternativas à produção de biodiesel no Brasil.

Tanto a germinação da semente de mamona, quanto o desenvolvimento inicial são lentos e progressivos, isso a torna mais vulnerável neste período de germinação, que pode chegar até 20 dias (Queiroz, 2004). A germinação das sementes e a emergência das plântulas de mamona é um processo influenciado por diversos fatores, como temperatura, umidade, e outros (Azevedo et. al, 2001).

O ácido giberélico ou giberelina é um hormônio sintético largamente utilizado na aceleração e uniformidade na germinação de diversas espécies. Há muitos relatos de melhoria na germinação pelo uso de GA<sub>3</sub>, conforme observado em citros (Sousa et al., 2002) e em gramínea *Trisacum dactyloides* (Rogis et al., 2004).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência do ácido giberélico na germinação *in vitro* de *Ricinus communis* L. cv. BRS 149-Nordestina.

### MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Ricinus communis* L. cv BRS-Nordestina foram lavadas em água corrente por 20 minutos e transferidas para câmara de fluxo laminar, no qual foram imersos em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 1% de cloro ativo por 20 minutos. Posteriormente, foram lavadas em água destilada e autoclavada e o tegumento foi removido com auxílio de bisturi. Após o isolamento, as sementes foram novamente lavadas em água destilada estéril, imersas álcool e hipoclorito de sódio nas mesmas concentrações e tempo anteriores, logo em seguida foram inoculadas em diferentes meios de cultura.

Os tratamentos foram constituídos de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 3% de sacarose e diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (0, 2, 4, 6 e 8 mg L<sup>-1</sup>), solidificados com ágar 0,7% e pH corrigido para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. A avaliação foi realizada aos quatorze dias de incubação (Barbedo & Cícero, 1998), sendo observada a presença de sementes germinadas em cada tratamento e o desenvolvimento de plântulas normais e anormais de acordo com RAS, (1992) Foi considerada germinada a semente que apresentava a radícula protundida.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com vinte repetições, sendo cada repetição constituída por uma semente. Os dados foram analisados por regressão polinomial, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito de giberelinas como regulador de crescimento desencadeador do processo de germinação vem sendo comprovado em diversas espécies. Sua atuação como indutor da transcrição de diversas hidrolases permite a mobilização de reservas a serem utilizadas pelo embrião (Taiz & Zeiger, 2004). Sendo assim, sementes que possuem uma concentração relativa de giberelina baixa, quando tratadas com ácido giberélico ( $GA_3$ ) na concentração adequada, teriam uma germinação mais homogênea e em maior quantidade.

Segundo Kochaba et al. (1974), a presença de ácido giberélico no meio de cultura proporciona a iniciação de uma zona meristemática radicular ou estimula o desenvolvimento de uma zona radicular existente. Para a análise do desenvolvimento de plântulas normais, ou seja, com estruturas essenciais completas (Brasil, 1992), somente o tratamento controle (na ausência de  $GA_3$ ), apresentou diferença significativa, em relação aos demais tratamentos, com o menor número de plântulas anormais (Figura 3).

Conforme Figura 1, o meio de cultura sem a adição do regulador de crescimento (controle) apresentou maior porcentagem de germinação quando comparado aos demais tratamentos com o uso de  $GA_3$ .

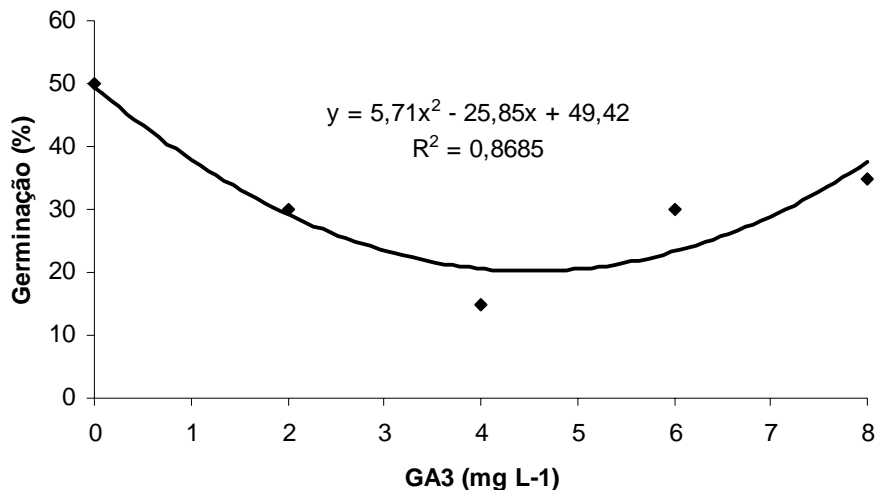


Figura 1. Germinação *in vitro* de sementes de mamona (*Ricinus communis* L) cv. BRS 149-Nordestina em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de diferentes concentrações de  $GA_3$ .

A remoção do tegumento auxiliou na germinação *in vitro* (Figura 2). Segundo Rocha et al.(2003), explantes com sementes inteiras ou sementes quebradas não são indicados para o processo de regeneração *in vitro* da mamoneira por apresentar altos níveis de contaminação por fungo gênero (*Aspergillus flavus* sp). Por isso, a remoção do tegumento e a desinfestação das sementes foram fundamentais para a ausência de contaminações das sementes *in vitro*.

Para Daykin et al. (1997), concentrações elevadas de  $GA_3$  podem exercer um certo grau de toxidez na planta e proporcionar anormalidades, mesmo mantendo a sua competência celular, conforme os resultados apresentados na Figura 3, que estão em completa acórdância, para variável anormalidades das plântulas germinadas de mamona, com o uso de  $GA_3$ .



Sementes germinadas em meio MS sem a utilização do GA<sub>3</sub> não apresentaram plântulas anormais (Figura 3).



Figura 2. Aspecto das sementes germinadas *in vitro* de *Ricinus communis* L. cv. BRS 149-Nordestina do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 4 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>.

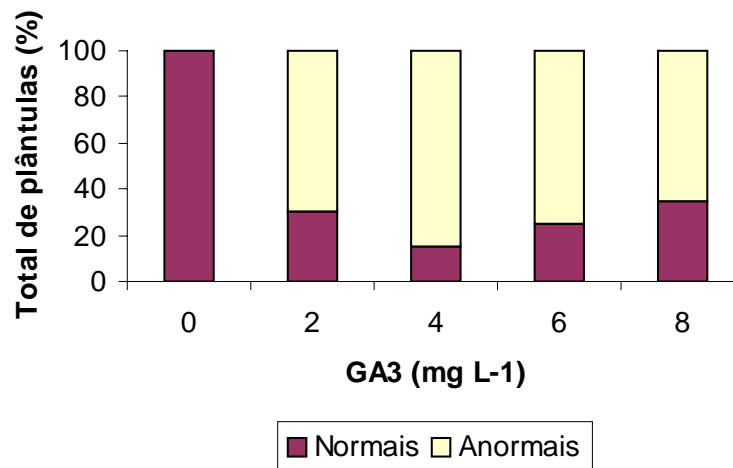


Figura 3. Porcentagem de ocorrência de plântulas normais e anormais germinadas *in vitro* de *Ricinus communis* L. cv. BRS149-Nordestina em diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

### CONCLUSÃO

Não é necessária a adição de GA<sub>3</sub> para a germinação *in vitro* de mamona (*Ricinus communis* L. cv. BRS 149-Nordestina).

O ácido giberélico, quando utilizado nas concentrações de 2 a 8 mg L<sup>-1</sup>, para germinação de sementes promoveu efeitos teratogênicos formação de estruturas anatômicas anormais em plântulas de de *Ricinus communis* L. cv. BRS 149-Nordestina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, D.M.P.; NÓBREGA, L.B.; LIMA, E.F., BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E.M. Manejo Cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. O Agronegócio da mamona no Brasil. Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 2001. p. 121-160.

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingazeiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 249-259, maio-ago. 1998.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária.-**Regras para Análise de Sementes**. Brasília: DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

DAYKIN, A.; SCOTT, I. M.; FRANCIS, D.; CAUSTON, D. R. Effects of gibberellin on the cellular dynamics of dwarf pea internode development. **Planta**, Berlin, v. 203, n. 4, p. 526-535, 1997.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do **SISVAR** para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos, SP. Anais... São Carlos: UFSCAR, 2000. V.1. 258p.

KOCHABA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHABA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, New York, v. 38, n. 157, p. 795-802, 1974.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

QUEIROZ, J. A. DE; OLIVEIRA, A. B.; MENEZES, C. H. ; CARTAXO, W. V.; SUASSUNA, N. D. Efeito da remoção da carúncula, tratamento químico e tempo de armazenamento na germinação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). In.: I **Congresso Brasileiro de Mamona**. Campina Grande – Paraíba, 2004.

ROCHA, M. S.; OLIVEIRA, K. C. de; COSTA, M. da N.; CUNHA, A. O.; CARVALHO, J. M. F.C.; SANTOS, J.W. dos. Métodos de Regeneração *in vitro* da Mamoneira a partir de diferentes tipos de Explantes . **Rev. Bras. Ol. Fibrós.**, Campina Grande, v.7, n.1, p.647-652, jan-abr. 2003.

ROGIS, C.; GIBSON, L. R.; KNAPP, A. D.; HORTON R. Enchasing germination of eastern gamagrass seed with stratification and gibberellic acid. **Crop Science**. v. 44, n. 2., p. 549-552, 2004.

SOUSA, H. U. de; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; FERREIRA, E. A. Efeito do ácido giberélico sobre as germinação de sementes de Porta-enxertos de cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, 496-499p, 2002.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 720 p.

PALAVRAS-CHAVE: *Ricinus communis* L.; ácido giberélico; germinação *in vitro*.

## Calogênese a partir de segmentos de hipocótilo de mamona cv. BRS 149 Nordestina.

Vargas, Daiane Peixoto<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>3</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>4</sup>; Carvalho, Maria Laene Moreira de<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), bolsista CNPq, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35): 38291619, email: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, email: [nessastein@iq.com.br](mailto:nessastein@iq.com.br); <sup>5</sup>Professora Adjunta (UFLA), Depto. de Agricultura, email [mlaenemc@ufla.br](mailto:milaenemc@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa de destacada importância socioeconômica, pois seu óleo, extraído pela prensagem das sementes, contém cerca de 90% de ácido graxo ricinoléico com uma ampla gama de utilização industrial. É considerada, atualmente, uma das principais alternativas à produção de Biodiesel no Brasil.

A formação de calos em um explante, denominada calogênese, é uma etapa básica para o desenvolvimento de sistemas de propagação massiva de plantas por organogênese ou embriogênese somática. É útil também quando se deseja produzir células para manipulações genéticas, como hibridações somáticas, poliploidizações e transformações (Torres, 1998).

Devido à totipotência, protocolos para a obtenção de plantas com base em tecidos vegetais têm sido obtidos. Os processos pelos quais os tecidos produzem órgãos vegetais adventícios *in vitro* podem ocorrer direta (sem a formação de calos) e indiretamente, por meio da formação de calos. De acordo com Alves (2004), o processo de organogênese é complexo, em que diversos fatores atuam, envolvendo interação entre fonte de explante, meio de cultura e fatores do ambiente. Assim, para que os processos de organogênese indireta *in vitro* (etapa de formação de calos) ocorram às células devem passar pelos processos de desdiferenciação, aquisição da competência, indução, determinação, diferenciação e formação do órgão.

Os centros ativos de divisão celular do calo, em condições adequadas, respondem a determinados estímulos, sofrendo diferenciação celular e formando órgãos (George, 1996). Sendo assim, a competência das células-alvo é o primeiro passo para a diferenciação celular, seguida da determinação em células competentes, quando essas se submetem a um caminho particular de desenvolvimento geneticamente programado (George, 1996 e Torres, 2000).

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) e de Picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloropicolínico) no escuro sobre a calogênese de mamona (*Ricinus communis* L.) cv. BRS 149 Nordestina, como primeiro estágio para obtenção de plantas *in vitro*.

### MATERIAL E METODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Utilizou-se explantes provenientes de hipocótilo com segmentos de aproximadamente 1cm, obtidos a partir de sementes germinadas *in vitro* de *Ricinus communis* cv. BRS 149 Nordestina.

O meio de cultura básico utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), com sacarose a 3%, agar a 0,6% e diferentes reguladores de crescimento: 2,4-D (0,5;1,0; 2,0; 4,0 mg L<sup>-1</sup>) ou Picloram (0,5;1,0; 2,0; 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e a ausência de regulador (controle). Adicionou-se, aos tratamentos o carvão ativado na concentração de 1%. O pH foi ajustado para 5,8.

Cada explante foi colocado individualmente em tubos de ensaio (25 x 150mm) em meio de cultura incubados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas/luz e densidade de fluxo de fótons de  $43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Para avaliação da formação dos calos conforme sua presença/ausência e extensão. Atribui-se notas que variaram de 0 a 3 de acordo com a proporção de calo sobre a área exposta do explante (acima do meio de cultura), p. ex., 0 = sem emissão de calo, 1 = intumescimento do explante, 2 = emissão moderada de calos correspondendo a aproximadamente  $\frac{1}{2}$  da região exposta, 3 = a emissão em 100% da área exposta.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 10 repetições. Os resultados dos calos forma analisados pela correlação de Spearman, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis (SAS®), obtendo-se o score médio de formação de calos e o peso fresco foi analisado pela análise de variância, utilizando-se teste de Tukey e teste de regressão no programa estatístico (Sisvar).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao 2,4-D utilizado foi observado um aumento da massa fresco dos calos, com o aumento da concentração do regulador (Figura 1A). No entanto, conforme Figura 1B, na presença do Picloram houve um decréscimo na massa fresca dos calos com o aumento da concentração do regulador, chegando a ter a menor formação de massa fresca na ausência de quaisquer reguladores de crescimento.

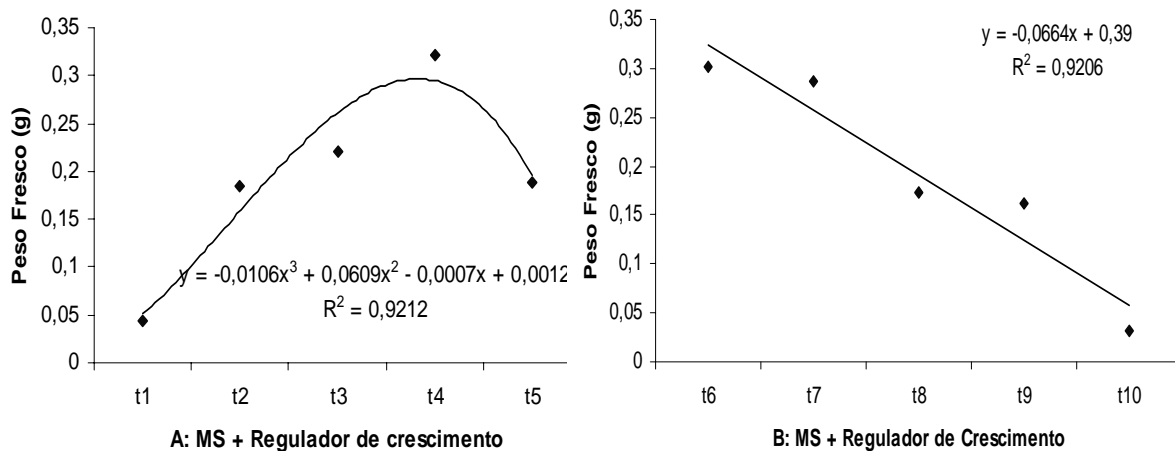


Figura 1. Média de peso fresco (g) de calos submetidos a 30 dias de cultivo em meio MS e diferentes reguladores de crescimento: 2,4-D (T1: 0,0; T2: 0,5; T3: 1,0; T4: 2,0; T5: 4,0 mg. L<sup>-1</sup> e Picloram (T6: 0,5; T7: 1,0; T8: 2,0; T9: 4,0 mg. L<sup>-1</sup>). Adicionou-se aos tratamentos o carvão ativado na concentração de 1% tratamentos.

Quanto à freqüência de explantes responsivos, o tecido demonstrou diferentes capacidades de desenvolver calos ( $p = 0,01$ ) tanto na presença de 2,4-D, como no uso do Picloram, influenciada pela dosagem de cada regulador de crescimento. Observou-se a formação de calos em todos os tratamentos, exceto naqueles isentos das auxinas 2,4-D ou picloram. Estes dados concordam com Grattapaglia & Machado (1990) que relatam a indução da calogênese em meio com altas concentrações de auxinas, sendo 2,4-D um dos reguladores de crescimento mais eficazes na indução de calos (Ammirato, 1983).

Considerando a proporção de recobrimento entre os diferentes tecidos testados, não foram significativas entre os tratamentos T3, T4 e T5 com o uso de 2,4-D como regulador de crescimento, diferindo do controle (ausência do regulador) e dos demais tratamentos, aos 30 e 60 dias de cultivo. Quanto a dosagem de Picloram houve diferença

significativa entre o controle (T1) e os tratamentos com a presença deste regulador de crescimento (T6, T7, T8 e T9) (Figuras 2 e 3).

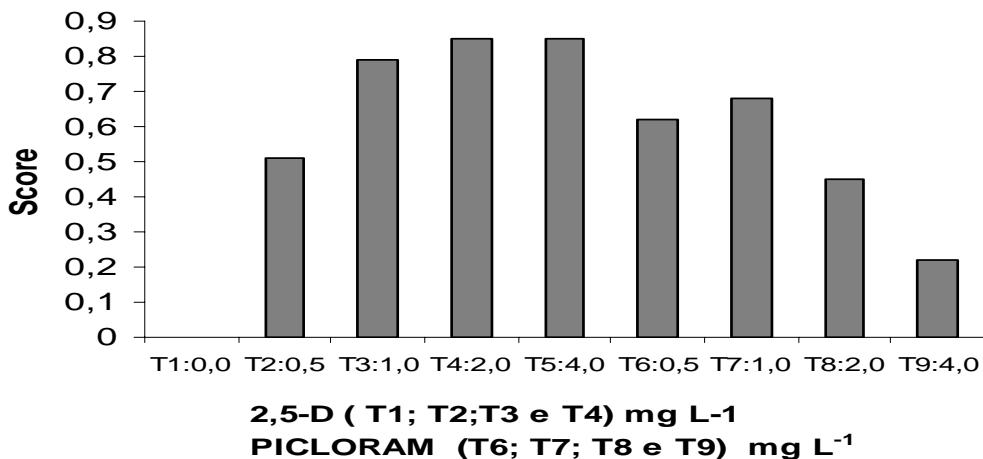


Figura 2 Escore da proporção de formação de calos submetidos a 30 dias de cultivo em MS acrescidos de 2,4-D 2,4-D (T1: 0,0; T2: 0,5; T3: 1,0; T4: 2,0; T5: 4,0 mg L<sup>-1</sup> ou Picloram (T6: 0,5; T7:1,0; T8: 2,0; T9: 4,0 mg L<sup>-1</sup>). As médias diferiram entre si ao nível de 1%.

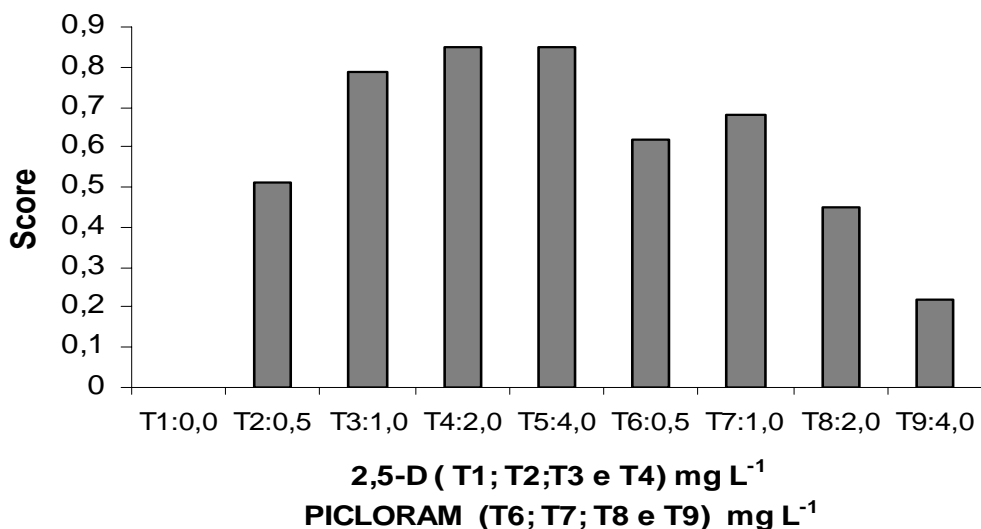


Figura 3. Escore da proporção de formação de calos submetidos a 60 dias de cultivo em MS acrescidos de 2,4-D 2,4-D (T1: 0,0; T2: 0,5; T3: 1,0; T4: 2,0; T5: 4,0 mg L<sup>-1</sup> ou Picloram (T6: 0,5; T7:1,0; T8: 2,0; T9: 4,0 mg L<sup>-1</sup>). As médias diferiram entre si ao nível de 1%.

Na Figura 4 aspectos da formação de calos com destaque nas diferentes colorações apresentadas calos amarelo, amarelo translúcido e marrom, respectivamente recobrendo a superfície do explante.



Figura 4. Aspectos da coloração dos calos formados em diferentes meio de cultivo. A: calo amarelo em meio MS acrescido de  $1\text{mg.L}^{-1}$  2,4-D (T7), com 60 dias de cultivo. B: calo amarelo translúcido em meio MS acrescido de  $4\text{mg L}^{-1}$  (T5), com 60 dias de cultivo. C: calo marrom em meio MS acrescido de  $4,0\text{ mg L}^{-1}$  (T9), com 60 dias de cultivo.

## CONCLUSÕES

Para indução de calogênese a partir de segmentos do hipocótilo em mamona (*Ricinus communis* L. BRS 149), o meio de cultivo MS acrescido de 2,4-D, como regulador de crescimento, é superior ao Picloram.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMIRATO, P. V. Embryogenesis. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V. & YAMADA, Y. Handbook of plant cell culture-techniques for propagation and breeding. New York: **Macmillan Publishing**, 1983. p. 82-123.

ALVES, E. C. S. DE C.; XAVIER, A ; OTONI, W. C. Organogênese de explante foliar de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.39, n.5, p.421-430,2004.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. **Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq**, 1990. Cap. 2. p.99-169

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSCO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. 1998. v. 2, p. 569-612.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. 2v. England: Exegetics Limited, 1996.

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, F. G.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M. de M.; ROMANO, E. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. England: Exegetics Limited, 1996. 2v.

VENTURIERI, G. A. Calogênese do híbrido *Theobroma grandiflorum* x *T. obovatum* (Sterculiaceae). **Acta amazônica**. v. 34, n.4, p. 507-511. 2004.

PALAVRAS-CHAVE: *Ricinus communis* L.; calogênese; cultura de tecidos.

## Avaliação do crescimento *in vitro* de *Orthophytum mucugense* na presença de diferentes concentrações de giberelina.

Bellintani, Moema Cortizo<sup>1\*</sup>; Lima, Carolina Oliveira de Cerqueira<sup>2,3\*</sup>; Santana, José Raniere Ferreira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, campos Universitário de Ondina, Salvador – BA, fone: (71) 3263-6544. mcbellintani@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (UEFS) cerqueira.carolina@gmail.com; <sup>3</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana- Avenida Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana – BA, fone: (75) 3625-2300.

### INTRODUÇÃO

*Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição é a mais nova espécie de *Orthophytum* descrita. Apesar de ser encontrada em uma Unidade de Conservação e de formar grandes populações, a ocorrência restrita ao município de Mucugê – Chapada Diamantina leva a espécie à categoria vulnerável (Wanderley & Conceição, 2006). O gênero *Orthophytum* pode ser dividido em dois grupos: o primeiro reúne maior número de espécies, apresenta inflorescência provida de escapo e folhas verdes; as espécies do outro grupo apresentam inflorescência sésstil e, durante a floração, tendem a apresentar folhas vermelhas na parte central da roseta foliar (Smith & Downs, 1983; Wanderley, 1990). Segundo Wanderley e Conceição (2006) as espécies de *Orthophytum* com inflorescência sésstil, ocorrentes na Chapada Diamantina são muito valorizadas sob a perspectiva ornamental devido à coloração de suas brácteas e folhas, que atingem uma intensa coloração vermelha na antese. Esta característica torna estas espécies também muito importantes por atrair beija-flores, desempenhando um importante papel ecológico. Diante do exposto tornam-se imprescindíveis trabalhos de preservação com esta espécie.

O cultivo *in vitro* de bromélias é muito utilizado para fins comerciais, e tem ganhado espaço na preservação de espécies raras ou ameaçadas de extinção (Carneiro & Mansur, 2004; Rech Filho, 2005). A manutenção *in vitro* assegura o armazenamento de germoplasma e é vantajosa inclusive por proporcionar uma alta taxa de multiplicação, a produção de plantas saudáveis, e a representação de grande variedade de genótipos em espaços reduzidos (Engelmann, 1991).

Algumas espécies de bromélias têm o crescimento lento quando comparadas com outras espécies vegetais. O incentivo a um desenvolvimento vegetativo mais rápido aumentaria a eficiência do processo de propagação. Neste sentido, o tratamento com reguladores vegetais tem interferido na velocidade de crescimento de muitas espécies (Chagas et al., 2005; Leite et al., 2003).

Visando acelerar o desenvolvimento *in vitro* de *O. mucugense*, o presente estudo avaliou o seu crescimento em meio MS com metade da concentração salina (MS $\frac{1}{2}$ ) suplementado com diferentes concentrações de giberelina.

### METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos em laboratório sob condição de crescimento de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16h e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Os meios utilizados tiveram o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi realizada sob temperatura de 120°C por 15 minutos.

Sementes de *O. mucugense* foram desinfestadas com álcool 70% (1 minuto) e hipoclorito 3% (15 minutos), lavadas em água destilada autoclavada (4x) e semeadas em frascos de 250 mL contendo 50 mL de ágar (7 g.L<sup>-1</sup>). Após a germinação as plântulas foram mantidas em meio MS $\frac{1}{2}$ .

---

\* Apoio FAPESB

Plantas com 5mm de altura foram transferidas para frascos de vidro de 250 mL contendo 50 mL de meio MS½ suplementado com diferentes concentrações de Giberelina (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg.L<sup>-1</sup>). Os frascos foram fechados com película de PVC. Decorridos 90 dias da inoculação, sem a transferência para subculturas, foram avaliados: altura da planta, comprimento e largura da folha, comprimento das raízes, diâmetro do colo (mm) e peso seco das raízes e parte aérea (mg).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 20 repetições de cinco plantas cada.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de giberelina mostrou influenciar de forma altamente significativa ( $p < 0,01$ ) em todas as variáveis avaliadas.

A presença de giberelina na concentração de 2 mg.L<sup>-1</sup> mostrou o melhor desempenho para o crescimento da planta em altura e o comprimento da folha, contrastando com os menores desempenhos observados para as concentrações 0 e 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. A maior largura da folha foi obtida na ausência de giberelina, seguida pelas concentrações 0,5 e 1 mg.L<sup>-1</sup> (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1 – Teste de Tukey para altura da planta, comprimento e largura da folha, comprimento das raízes, diâmetro do colo (mm) e peso seco das raízes e parte aérea (mg) em função da concentração de giberelina utilizada. Feira de Santana, 2005.

Giberelina	altura	Comp. da folha	Largura da folha	Comp. das raízes	diâmetro do colo	peso raiz	peso p. aérea
0 mg.L <sup>-1</sup>	8,453a	7,093a	3,601c	21,6234a	1,343d	5,641c	15,451b
0,5 mg.L <sup>-1</sup>	9,100ab	8,712b	2,885b	30,032b	0,915c	2,486b	9,120a
1 mg.L <sup>-1</sup>	11,175c	11,295c	2,939b	33,457b	0,665b	1,896ab	9,278a
1,5 mg.L <sup>-1</sup>	10,551bc	11,380c	2,627a	31,066b	0,701b	2,490b	8,697a
2 mg.L <sup>-1</sup>	13,316d	14,375d	2,637a	29,474b	0,431a	1,520a	7,634a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

O menor comprimento de raízes foi observado na ausência de giberelina, não sendo observadas diferenças estatisticamente significantes entre as demais concentrações avaliadas (Tabela 1 e Figura 1).

O diâmetro do colo mostrou aumentar de maneira inversa ao aumento da concentração de giberelina, onde quanto menor a concentração maior o diâmetro observado (Tabela 1 e Figura 1).

O meio de cultura sem regulador de crescimento proporcionou ainda o maior ganho de peso seco tanto para raiz quanto para parte aérea, o que demonstra que apesar das plantas apresentarem um menor porte em altura, elas obtiveram maior incorporação de massa seca neste tratamento (Tabela 1 e Figura 1).

Leite et al. (2003) observaram resultados semelhantes para a influência da Giberelina no aumento da altura de plantas de soja, no entanto, estes autores observaram também o aumento da produção de matéria seca na presença de giberelina, resultado oposto ao obtido para *O. mucugense* no presente trabalho. Chagas et al. (2005) também observaram um aumento no comprimento da parte aérea e do sistema radicular de embriões



de citrus inoculados em meio contendo 1 mg.L<sup>-1</sup> de giberelina, além de obterem melhor incorporação de matéria fresca em culturas com baixa concentração de giberelina (0,01 mg.L<sup>-1</sup>), o que demonstra que *O. mucugense* apresentou comportamento semelhante ao observado para citrus.

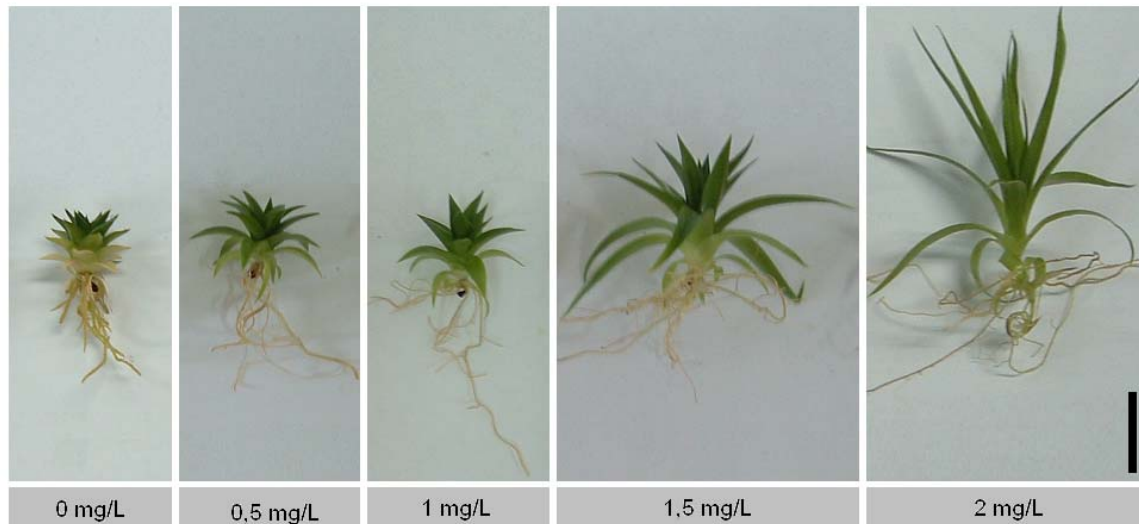


Figura 1. *Orthophytum mucugense* procedentes de meio de cultura MS $\frac{1}{2}$  suplementado com diferentes concentrações de ácido giberélico. A barra representa 1 cm.

## CONCLUSÕES

Maiores concentrações de giberelina promoveram maior crescimento em altura das plantas, mas menor incorporação de matéria seca.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARNEIRO, L.A.; MANSUR, E. Contribuição de metodologias *in vitro* para a conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, v. 2, n.1, p. 12-20, 2004.
- CHAGAS, E. A.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; PIO, L. A. S.; DUTRA, L. F. & CAZETTA, J. O. Cultivo de embriões imaturos de citros em diferentes concentrações de carvão ativado e ácido giberélico. **Ciênc. agrotec.**, v. 29, n. 6, p. 1125-1131, 2005.
- ENGELMANN, F. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm – a review. **Euphytica**, v. 57, p. 227-243, 1991.
- LEITE, V. M.; ROSOLEM, C. A.; RODRIGUES, J. D. Giberelina e citocinina no crescimento da soja. **Sci. Agric.**, v. 60, n. 3, p. 537-541, 2003.
- RECH FILHO, A.; DAL VESCO, L. L.; NODARI, R. O.; LISCHKA, R. W.; MÜLLER, C. V.; GUERRA, M. P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v. 14, n. 8, p. 1799 -1808, 2005.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. Monograph Bromelioideae (Bromeliaceae), 2 ed. **Flora Neotropica**, v. 14, n. 3, p. 1493-2142, 1983.
- WANDERLEY, M. G. L. Diversidade e distribuição geográfica das espécies de *Orthophytum* (Bromeliaceae). **Acta botânica Brasílica**, v. 4, n. 1, p. 169-175, 1990.

WANDERLEY, M. G. L.; CONCEIÇÃO, A. A. Notas taxonômicas e uma nova espécie do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.  
**Sitientibus** Série Ciências Biológicas, v. 6, n. 1, p. 03-08, 2006.

PALAVRAS-CHAVE:

*Orthophytum mucugense*, Bromeliaceae, Cultura *in vitro*, ácido giberélico, crescimento *in vitro*.

## Influência do tipo e posição do explante no desenvolvimento de calos de Pinhão-mansão.

Dalíhnia Nazaré dos Santos<sup>1</sup>; Moacir Pasqual<sup>2</sup>; Claudinéia Ferreira Nunes<sup>3</sup>; Aparecida Gomes de Araujo<sup>4</sup>; Adriene Matos dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, email: [dalilhnia@yahoo.com.br](mailto:dalilhnia@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: [nunescr@yahoo.com.br](mailto:nunescr@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Pesquisadora Doutora, Agronomia/Ciências do Solo (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências do Solo – DCS. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 88534497, email: [agaraujo2003@yahoo.com.br](mailto:agaraujo2003@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A base energética atual se constitui sobre o petróleo e o carvão mineral, que estão em processo de escassez e apesar da grande contribuição para o desenvolvimento industrial mundial, precedem um longo histórico de degradação ao ambiente, é por esses fatores que estamos vivendo hoje a busca por uma transição energética. O Brasil possui cerca de 200 espécies oleaginosas com potencial para a produção de biodiesel, e dentre estas o pinhão-mansão se destaca por sua rusticidade e fácil adaptação as diversas condições edafoclimáticas.

Por se tratar de uma espécie de propagação vegetativa e seminífera, a falta de material (estacas) para a produção em larga escala e a desuniformidade das sementes cultivadas em campo, apresentam-se como desvantagens da propagação convencional. A técnica de cultura de tecidos é uma via de propagação que busca amenizar essa deficiência. Trabalhos com cultivo *in vitro* de pinhão-mansão têm sido estudados por diversos pesquisadores (Sardana et. al., 1998; Sujatha & Reddy, 2000; Rajore et al., 2002), objetivando a multiplicação de brotos a partir de calos, utilizando diferentes explantes, como pecíolo, hipocótilo e segmentos foliares. Embora existam trabalhos relacionados com a regeneração dessa espécie *in vitro*, são poucos ou inexistentes os que mencionam a influência da posição do explante no desenvolvimento de calos.

Uma das possíveis causas nas diferenças de resultados obtidos por variáveis como, a capacidade de regeneração e multiplicação das espécies *in vitro*, pode ser explicado pelo tipo de explante utilizado e, de acordo com Pierik (1990), são comuns os efeitos da posição e da idade do explante sobre o processo de regeneração e multiplicação.

Tendo em vista esse fator e a necessidade do estabelecimento de um sistema de regeneração *in vitro* de plantas de pinhão-mansão, para aplicação em programas de melhoramento genético e/ou sua propagação, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a melhor fonte e posição de explante no estabelecimento de calos da espécie *Jatropha curcas* L.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O material vegetal utilizado foi constituído por segmentos de plântulas de *J. curcas* obtidas por meio de germinação *in vitro* de embriões.

O meio de cultura usado no experimento foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) modificado, suplementado com 0,15 mg.L<sup>-1</sup> de caseína, 0,4mg.L<sup>-1</sup> de malte, 30mL de tiamina, 20mL de vitamina, 0,5mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose; solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar (Merck®) e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, cada explante com área de 1cm<sup>2</sup> foi inoculado individualmente em tubos de ensaio de 25 x 150 mm contendo 15mL de meio de cultura, com os seguintes tratamentos: segmento de raiz (SR), hipocótilo (SH), porção basal (B/AB); (B/AD) e apical (A/AB); (A/AD) de folhas cotiledonares inoculadas na posição abaxial e adaxial. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos, 4 repetições de 4 tubos, totalizando 16 tubos por tratamento. Logo após a inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento a 27± 1°C, irradiância de 35 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20W (Osram®) com fotoperíodo de 16 horas diárias.

Decorridos 75 dias foram realizadas avaliações com base na formação de calos, oxidação e peso da matéria fresca e seca de calos. Para a análise estatística utilizou-se o software Sisvar (Ferreira, 2000). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, com a aplicação do teste F a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os calos obtidos nas condições do presente trabalho apresentavam tamanhos reduzidos e coloração amarelada. A formação de calos não apresentou distribuição homogênea na superfície dos explantes. A avaliação das culturas após 75 dias em meio de indução, mostrou que a variável número de calos (Tabela 1) apresentou maior média quando utilizou-se segmentos de hipocótilo e folhas cotiledonares retiradas da porção apical e inoculada na posição abaxial. A superfície abaxial mostrou-se mais favorável à formação de calos para essa espécie, discordando de Manfio et al. (2006) que obtiveram formação de calos em segmentos foliares, inoculados na posição adaxial para a mesma espécie.

A formação de calos utilizando discos foliares e hipocótilo também foi relatada por Sujatha & Mukta (1996), obtendo efetiva regeneração desses calos com a espécie *Jatropha curcas*.

Para o explante segmento de raiz não observou-se formação de calos, porém observou-se maior incidência de oxidação quando comparado às outras variáveis. Este fato pode ser explicado em função de sua menor área específica. Esses resultados assemelham-se com os relatados por Ledo et al.(2002), que observaram um rápido escurecimento dos calos regenerados de explantes de cupuaçu. De maneira geral, as características peso da matéria fresca e seca de calos, apresentaram maiores médias para os explantes oriundos de segmentos de folhas cotiledonares.

**TABELA 1.** Influência do tipo e posição de explantes de pinhão-manso em relação ao número de calos (NC), presença (PO) e ausência de oxidação (AO), peso da matéria fresca (PMFC) e seca de calos (PMSC). UFLA, Lavras – MG, 2007.

Explantes	NC (un)	PO	PMFC (g)	PMSC (g)
SR	0,00 a	4,00 b	0,03 a	0,00 a
SH	3,50 b	0,75 a	0,61 a	0,04 a
B/AB	0,50 a	1,00 a	1,15 b	0,21 b
B/AD	1,25 a	1,25 a	1,67 b	0,20 b
A/AB	2,50 b	0,75 a	1,44 b	0,17 b
A/AD	1,50 a	0,75 a	1,83 b	0,20 b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem, significativamente, entre si, pelo teste Scott – Knott a 5% de probabilidade.

O trabalho demonstra que diferentes explantes podem ser empregados para a formação de calos, o que possibilita uma escolha mais adequada do tipo de explante a ser empregada em função do objetivo do estudo.

Em síntese, verifica-se que *jatropha curcas* é uma espécie com elevado potencial para a formação de calos, que é uma via morfogenética essencial para o sucesso da micropropagação e demais aplicações biotecnológicas. Porém, novos estudos devem ser realizados quanto à capacidade organogênica e/ou embriogênica dos calos desenvolvidos por essa espécie.

## CONCLUSÃO

Segmentos de hipocótilo e folhas cotiledonares são considerados eficientes como fontes de explantes para a formação de calos em se tratando da espécie *Jatropha curcas*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

LEDO, A. da.S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K. Explantes de cupuaçuzeiro submetidos a diferentes condições de cultura *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.24 n.3 Jaboticabal dez. 2002

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

PIERIK, R.L.M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores**. Madri:Mundi Prensa, 1990. 326p.

RAJORE, S, SARDANA, J, BATRA, A. *In vitro* cloning of *Jatropha curcas* L. **J. Plant Biol.** 29(2): 195-198, 2002.

SARDANA, J., BATRA, A., ALI, D.J. *In vitro* plantlet formation and micropropagation of *Jatropha curcas* (L.). **Adv. Plant Sci.** 11(2): 167-169, 1998.

SUJATHA, M., REDDY, T.P. Morphogenic responses of *Jatropha integerrima* explants to cytokinins. **Biologia, Bratislava** 55: 99-104, 2000.

SUJATHA, M.; MUKTA, N. Morphogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *Jatropha curcas*. **Plant cell, tissue and organ culture**. v.44, n.2, fev. 1996.

## PALAVRAS – CHAVE

*Jatropha curcas*, calogênese, hipocótilo, folha cotiledonar.

## Multiplicação *in vitro* de Pinhão-mansô sob diferentes concentrações de BAP (6-Benzilaminopurina).

Dalilhia Nazaré dos Santos<sup>1</sup>; Moacir Pasqual<sup>2</sup>; Claudinéia Ferreira Nunes<sup>3</sup>; Aparecida Gomes de Araujo<sup>4</sup>; Adriene Matos dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, email: [dalilhia@yahoo.com.br](mailto:dalilhia@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: [nunescr@yahoo.com.br](mailto:nunescr@yahoo.com.br); <sup>4</sup> Pesquisadora Doutora, Agronomia/Ciências do Solo (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências do Solo – DCS. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 88534497, email: [agaraujo2003@yahoo.com.br](mailto:agaraujo2003@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

O pinhão-mansô (*Jatropha curcas* L.), espécie nativa do Brasil vem se destacando pelo alto potencial econômico, sendo considerada uma alternativa atraente para produção de óleo para fins energéticos. Como a espécie tem sido utilizada como fonte geradora de renda, torna-se necessária à produção contínua e em larga escala de mudas de qualidade.

Técnicas de cultivo *in vitro* para *Jatropha curcas* têm sido estudadas e desenvolvidas por diversos pesquisadores (Sardana et. al., 1998; Sujatha & Reddy, 2000), objetivando a multiplicação de brotos a partir de segmentos foliares, pecíolo, hipocótilo e segmentos nodais. Rajore et al. (2002) têm realizado trabalhos de regeneração de embriões somáticos oriundos de segmentos foliares de *J. curcas*.

A utilização do BAP em meio de cultivo para indução de brotações foi testada por vários pesquisadores. Lin et al. (2002) e Wei et al. (2004) trabalhando com hipocótilo de plântulas de *Jatropha curcas*, obtiveram resposta positiva na presença de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Já Rajore & Batra (2005) trabalhando com brotos axilares da mesma espécie, observaram que a concentração de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP foi eficiente na indução de brotações. As variações nas respostas obtidas decorrem, certamente, da competência de cada tipo de explante para desenvolver a resposta morfogenética.

No entanto, para a cultura da *J. curcas*, são escassos os trabalhos realizados *in vitro*, conhecendo-se muito pouco sobre o comportamento da planta nessas condições. Por tal motivo e por se tratar de uma espécie de grande interesse econômico, carente de informações científicas e técnicas adequadas de cultivo, fazem-se necessários estudos sobre a propagação da espécie.

Este trabalho teve como objetivo, verificar o efeito do BAP (benzilaminopurina) sobre a indução *in vitro* de brotações, em ápices caulinares de pinhão-mansô.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Lavras - MG. O material vegetal utilizado foi constituído por ápices caulinares com 2 cm, provenientes de plântulas de *J. curcas* obtidas por meio de germinação *in vitro* de embriões.

O meio de cultura básico usado no experimento foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose; solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar (Merck®) e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos.

Para a indução de brotações, os explantes foram inoculados individualmente em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 mL do meio de cultura MS acrescido das diferentes concentrações de BAP (0, 2, 4 e 6 mg.L<sup>-1</sup>) combinadas com três épocas de coleta dos explantes (10, 20 e 30 dias) antes da indução de brotação e o tempo zero (indução de

brotação imediatamente após a excisão do embrião). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com 5 repetições, cada uma constituída de 3 tubos de ensaio. Logo após a inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , irradiância de  $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20W (Osram®) com fotoperíodo de 16 horas diárias.

Decorridos 30 dias após a transferência para o meio de indução de brotação, foram realizadas avaliações com base no número de brotações e número de folhas por explante. Para a análise estatística utilizou-se o software Sisvar (Ferreira, 2000). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, com a aplicação do teste F a 5% de probabilidade, e as médias quantitativas analisadas por regressão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância para as características avaliadas está representado na tabela 1. Houve diferença significativa para o número de brotações e folhas emitidas por explante, em função das concentrações de BAP, não havendo diferenças significativas para o efeito da interação entre os dois fatores e para épocas de coleta dos explantes.

**TABELA 1.** Resumo da análise de variância para número de brotações (NB) e número de folhas (NF) de explantes de *Jatropha curcas*.

Quadrado médio			
Fonte de variação	GL	NB (un)	NF (un)
Época de coleta do explante	3	0,7959 <sup>ns</sup>	1,5086 <sup>ns</sup>
BAP	3	8,1462 <sup>*</sup>	8,7630 <sup>*</sup>
E x BAP	9	0,5218 <sup>ns</sup>	0,6789 <sup>ns</sup>
Resíduo	64	0,4840	1,3094
CV (%)		39,28	53,79

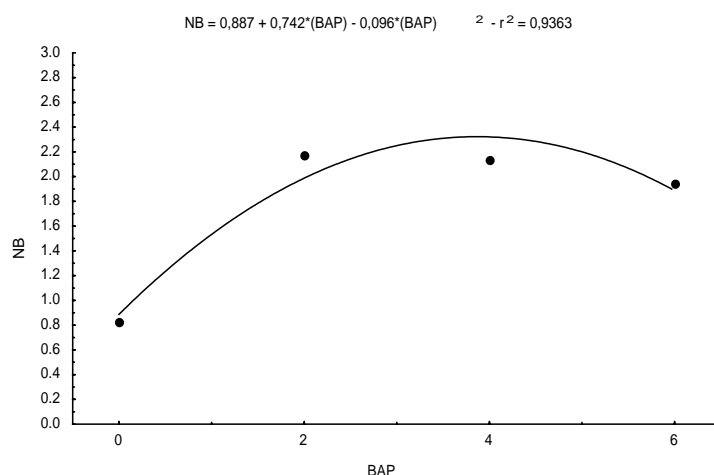
E - Época de coleta do explante; BAP - (6-benzilaminopurina); CV - Coeficiente de variação; e un - unidade.

\* significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo.

A época de coleta do explante não influenciou no número de brotações e de folhas. Esperava-se que os explantes inoculados na época zero apresentassem maior número de brotações e folhas, por se tratar de um tecido mais jovem. Porém, não apresentou diferença quando comparado ao explante coletado aos 30 dias.

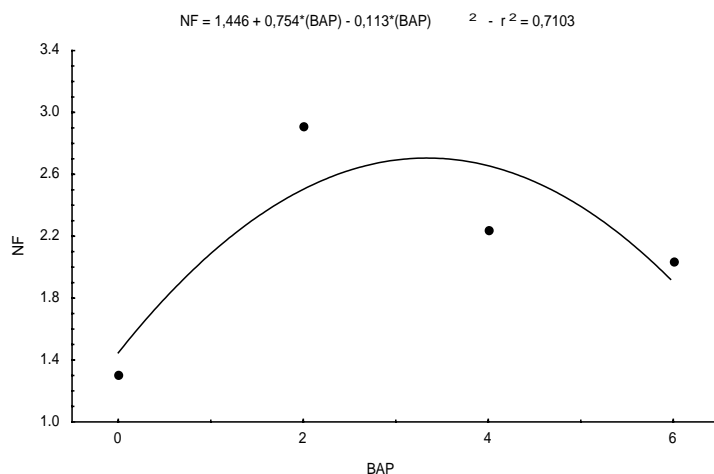
O número de brotos apresentou diferenças significativas em resposta às diferentes concentrações de BAP. A figura 1 mostra que o maior valor foi obtido com  $3,87 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP, correspondendo a um máximo de 2,3 brotos por explante, contra 0,8 brotos na ausência dessa citocinina. O maior número de brotos foi obtido em resposta à concentração de  $3,87 \text{ mg.L}^{-1}$  ocorrendo redução nos valores para esta variável com o aumento na concentração de BAP. Evidencia-se assim que concentrações mais elevadas dessa citocinina foram inibitórias para o processo de indução de brotação em explantes de *J. curcas*.



**FIGURA 1.** Representação gráfica e equação de regressão do número de brotações por explantes de *J. curcas* L., em função das concentrações de BAP no meio de cultura MS.

Ao comparar-se a *J. curcas* com outras espécies perenes, nota-se que a taxa de multiplicação de 2,3 brotos/explante pode ser considerada satisfatória. Para o pequiheiro (*Caryocar brasiliensis* Camb.), por exemplo, o número de brotações *in vitro* registrado a partir de segmentos nodais, não foi superior a 1broto/explante (Santos et al., 2006).

Em relação ao número de folhas, observou-se que a concentração máxima de 3,34 mg.L<sup>-1</sup> de BAP resultou num número total de 2,7 folhas por explante (Figura 2). Menores números de folhas foram obtidos na ausência e presença de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Em todos os tratamentos notou-se a presença de folhas, ainda que deformadas ou pouco desenvolvidas, o que se atribui à divisões celulares provocadas pelo BAP.



**FIGURA 2.** Representação gráfica e equação de regressão do número de folhas por explantes de *J. curcas* L., em função das concentrações de BAP no meio de cultura MS.

Embora tenha observado presença de brotos e formação de folhas nos explantes de *J. curcas*, é conveniente ressaltar que os brotos formados apresentavam-se grossos e não alongados e as folhas mostravam-se pequenas e pouco expandidas. Infere-se que as brotações obtidas na fase de multiplicação não se encontram em condições de ser em individualizadas para o enraizamento, necessitando-se assim de uma fase posterior de alongamento.



## CONCLUSÃO

O maior número de brotações é obtido na presença de 4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP no meio de cultura MS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

LIN J , TANG L , CHEN F. Tissue culture and plantlet regeneration of *Jatropha curcas*. **Plant Physiol Commun** 38(3) :252, 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.6, p.473- 479, June 1962.

RAJORE, S, BATRA, A. Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas* L. **J. Plant Biochem. Biotech** 14: 73-75, 2005.

RAJORE, S, SARDANA, J, BATRA, A. *In vitro* cloning of *Jatropha curcas* L. **J. Plant Biol.** 29(2): 195-198, 2002..

SANTOS, B.R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M.de; SILVA, D.P.C.da; MARTINOTTO, C.; SOARES, F.P.; PAIVA, P.D.O.de. Micropropagação de pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.28, n.2, p.293-296. Agosto 2006.

SARDANA, J., BATRA, A., ALI, D.J. *In vitro* plantlet formation and micropropagation of *Jatropha curcas* (L.). **Adv. Plant Sci.** 11(2): 167-169, 1998..

SUJATHA, M., REDDY, T.P. Morphogenic responses of *Jatropha integerrima* explants to cytokinins. **Biologia, Bratislava** 55: 99-104, 2000.

WEI, QIN, LU, WEI-DA, LIAO, YI, PAN, SHU-LIN, XU, YING, TANG, LIN, CHEN, Fang. Plant regeneration from epicotyl explant of *Jatropha curcas*. **Journal Physiology and Molecular Biology** , 30(4):475-478, 2004.

## PALAVRAS – CHAVE

*Jatropha curcas*, Euphorbiaceae, cultivo de embriões, citocininas.

## Características estomáticas em folhas formadas *in vitro*, folhas persistentes e aclimatizadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB).<sup>1</sup>

Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Santos, Dalíhnia Nazaré<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970, Rio Branco, AC.

### INTRODUÇÃO

No processo de micropropagação de plantas, a etapa de aclimatização é, na maioria das vezes, considera limitante e pode ocasionar elevado índice de perdas. Isso porque a transferência abrupta das plantas de um local com condições controladas (*in vitro*) para casa de vegetação ou telados pode provocar acentuada transpiração, principalmente dos órgãos aéreos, o que tem sido atribuído as alterações anatômicas e fisiológicas induzidas pelas condições peculiares dos recipientes de cultivo. Além disso, as folhas e raízes formadas *in vitro* são consideradas pouco funcionais, não garantindo uma satisfatória taxa fotossintética e absorção de água e nutrientes. Portanto, torna-se imprescindível submeter às plantas micropropagadas a gradual aclimatização, anteriormente o trasplante para o campo, pois os novos órgãos formados terão essas alterações corrigidas.

De acordo com Sandoval et al. (1994), embora as modificações induzidas *in vitro* perdurem até os primeiros dias após a transferência das plantas para as condições *ex vitro*, as novas folhas desenvolvidas apresentarão características de transição, sendo, portanto, mais adaptadas e eficientes nos processos concernentes ao crescimento e desenvolvimento vegetal. Adicionalmente, após serem submetidas às condições de campo, normalmente todas as alterações decorrentes do ambiente *in vitro* desaparecem plenamente, completando desta forma o seu desenvolvimento.

Nesse contexto, os estômatos têm grande influência na adaptação das plantas após sua remoção dos recipientes de cultivo, já que estarão presentes em maior ou menor densidade, além de serem mais ou menos funcionais, dependendo da espécie e condições do ambiente de cultivo (Khan et al., 2002). Ainda segundo estes autores, a forma elíptica é característica de estômatos funcionais e a forma arredondada está associada a estômatos que não apresentam funcionalidade normal.

Objetivou-se avaliar as alterações nas características estomáticas em diferentes tipos de folhas de plantas micropropagadas de bananeira cultivar Preciosa (AAAB).

### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi constituído de plantas micropropagadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB) (altura média de 5,26 cm), originadas do enraizamento/alongamento *in vitro* de brotações axilares em basal de MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, com pH 5.8. O cultivo foi realizado em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio, cinco brotações e selados com filme transparente, permanecendo por 24 dias à temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 42 W.m<sup>-2</sup>, por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial).

Os tratamentos consistiram de seis tipos de folhas: T1) folhas de plantas *in vitro* ao final da fase de enraizamento; T2) folhas persistentes de plantas com um mês de aclimatização; T3) novas folhas formadas *ex vitro* de plantas com um mês de aclimatização (folhas de transição); T4) folhas de transição submetidas a mais 30 dias de aclimatização; T5) novas folhas de plantas com 60 dias de aclimatização e T6) folhas de plantas com 120

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

dias de aclimatização. Para pleno controle das folhas dos tratamentos (T2) e (T4) efetuou-se marcação com fitilho de cores distintas.

Para a aclimatização, as plantas foram inicialmente removidas dos frascos, submetidas à lavagem de suas raízes e transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos pela mistura de terra de subsolo (abaixo de 40 cm):Plantmax<sup>®</sup> HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples. Em seguida, foram mantidas sob condições de casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns), sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente. Já as plantas do último tratamento (T6) foram transferidas para casa de vegetação desprovida de sombreamento, após 60 dias, sendo irrigadas manualmente conforme as necessidades.

As avaliações anatômicas foram conduzidas em seções paradérmicas, das faces *adaxial* e *abaxial* da epiderme, feitas à mão livre na região do terço médio da segunda folha expandida (direção ápice-base), coletadas de diferentes plantas de cada tratamento e previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen, 1940) por 72 horas e conservadas em álcool etílico 70% (v/v). A clarificação dos cortes foi realizada em solução de hipoclorito de sódio (50% v/v), sendo em seguida lavados em água destilada, coradas com safranina (1%) e montadas em água glicerínada. As observações foram conduzidas em microscópio Olympus CBB, seguindo a técnica descrita por Laboriau et al. (1961). As variáveis analisadas foram: densidade estomática (nº de estômatos por mm<sup>2</sup>), diâmetro polar (DP) e equatorial (DE), relação DP/DE, número de células epidérmicas e índice estomático. Nas avaliações de densidade e índice estomático foram utilizadas 5 folhas, efetuando-se 4 observações por repetição, num total de 20 observações/tratamento. Para a medição do diâmetro polar e equatorial, utilizou-se microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica e objetiva de 40X, em 6 folhas com 4 medições por repetição, num total de 24 medições/tratamento.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC). A análise de variância dos dados foi efetuada por meio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maiores densidades estomáticas de ambas as faces da epiderme foram observadas em folhas de plantas ao final do enraizamento *in vitro* (T1) e folhas persistentes (T2), que embora não tenham diferido entre si, foram superiores as folhas formadas *ex vitro* (T3, T4, T5 e T6) ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, nenhuma diferença significativa entre folhas formadas *in vitro* e *ex vitro* foi verificada para o índice estomático, em ambas as faces da epiderme. Já quanto ao número de células epidérmicas, resultados significativamente superiores foram constatados em folhas de plantas ao final do enraizamento *in vitro* (T1) e folhas persistentes (T2) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Densidade estomática (nº estômatos.mm<sup>-2</sup>), índice estomático e número de células epidérmicas das faces *abaxial* e *adaxial* em diferentes tipos de folhas de plantas de bananeira micropropagadas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tratamentos	Abaxial			Adaxial		
	Densidade estomática	Índice estomático	Nº de células	Densidade estomática	Índice estomático	Nº de células
T1	102,12 a	8,18 a	1147,74 a	28,68 a	3,42 a	796,98 a
T2	97,68 a	7,59 a	1197,32 a	32,56 a	3,96 a	789,58 a
T3	82,88 b	8,64 a	876,16 b	17,02 b	3,04 a	535,76 c
T4	87,32 b	8,17 a	983,46 b	19,98 b	3,14 a	602,36 c
T5	72,52 b	9,17 a	710,40 c	14,06 b	3,02 a	452,14 d
T6	86,58 b	9,15 a	861,36 b	19,98 b	2,81 a	691,16 b
<b>C.V. (%)</b>	13,79	11,42	10,35	33,17	27,77	8,33

Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade. (C.V.=coeficiente de variação).

Resposta semelhante para a densidade estomática de folhas formadas em ambiente *in vitro* tem sido reportada em outros estudos e relacionada, principalmente, a elevada umidade relativa do ar no interior dos frascos (Decchetti, 2004; Khan et al., 2003; Sciutti & Morini, 1995). Já em relação às folhas desenvolvidas *ex vitro*, Capellades et al. (1990) afirmam que o período de aclimatização *ex vitro* permite a redução na densidade de estômatos, altera o formato e a topografia destes, além de favorecer o desenvolvimento do mesofilo. Nesse contexto, acrescenta-se ainda que, segundo afirmações de Braga (2006), as células epidérmicas, bem como as dos demais tecidos foliares, apresentam alta taxa de crescimento e divisão celular durante a fase de aclimatização, acarretando inclusive no decréscimo do número de estômatos por mm<sup>2</sup>.

Quanto ao tamanho dos estômatos, maior diâmetro polar da face *abaxial* foi observado em folhas de plantas com 60 dias, enquanto menor diâmetro equatorial ocorreu nas folhas formadas na fase de enraizamento *in vitro* (T1) e aquelas oriundas de plantas com 120 dias de aclimatização. Já para a relação diâmetro polar/equatorial, resultados significativamente superiores foram observados em folhas provenientes do enraizamento *in vitro* (T1) e plantas aclimatizadas por 60 e 120 dias (Tabela 2).

Para a face *adaxial*, as folhas de plantas aclimatizadas por 60 e 120 dias apresentaram diâmetro polar significativamente superior, enquanto que menores dimensões para o diâmetro equatorial ocorreram em folhas advindas do enraizamento *in vitro* (T1), folhas persistentes (T2), folhas de transição submetidas a mais 30 dias de aclimatização (T4) e novas folhas de plantas aclimatizadas por 60 dias (T5), as quais não diferiram entre si ( $P < 0,05$ ). Para a relação DP/DE, folhas de plantas aclimatizadas por 60 dias (T5) apresentaram relação DP/DE significativamente maior, seguido de folhas de plantas ao final do enraizamento *in vitro* (T1) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Diâmetro equatorial (DE) e polar (DP) e relação DP/DE das faces abaxial e adaxial em diferentes tipos de folhas de plantas de bananeira micropropagadas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tratamentos	Abaxial			Adaxial		
	DP (µm)	DE (µm)	DP/DE	DP (µm)	DE (µm)	DP/DE
T1	34,67 b	20,63 b	1,69 a	34,73 b	18,86 b	1,84 b
T2	32,94 b	21,68 a	1,54 b	34,63 b	20,25 b	1,71 c
T3	33,64 b	23,46 a	1,43 b	35,12 b	21,54 a	1,63 c
T4	32,94 b	22,37 a	1,47 b	34,52 b	20,61 b	1,68 c
T5	39,64 a	22,52 a	1,77 a	39,71 a	19,84 b	2,01 a
T6	34,84 b	20,08 b	1,74 a	39,13 a	22,63 a	1,73 c
<b>C.V. (%)</b>	4,85	7,99	7,75	6,46	5,83	7,41

Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade. (C.V.=coeficiente de variação).

Modificações na anatomia e morfologia de estômatos em plantas micropropagadas têm sido reportadas. Nesse sentido, Sandoval et al. (1994) estudando a anatomia e morfologia foliar de plantas de bananeira 'Grande Naine' cultivadas *in vitro*, aclimatizadas e sob condições de campo, observaram que estômatos formados *in vitro* tiveram diâmetro polar e equatorial de 38 µm e 15 µm, enquanto que folhas de plantas adultas tiveram 27 µm e 17 µm. Já Golçalves et al. (2000) verificaram que plantas de castanheira (*Castanea sativa* x *C. crenata*) cultivadas *in vitro* apresentaram estômatos esféricos, elevados, com células guardas irregulares e consistentemente abertos. Por outro lado, as novas folhas formadas na aclimatização tiveram estômatos com uma morfologia mais normal, deprimidos, quase fechados e apresentando forma gradualmente elíptica com células guardas e subsidiárias bem diferenciadas. De acordo com Capellades et al. (1990) o desenvolvimento e frequência estomática podem ser afetados pelas condições ambientais assim como disponibilidade de água, níveis de irradiância, temperatura e umidade relativa do ar.

Já a relação DP/DE, juntamente com o formato das células guarda, são tidos por alguns autores (Khan et al., 2002; Rocha, 2005) como sendo importantes para indicar sobre a funcionalidade dos estômatos, uma vez que a forma elíptica (> DP/DE) é característica de

estômatos funcionais, ao passo que a forma arredondada está associada a estômatos poucos funcionais.

## CONCLUSÕES

Variações anatômicas significativas são mais evidentes em novas folhas formadas após a transferência *ex vitro*, principalmente quanto à densidade de estômatos e número de células epidérmicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAGA, F.T. **Ambiente de cultivo na propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev cv. Rage): características anatômicas e fisiológicas.** 2006. 119p. :il. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DECETTI, S.F.C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93p. :il. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3:** sistema de análise estatística. Lavras: UFLA;DEX, 2000. Software.
- GONÇALVES, J.C.; DIOGO, G.; COELHO, M.T. Changes in Leaf morphology and anatomy of *in vitro*-cultured Chestnut plantlets during acclimatization. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 520, p. 183-193, 2000.
- JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.
- KHAN, P.S.S.V. et al. Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* Smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dodrecht, v.71, p.141-146, 2002.
- KHAN, S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, O. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia plantarum**, Copenhagen, v. 46, n. 2, p. 161-166, 2003.
- LABOURIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. G.; SALGADOLABOURIAU, M. L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-257, jun. 1961.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497,1962.
- ROCHA, H.S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira “Prata Anã”: alterações morfoanatômicas.** 2005. 98p. :il. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. **Fruits**, Paris, v. 49, n. 1, p. 37-46, Jan./Feb. 1994.
- SCIUTTI, R.; MORINI, S. Water loss and photosynthesis of plum plantlets is influenced by relative humidity during rooting *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.10, n.2, p.221-228, 1995.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; anatomia foliar; micropropagação; estômatos.

## Sulfato de adenina e BAP no crescimento *in vitro* de porta-enxertos de videira.

Vilela, Ximena Maira de Souza<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Silva, Andrieli Leão Pereira<sup>4</sup>; Santos, Jean Carlos de Souza<sup>4</sup>; Assis, Franscinely Aparecida<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG; <sup>2</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [fvilla2003@libero.it](mailto:fvilla2003@libero.it); <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>4</sup>Aluno de graduação em Agronomia, Cesur, Rondonópolis, MT, e-mail: [andrielileao@hotmail.com](mailto:andrielileao@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

Na viticultura, as técnicas de micropropagação tornam-se imprescindíveis para a obtenção em larga escala de material vegetativo de boa qualidade fitossanitária (Biasi, 2003). Diversos trabalhos têm apontado as técnicas de micropropagação como alternativa para a rápida propagação de cultivares da espécie *Vitis rotundifolia* e, especialmente, híbridos de *Vitis* e *Muscadinia* (Wetzstein & Myers, 1994).

As citocininas são derivadas da base nitrogenada adenina, sendo que seus efeitos fisiológicos na planta estão relacionados com a divisão, o alongamento, a diferenciação celular, o retardamento da senescência, a dominância apical, a germinação e a quebra de dormência de sementes (Crocomo & Cabral, 1988). A multiplicação de videiras *in vitro*, com a utilização de citocininas, foi reportada por diversos autores, contudo, suas concentrações e tipos, para a melhor proliferação de brotações, variou entre os diferentes genótipos estudados (Dzazio et al., 2002).

O sulfato de adenina na forma de sulfato de adenina é muito utilizada em cultura de tecidos, sendo que seu efeito pode ser comparado ao de uma citocinina fraca ou ainda haver uma interação com as próprias citocininas no meio (Caldas et al., 1998). O sulfato de adenina foi usado em meio de multiplicação de mamoeiro por Saha et al. (2004). Também foi utilizado para aumentar a taxa de multiplicação *in vitro* de bananeira (Menegucci et al., 1993). Segundo Georde & Sherrington (1984), o sulfato de adenina parece estimular a proliferação de ramos, principalmente em combinações com citocininas.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a multiplicação *in vitro* de dois porta-enxertos de videira, por meio da utilização de diferentes níveis de sulfato de adenina, associados a diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP).

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais do porta-enxerto de videira 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *V. rotundifolia*) e de 'R110' (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*), com cerca de 2 cm de comprimento, oriundos de brotações preestabelecidas *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio de cultura DSD1 (Silva & Doazan, 1995). O experimento consistiu dos porta-enxertos de videira e de cinco diferentes concentrações de sulfato de adenina (0; 20; 40; 60 e 80 mg L<sup>-1</sup>) e três de BAP (0; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>), em todas as combinações possíveis, adicionadas ao meio de cultura.

Os meios de cultivo foram acrescidos de 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificados com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 25 ± 2°C, irradiância de 35 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas diárias, permanecendo nestas condições por 70 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, utilizando-se 4 repetições com 12 brotações por tratamento. Foram avaliados os números de folhas, comprimento da parte aérea, peso da matéria fresca da parte aérea e de calos. Os dados foram analisados através do software Sisvar (Ferreira, 2000), utilizando regressão polinomial para as variáveis.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando o teste F ao nível de 5% de probabilidade, observou-se interação significativa para número de folhas, comprimento da parte aérea e peso da matéria fresca

de calos do porta-enxerto de videira 'R110' (Tabela 1). Para o porta-enxerto de videira 'VR043-43' verificou-se interação significativa apenas comprimento e peso fresco da parte aérea (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de variância para as características número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), peso fresco da parte aérea (PFPA) e peso fresco de calos (PFCA) do porta-enxerto de videira 'R110'. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios			
		NF	CPA	PFPA	PFCA
BAP	2	13,31*	101,829*	0,00474 <sup>n.s.</sup>	0,03358*
SA	4	46,38*	17,278*	0,00659 <sup>n.s.</sup>	0,02202*
BAP x SA	8	5,84*	28,229*	0,00444 <sup>n.s.</sup>	0,01519*
Resíduo	45	2,71	1,2344	0,00345	0,0036
Total	59				
CV (%)		25,44	22,87	5,68	38,51

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; n.s. = não significativo

Tabela 2. Análise de variância para as características número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), peso fresco da parte aérea (PFPA) e peso fresco de calos (PFCA) do porta-enxerto de videira 'VR043-43'. UFLA, Lavras, MG, 2007.

	GL	QM			
		NF	CPA	PFPA	PFCA
BAP	2	118,49*	0,5954*	0,0062*	0,01319 <sup>n.s.</sup>
SA	4	11,069*	0,1469 <sup>n.s.</sup>	0,0039*	0,05032*
BAP x SA	8	5,671 <sup>n.s.</sup>	0,2330*	0,00187*	0,0027 <sup>n.s.</sup>
Resíduo	45	3,673	0,0637	0,0008	0,0076
Total	59				
CV (%)		26,10	13,53	3,75	11,15

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; n.s. = não significativo

Não foi observada interação significativa para número de folhas de 'VR043-43'. Com incremento nas concentrações de sulfato de adenina no meio de cultura, decréscimo no número de folhas desse porta-enxerto foi verificado. Na ausência dessa substância, maior número de folhas foi obtida. Para o regulador de crescimento maior número de folhas foi observado com 1,0 mg L<sup>-1</sup> desse regulador. Em relação ao porta-enxerto 'R110', verificou-se interação significativa para as variáveis estudadas. Pelo teste de variância, na ausência e com a adição de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, resultados significativos foram obtidos. Com incrementos na concentração de sulfato de adenina, decréscimo de forma quadrática no número de folhas foi verificado nesse porta-enxerto. Esta diferença no número de folhas dos porta-enxertos estudados pode estar relacionada à diversidade genética que existe entre as espécies e até mesmo entre as cultivares (Loretti & Piasani, 1982).

A interação entre BAP e sulfato de adenina mostrou-se significativa para o comprimento da parte aérea dos dois porta-enxertos estudados. Para 'R110' e 'VR043-43' as concentrações de 0 e 0,5 e 0 mg L<sup>-1</sup> de BAP foram significativas, respectivamente. A ausência ou 0,5 mg L<sup>-1</sup> desse regulador parece ser ótima para melhor desenvolvimento de brotos de videira. Com aumento nas concentrações de sulfato de adenina no meio e ausência de BAP, verificou-se decréscimo no comprimento de brotos para os dois porta-enxertos. Maiores comprimentos da parte aérea foram observados na ausência de BAP e sulfato e o aumento nas concentrações de sulfato de adenina teve um efeito inibitório para essa variável estudada.

Em trabalhos *in vitro* com 'VR043-43', Machado et al. (2006) afirmaram que a citocinina BAP teve efeito negativo na altura das brotações, sendo mais evidente nas concentrações de 5,0 e 10 µm. Na ausência de BAP, nos quatro subcultivos, a altura em média das brotações foi maior que nas concentrações de 5 e 10 µm. A produção de

brotações pouco alongadas com a adição de BAP no meio de cultura, também foi observada com as cultivares Thompson Seedless, Sonaka e Tas-e-Ganesh, sendo necessária uma fase de alongamento (Mhatre et al., 2000).

A Tabela 1 e 2 mostra que houve interação significativa para peso fresco da parte aérea do porta-enxerto 'VR043-43'. Diversas concentrações de sulfato de adenina associadas à 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP mostraram-se eficaz para essa variável estudada. Melhores resultados foram observados na ausência de sulfato no meio de cultura.

Para o porta-enxerto 'VR043-43' verificou-se significância no peso fresco de calos apenas para o sulfato de adenina. Com aumento nas concentrações de sulfato obteve-se um decréscimo de forma quadrática no peso de calos desse porta-enxerto. Houve interação significativa para peso fresco de calos de 'R110'. Resultados significativos foram observados com a adição de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Com incrementos nas concentrações de sulfato de adenina, verificou-se decréscimo de forma quadrática no peso de calos desse porta-enxerto. A formação de calos não é desejada na micropropagação da videira. Provavelmente o meio de cultivo acrescido de 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP e baixas concentrações de sulfato de adenina não seja adequados para multiplicação *in vitro* de explantes de videira estudados. Em contrapartida, no meio com adição de altas concentrações de sulfato houve menor formação de calos na base dos explantes e conseqüentemente, melhor desempenho dessas brotações e melhor enraizamento *in vitro*.

## CONCLUSÕES

Melhores resultados na micropropagação dos porta-enxertos de videira 'R110' e 'VR043-43' foram obtidos em meio de cultivo sem a adição de sulfato de adenina e com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIASI, L.A.; PASSOS, I.R.S.; POMMER, C.V. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.10, p.1587-1594, 1998.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA/ CNPH, 1998. 1:87-132.

CROCOMO, O.J.; CABRAL, J.B. **A biotecnologia no melhoramento de plantas tropicais**. Brasília: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1998. 39p.

DZAZIO, D.M.; BIASI, L.A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p.759-764, 2002.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p. 255-258.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. Plant propagation by tissue culture. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

LORETTI, F.; PIASANI, P.L. Physiological and technical factors affecting rooting in woody species. **International Horticulturae**, v.1, p.294-309, 1982.

MACHADO, M.P.; BIASI, L.A.; RITTER, M.; RIBAS, L.L.F.; KOEHLER, H.S. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p.648-655, 2006.

MHATRE, M.; SALUNKHE, C. K.; RAO, P. S. Micropropagation of *Vitis vinifera* L: towards an improved protocol. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 84, p. 357-363, 2000.



MENEGUCCI, J.L.P.; PINTO, J.E.B.P.; SILVA, C.R.R. Avaliação de um novo regulador de crescimento na micropropagação de cultivares de bananeira (*Musa* sp. AAB). **Ciência e Prática**, Lavras, v.7, n.4, p.318-321, 1993.

SAHA, M.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. *In vitro* culture studies in four dioecious varieties of *Carica papaya* L. using axillary buds from field-grown plants. **Journal of Tissue Research**, v.4, n.2, p.211-214, 2004.

SILVA, A.L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal Int. Science of Vigne et Vin**, v. 29, p. 1-9, 1995.

WETZSTEIN, H.Y.; MYERS, S.C. Vegetative and yield component characteristics of micropropagated muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.69, n.4, p.747-753, 1994.

PALAVRAS-CHAVE: *Vitis*, micropropagação, regulador de crescimento.

## **Calogênese e organogênese *in vitro* a partir de segmentos nodais de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Sm.) da Amazônia Ocidental: Estabelecimento e regeneração de brotos\***

Fermino Jr., Paulo Cesar Poeta<sup>1</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>2</sup>; Nagao, Eduardo Ossamu<sup>3</sup>; Guedes, Rodrigo da Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professor Assistente do Departamento de Ciências Agrárias da UFAC, e-mail: paulofermino@ufac.br; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa-Acre; <sup>3</sup> Professor Adjunto da UFAM; <sup>4</sup>Mestrando em Produção Vegetal-UFAC. \* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor.

### **INTRODUÇÃO**

A cerejeira brasileira é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente nas matas de terra firme do sudoeste da Amazônia (Amazonas e Acre). Usada freqüentemente na fabricação de mobiliários fino, lambris, balcões e tonéis (Rizzini, 1981). Devido ao interesse e exploração, *A. acreana* faz parte da Lista Oficial da Flora Ameaçada de Extinção do IBAMA.

A propagação sexuada desta espécie para a produção de mudas a serem utilizadas em projetos de reflorestamento é reduzida em virtude da dispersão anemocórica das sementes, fato que dificulta as coletas no interior da mata (Firmino et al., 1985). A utilização da biotecnologia permite desenvolver métodos de multiplicação, conservação, e proteção de recursos florestais. Em vista da potencialidade da aplicação das técnicas de propagação *in vitro* em espécies florestais, inúmeros trabalhos têm sido desenvolvidos no intuito de tornar esta tecnologia acessível e economicamente viável (Xavier et al, 2007). Cid et al. (2002), afirmam que estudos básicos de micropropagação para espécies tropicais lenhosas são necessários para aumentar o conhecimento científico e suas aplicações práticas.

Esta pesquisa objetivou avaliar: assepsia, germinação das sementes *in vitro* e regeneração *in vitro* a partir de segmentos nodais de *A. acreana* em meio MS adicionando-se os reguladores de crescimento ANA e BAP.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

Sementes maduras e sadias de *A. acreana* foram extraídas de árvores nativas do Alto vale do Juruá- AC no mês de setembro de 2006 e conduzidas ao laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular da Embrapa-Acre, onde foram submetidas a uma pré-desinfestação que consistia na imersão em água e detergente neutro por 15 minutos, sendo lavadas em água corrente por três vezes. Posteriormente, as sementes foram submersas em soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 1,25% e 2,5% por 30 minutos em câmara de fluxo laminar horizontal. Após esta etapa, as sementes foram lavadas por três vezes em água destilada. As sementes desinfestadas foram inoculadas individualmente em tubos de ensaio com os sais e vitaminas do Meio MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescidos de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar em pH ± 5,8 autoclavados a 120 °C por 15 minutos.

Para os experimentos de calogênese foram utilizados segmentos nodais de plântulas de 45 dias germinadas *in vitro* inoculados no meio MS, conforme descrito anteriormente, acrescidos de 1 mg.L<sup>-1</sup> de ácido naftalenoacético (ANA) com 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP). Os tubos de ensaio foram colocados em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 h, temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de 60%.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado com cinco repetições, contendo quatro sementes, em cada unidade amostral. Para os experimentos

de calogênese, foram utilizadas três repetições com dez frascos contendo cinco explantes cada. As médias foram comparadas por teste *t-student* e entre os tratamentos com reguladores foi utilizada ANOVA com teste de separação de Tukey, ao nível de 5% de significância (Sokal & Rohlf, 1995).

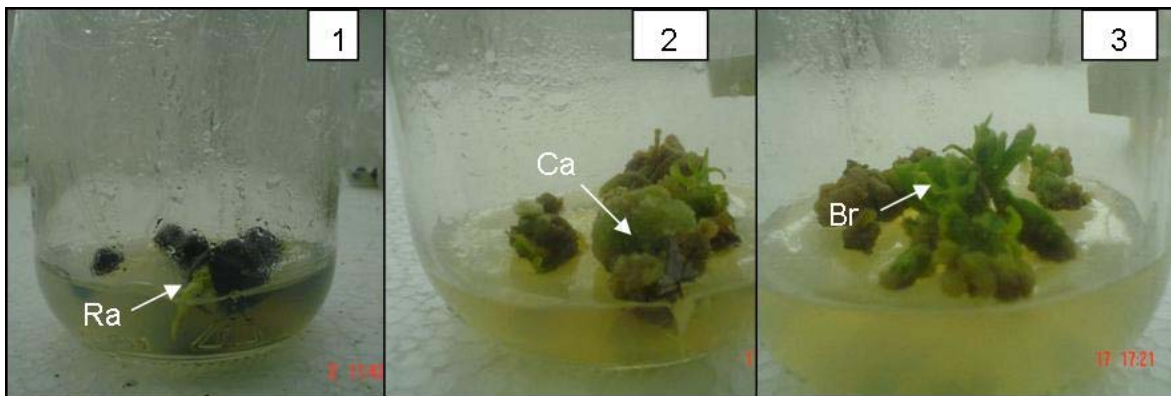
Avaliou-se a porcentagem de contaminação após 15 e 30 dias, e a porcentagem de germinação *in vitro* das sementes. Nos experimentos de calogênese foram avaliadas a porcentagem de explantes com calo e o número médio de brotos regenerados por explante.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes, após 15 e 30 dias de cultivo, não apresentaram contaminação biológica quando submetidas aos tratamentos de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% e 1,25%. As espécies arbóreas apresentam dificuldade para o estabelecimento *in vitro* devido aos contaminantes, principalmente se for utilizado material vegetal de indivíduos adultos (Couto *et al.*, 2004). Por isso, a utilização de plântulas germinadas *in vitro*, nas condições assépticas, tornam-se mais vantajosas (Skirvin, 1981). Os protocolos de assepsia mais utilizados para sementes de espécies arbóreas florestais envolvem o hipoclorito de sódio, como utilizado para sementes de mogno (Couto *et al.*, 2004), sementes de canjarana (Rocha, 2005), de cedro (Nunes *et al.*, 2002), e de *Miconia sp.* (Cid *et al.*, 1997). As respostas à assepsia variam conforme o tipo de tecido, entretanto, a super exposição ao desinfestante freqüentemente causa morte das células. Devido a menor concentração de hipoclorito de sódio a 1,25% expressando alta eficácia, pode-se recomendar tal concentração para protocolos de assepsia para sementes de *A. acreana*.

A germinação *in vitro* iniciou após oito dias de inoculação (Figura 1), apresentando 78% de germinação após 30 dias (Figura 4). Resultados semelhantes foram obtidos por Lopes (2000) e Lemos *et al.* (1998) que observaram em seus trabalhos rápida germinação das sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King), de seis a dez dias, com plântulas medindo de 45 a 65 mm.

Após 45 dias de cultivo dos segmentos nodais, observa-se a maior porcentagem de formação de calos (Figura 2) nas concentrações de 2,0 e 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Os calos apresentam coloração variando de marrom-claro, a amarelada e esverdeada, e de aspecto semi-compacto a friáveis. A maior regeneração de brotos (Figura 3) com média de 2,27 brotos/explante foi obtida com 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Alguns estudos mostram que o segmento nodal é o explante mais eficiente para a proliferação de brotos de espécies lenhosas (Brunetta *et al.*, 2006). Investigações com *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (paricá), mostraram que à medida que se aumenta a concentração de BAP, ocorre maior incidência de calos (Cordeiro *et al.*, 2004). Em *Azadirachta indica* (margosa), brotos foram regenerados a partir de gemas apicais e axilares na presença de 4,4 µM de BAP (Yousef & Fattah, 1998). Entretanto, com *Azadirachta excelsa* (nim), maior quantidade de brotos foi obtida a partir de gemas axilares na presença de 4,4 µM BAP e 0,5 µM ANA (Liew & Teo, 1998). Para *Cedrela fissilis* (cedro), brotos adventícios foram obtidos a partir de nós cotiledonares na presença de 1,25 a 5,0 µM de BAP (Nunes *et al.*, 2002). Em mogno (*Swietenia macrophylla* King), brotações adventícias surgiram a partir de segmentos nodais em meio contendo 10 µM de BAP e 2,2 µM de 2-iP (Couto *et al.*, 2000). De acordo com Santos (1998), elevadas concentrações de citocinina parecem interagir com a quantidade de auxina endógena do explante, o que leva à formação de calos provocando certa inibição no surgimento de brotos.



FIGURAS 1-3. Sementes e segmentos nodais de *Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith. *in vitro*. 1. Germinação *in vitro* de semente, com emissão da radícula. 2. Formação de calos friáveis. 3. Brotações regeneradas a partir de segmentos nodais. Legendas: Ra= radícula; Ca= calos; Br= brotos.

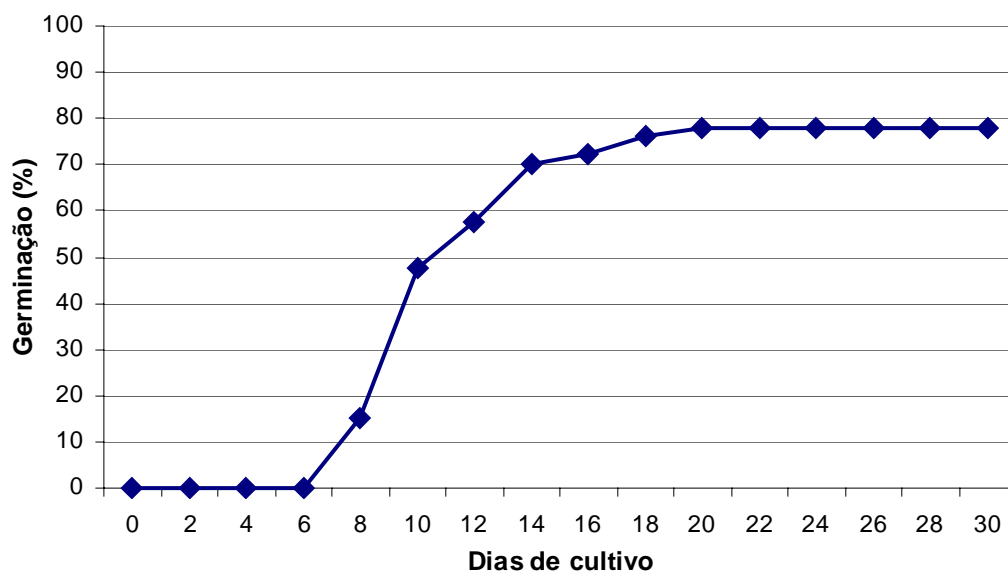


FIGURA 4. Freqüência relativa da germinação *in vitro* de sementes de *Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith. em função dos dias de cultivo.

TABELA 1. Formação de calos e regeneração de brotos a partir de segmentos nodais de *Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith.

BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	Percentual de Formação de calos	Brotos por explante
0	6±0 a	0 a
0,5	36±3,5 b	0,83±0,06 b
1,0	48±2 c	1±0,2 c
2,0	80,7±4,2 d	2,27±0,06 e
4,0	89,3±1,2 d	1,83±0,12 d

NOTA: Letras diferentes na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a combinação de BAP e ANA tem efeitos significativos na indução de processos morfogênicos *in vitro* de *A. acreana*, visando sua micropropagação. A concentração de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA é a mais adequada para a regeneração de brotos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUNETTA, J.M.F.C.; OTONI, W.C.; PINHEIRO, A.L.; FONSECA, E.P. Calogênese *in vitro* em segmentos de epicótilo de mogno (*Swietenia macrophylla* King) com uso de 6-benzilaminopurina e ácido naftalenoacético. **Scientia Florestalis**, n.71, p.19-24. 2006.
- CID, L. P. B.; GOMES, A. C. M.; COSTA, S. B. R.; TEIXEIRA, J. B. Micropropagation of *Miconia* sp. a woody melastomaceae from Brazil, using thidiazuron as plant growth regulator. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 9, n. 1, p. 21-25, 1997.
- CORDEIRO, I.M.C.C.; LAMEIRA, O.A.; OHASHI, S.T.; ROSAL, L.F. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (paricá). **Cerne**, v.10, n.1, p.118-124. 2004.
- COUTO, J.M.F.; OTONI, W.C.; PINHEIRO, A.L.; FONSECA, E.P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, v.28, n.5, p.633-642. 2004.
- FIRMINO, J.L.; SANTOS, D.S.B.; SANTOS, B.G. Utilização de alguns testes de viabilidade e vigor e composição química em sementes de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith. ) **Revista Árvore**, v.19, n.3, p. 286-292. 1995.
- LEMOS, O.F. et al. Produção de plântulas para micropropagação do mogno (*Swietenia macrophylla* King). In: Congresso Nacional de Genética, 44, 1998. Águas de Lindóia, SP. Resumos do Congresso: 1998. p.216.
- LOPES, S.C. **Micropropagação de mogno (Swietenia macrophylla King)**. 2000. 53p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2000.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15: 473-497. 1962.

NUNES, E. C.; CASTILHO, C. V.; MORENO, F. N.; VIANA, A. M. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v. 70, p. 259-268, 2002.

RIZZINI, C.T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil. Manual de dendrologia**. 2ªed. São Paulo: Edgar Brucher, Ltda. 296p. 1981.

ROCHA, S. C. e QUOIRIN, M. Calogênese e rizogênese em explantes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) cultivados *in vitro*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, nº 1 p. 91-101. 1995.

SANTOS, M.R.A. **Germinação, calogênese e caracterização de saponinas em *Smilax japecanga* Grisebach**. 1998. 81p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SKIRVIN, R.M. Fruticulture crops. In: CONGER, B.V. **Cloning agricultural plants via in vitro techniques**. Boca Raton: CRC Press, p.51-139. 1981.

SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. **Biometry**. San Francisco, Freeman and Company, 776p. 1995.

XAVIER, A.; OTONI, W.C.; PENCHEL, R.M. Micropropagação e Enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: Borém, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: Editora UFV. p.55-74. 2007.

PALAVRAS-CHAVE: *Amburana acreana*; Biotecnologia Florestal; Micropropagação; Plantas lenhosas.

## **Resposta de explantes de *Epidendrum ibacuense* (Orchidaceae) a diferentes concentrações e tempo de exposição ao hipoclorito de sódio e a diferentes antioxidantes**

Rodrigues, Donizetti Tomaz<sup>1</sup>; Berger, Marcus V Sossai<sup>2</sup>; Dias, José Maria Moreira<sup>3</sup>; Barros, Aline Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-2575, email: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Biólogo, email: [mvsberger@gmail.com](mailto:mvsberger@gmail.com); <sup>3</sup>Professor da Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Fitotecnia, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, email: [jmmdias@ufv.br](mailto:jmmdias@ufv.br);

<sup>4</sup>Estudante especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, email: [afbarros2004@yahoo.com.br](mailto:afbarros2004@yahoo.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

O interesse despertado pelas orquídeas é antigo, sendo relatado o seu fascínio sobre filósofos e grandes nomes da história e hoje há uma clara popularização do cultivo das orquídeas. Um dos desafios do cultivo de orquídeas é a obtenção de protocolos de micropropagação eficientes, há alguns problemas que ainda carecem de solução, por exemplo a oxidação do material utilizado como explante e a contaminação tardia por microorganismos latentes presentes no tecido vegetal. No presente trabalho se estudou o efeito de agentes desinfestantes no processo de oxidação e desinfestação do material cultivado, e também a ação de agentes antioxidantes no meio de cultivo.

O sucesso de um sistema de propagação *in vitro* depende do controle de um grande número de variáveis (Kozai et al., 1995). Sem dúvida a desinfecção dos explantes é uma etapa fundamental neste processo. A dificuldade maior nesta etapa reside em se obter tecido descontaminado sem conduzi-lo a morte quando isolado (Grattapaglia & Machado, 1998). Várias substâncias com ação germicida são utilizadas para fazer a desinfecção dos explantes. Os mais comuns são o etanol e os compostos a base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio e de cálcio. Outros agentes desinfestantes usados incluem o cloreto de mercúrio, o ácido clorídrico, o cloreto de benzalcônio e o peróxido de hidrogênio.

As concentrações das soluções desinfestantes assim como as combinações dos princípios ativos desinfestantes e os tempos de exposição podem variar muito. Considerando a sensibilidade do tecido a ser desinfestado, manipula-se a concentração da solução e tempo de exposição de maneira inversamente proporcional (Grattapaglia & Machado, 1998). A retirada do explante e manipulação no momento da desinfecção podem causar danos físicos culminando numa maior oxidação de fenóis no estabelecimento inicial deste, tendo como consequência principal à morte do explante.

A liberação de compostos fenólicos ocorre devido ao dano causado nas células durante a excisão dos explantes e algumas enzimas, como as polifenoloxidasas, oxidam os fenóis, que são compostos incolores, formando quinonas (Lerch, 1981; Barbosa, 2000). Algumas medidas podem ser tomadas a fim de reduzir a ação de fenóis. Teixeira (2004) relata que durante a excisão e esterilização, deve-se tomar os devidos cuidados para que os danos físicos e químicos ao explante sejam minimizados. A lavagem dos explantes coletados antes da desinfecção auxilia na lixiviação dos compostos fenólicos (Grattapaglia & Machado, 1998).

Algumas substâncias com ação antioxidante podem ser utilizadas após a desinfecção na forma de um último enxágüe mais demorado, ou fazendo o trabalho de isolamento de explantes dentro de uma placa de petri contendo a solução (Grattapaglia & Machado, 1998). Outra medida seria a adição destas substâncias ao meio de cultivo. O efeito do antioxidante consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metabólicos ou na redução dos peróxidos para produtos incapazes de formar radicais livres com potencial de se oxidar (Araújo, 1995). Dentre as substâncias com efeito antioxidante, pode-se citar o ácido ascórbico, ácido cítrico, polivinilpirrolidona (PVP), carvão ativado, L-cisteína, ditiotreitól, tiuréia, água de coco e albumina de soro bovino. Estas substâncias

podem atuar de modo a inibir a síntese ou a ação de enzimas ligadas a oxidação dos polifenóis ou agir como adsorventes destas substâncias.

Os ácidos cítrico e ascórbico reagem com os metais presentes no meio de cultura, evitando que os mesmos fiquem disponíveis para se oxidarem (Araújo, 1995; Taiz e Zeiger, 1999).

## MATERIAL E MÉTODOS

- Efeito de diferentes concentrações e tempo de exposição ao hipoclorito de sódio.

Foram utilizadas neste experimento gemas basais de *Epidendrum ibacuense* cultivadas em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, sendo que estas plantas receberam tratamento prévio com a aplicação um coquetel com dois fungicidas e um bactericida nove dias antes da coleta, com intervalo de três dias entre cada aplicação.

Após a aplicação do tratamento prévio com o coquetel, gemas basais com comprimento variando entre 5 a 10 cm foram coletadas, levadas para a sala de preparo, no laboratório de cultura de células e tecidos vegetais, onde foram lavadas em água corrente e posteriormente imersas em solução detergente 1:10 (v/v) por 30 minutos, transcorrido este tempo retirou-se as brácteas externas das gemas, as quais foram novamente imersas em uma nova solução detergente durante 5 minutos, logo após serem lavadas em água corrente foram levadas para dentro do laboratório e sob condições de capela de fluxo laminar foram imersas em álcool 70 % durante um minuto. A partir deste ponto foram aplicados os tratamentos, que consistiram em quatro concentrações de hipoclorito (5, 10, 15 e 20 ml L<sup>-1</sup>) e quatro tempos de exposição (5, 10, 15, 20 m).

Após a aplicação do agente desinfestante, foram realizadas quatro enxágües em água estéril, sendo a primeira por cinco minutos, e as três seguintes por 10 minutos cada. Logo após, as gemas de cada tratamento foram seccionadas em segmentos nodais com aproximadamente cinco milímetros de comprimento e inoculados em meio sólido, sendo incubados em sala de crescimento durante um mês, na ausência de luz e a 27 °C ± 2.

- Efeito de diferentes agentes antioxidantes.

Devido o fato deste material ser oriundo do campo, o mesmo foi deixado por uma noite em uma solução desinfestante composta pelo coquetel fungicida/bactericida, no dia seguinte as gemas foram lavadas em água corrente e levadas para dentro do laboratório. Sob condições de capela de fluxo laminar as gemas foram imersas em uma solução de álcool 70 % por um minuto, logo após foram imersas em uma solução com 100 % de água sanitária Super Globo® durante 20 minutos, sob agitação manual intermitente (Ventura, 2002), após esta operação foi realizado quatro enxágües nos tempos de 5, 10, 10 e 10 minutos respectivamente. Após o último enxágüe as gemas foram mantidas em uma solução contendo o agente antioxidante do respectivo tratamento até o momento de sua inoculação no meio, vale ressaltar também que os cortes realizados foram feitos em placa de petri contendo a solução antioxidante. Os segmentos nodais, assim preparados foram cultivados no meio MS completo, contendo diferentes agentes antioxidantes: Ácido Bórico, Carvão Ativado, L-Cisteína e Água de Coco, em sala de crescimento na ausência de luz e a 27 °C ± 2 (Quadro 1).

Quadro 1 - Agentes antioxidantes aplicados ao meio de cultura e a solução para realização dos cortes.

Tratamento	Agente antioxidante	Concentração no meio de cultura	Concentração na solução para cortes
Testemunha (T0)	-	-	-
T1	Ácido Bórico	6,20 mg/L	50 mg/L
T2	Carvão Ativado	2,0 g/L	2,0 g/L
T3	L-Cisteína	50 mg/L	50 mg/L
T4	Água de Coco	50 mL/L	100 % <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Foi utilizada água de coco pura filtrada.



Para ambos os ensaios o meio utilizado foi composto por: sais de MS (Murashige e Skoog, 1962); 30 g. L<sup>-1</sup> de sacarose; 0,4 mg. L<sup>-1</sup> de tiamina; 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol; 0,2g L<sup>-1</sup> de cinetina; 1,0 g L<sup>-1</sup> de ácido alfa-naftalenoacético (ANA) e 50 mL L<sup>-1</sup> de água de coco natural, o pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 0,1 e solidificado com 8 g.L<sup>-1</sup> de ágar Isofar® e distribuídos 10 mL L<sup>-1</sup> em tubos de ensaio e fechados com tampa de polipropileno (Ventura, 2002). Os tubos de ensaio contendo meio foram autoclavados a 1,5 atm e 121 °C, durante 15 minutos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento da concentração de hipoclorito no meio provocou maior oxidação dos explantes o mesmo acontecendo para o aumento do tempo de exposição. Isso mostra a importância de se conhecer as concentrações que minimizem tais efeitos. Já em termos de contaminação não houve grandes diferenças na redução no nível de contaminação tanto em relação ao tempo quanto concentração de NaClO<sub>2</sub> (Quadro 2). Um fato interessante a ser observado é o desempenho dos explantes para as doses 10,0 e 15,0 mL L<sup>-1</sup> de NaClO<sub>2</sub>, que mostraram melhores resultados em relação ao comprimento dos mesmos apresentando o máximo crescimento com a desinfestação realizada com 12,0 mL L<sup>-1</sup> de hipoclorito de Sódio (Figura 1).

No caso do uso de agentes antioxidantes apenas a L-cisteína mostrou resultados positivos no controle da oxidação, com redução de 50 % na mesma, os demais agentes: água de coco, ácido bórico e carvão ativado, não afetaram o controle da oxidação (Quadro 3).

Quadro 2 – Contaminação por bactéria e fungos e oxidação explantes e meio em resposta a concentrações e tempos de exposição de hipoclorito de sódio

Tempo m	NaClO <sub>2</sub> mL L <sup>-1</sup>	Bactéria	Fungo	Oxid. Exp %	Oxid. Meio
5	20	50	-	30	50
5	15	30	-	50	20
5	10	10	-	10	-
5	5	10	10	50	-
10	20	10	10	-	10
10	15	10	-	-	-
10	10	10	-	30	-
10	5	30	-	30	-
15	20	10	-	-	10
15	15	10	-	20	-
15	10	50	10	20	20
15	5	30	-	30	40
20	20	40	-	50	20
20	15	20	20	40	10
20	10	40	-	40	30
20	5	50	10	70	30

Quadro 3 - Efeito de diferentes agentes antioxidantes na oxidação de explantes e nível de contaminação

Tratamento	Oxidação	Contaminação.
		%
Testemunha	90a	100a
Ac. Bórico	90a	90a
Água de Coco	80a	90a
Carvão Ativado	80a	70c
L-Cisteína	50b	20d

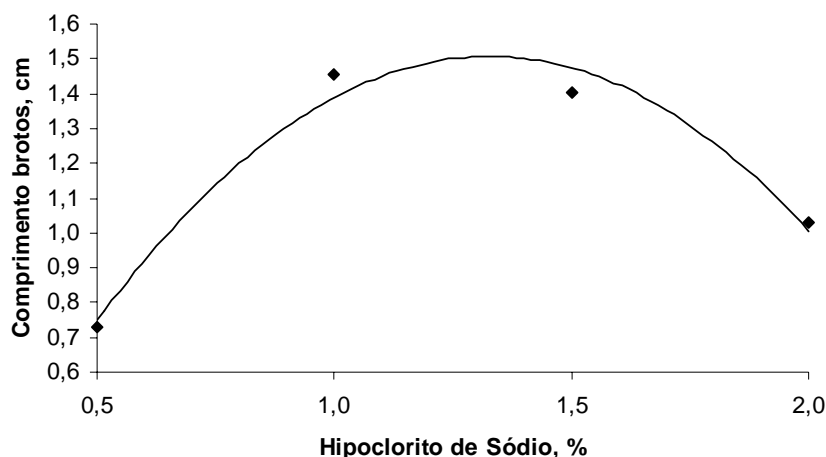


Figura 1 – Comprimento de brotos em resposta a concentração de NaClO na solução de desinfestação. Broto =  $-4,2 + 10,17^{***} \text{Conc}^{0,5} - 4,58^{***} \text{Conc}$   $R^2 = 0,97$

## CONCLUSÃO

O uso de L-Cisteína foi eficiente na redução da oxidação dos explantes, bem como o uso de concentrações menores de hipoclorito e menor tempo. Porém, a contaminação por fungos e bactérias não apresentou diferenças significativa entre os tratamentos aplicados.

## BIBLIOGRAFIA

- ARAÚJO, J. M. A. (1985). **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 355p.
- BARBOSA, L. C. A. (2000). **Química orgânica: uma introdução para as ciências agrárias e biológicas**. Viçosa: UFV, 354p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. (1998). Propagação in vitro. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, v.1, p. 183-260.
- KOZAI, T.; Fujiwara, K.; Kitaya, Y.; (1995). **Modeling, measurement and control in plant tissue culture**. Act. Hort., 393, 63-73.
- LERCH, K. (1981). **Cooper monooxygenases: tyrosinase and dopamine b-monoxydases**. In: Siegel, H. (Ed.). Metal ions in biological systems. Marchel Deckker, p. 143-186
- TAIZ, L.; Zeiger, E. (1998). **Plant physiology**. Publish Sunderland Editora Sinauer Associades: Massachusetts, 2<sup>a</sup> ed.
- TEIXEIRA, J. B. (2004). **Limitações ao processo de cultivo in vitro de espécies lenhosas**. Disponível em: <http://www.redbio.org.br> em: 28 de junho de 2004.

## PALAVRAS-CHAVES

*Epidendrum ibacuense*; orquídeas; agente desinfestante; antioxidantes.

## Calogênese em cotilédones de nim utilizando TDZ.

Rodrigues, Marcelo<sup>1</sup>, Paiva<sup>2</sup> Renato; Silva Júnior, Jessé Marques<sup>3</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>4</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>5</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduando de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: [marcel.or.7@hotmail.com](mailto:marcel.or.7@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [jesseagronomo@yahoo.com.br](mailto:jesseagronomo@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Doutorandas em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq e CAPES, e-mail: [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br); [fernandapereirasoares@yahoo.com.br](mailto:fernandapereirasoares@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

*Azadirachta indica* A. Juss, popularmente conhecida como nim, é uma espécie arbórea nativa da Índia, pertencente a família Meliaceae. Destaca-se por possuir substâncias de ação inseticida, fungicida, bactericida e nematicida (Martinez et al., 1998). Segundo Schmutterer (1995) citado por Pletsch (1997), dentre essas substâncias, estão centenas de princípios ativos.

Dos compostos químicos presentes no nim com atividade biológica, o mais ativo é a azadirachtina, que por sua vez possui semelhança com o hormônio da ecdise dos insetos, desse modo atua alterando essa transformação, podendo inclusive impedi-la (Martinez, 1998). Apresenta ainda, efeito repelente e intoxicante, afetando a biologia e desenvolvimento, oviposição e a viabilidade dos ovos (Neves & Nogueira, 1996).

A micropropagação oferece muitas vantagens para a prática agrícola, como a maior rapidez na obtenção de um grande número de mudas ou materiais vegetais, e a erradicação de pragas e doenças da cultura (Pletsch, 1997). A clonagem *in vitro* é particularmente útil para conservação de espécies ameaçadas, e a propagação de espécies recalcitrantes ou de ciclo de vida longo. Também pode ser aplicada as espécies vegetais produtoras de princípios ativos úteis a serem explorados economicamente, da mesma forma que a micropropagação de espécies leguminosas, frutíferas, florestais e ornamentais (Kerbauy, 1997)

A multiplicação do material vegetal por meio da micropropagação pode ser: a) por meio da proliferação de gemas axilares, b) mediante indução de gemas adventícias por organogênese direta ou indireta (passando pela fase de calo) e c) por via embriogênese somática direta ou indireta (formando calo) (Grattapaglia & Machado, 1998).

Calo é um grupo ou massa de células vegetais com crescimento desordenado, as quais podem apresentar certo grau de diferenciação (Torres et al., 2000). Desenvolve-se em resposta a injúrias físicas ou químicas (George, 1996).

De acordo com Vietez & San-José (1996), muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a indução de calos. O balanço hormonal obtido entre os níveis de citocininas e auxinas, exógenas e endógenas à planta pode estimular a proliferação celular. Porém, Ozias-Akins & Vasil (1985) mencionam que citocininas exógenas nem sempre são necessárias e que muitos tecidos desenvolvem-se *in vitro* apenas com suprimento de auxinas. Dentre os reguladores de crescimento mais utilizados na indução de calos destacam-se o 2,4-D, ANA e, mais recentemente, o TDZ.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações de TDZ na calogênese em cotilédones de nim e o desenvolvimento dos calos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Nesse experimento foram utilizados cotilédones para indução de calos *in vitro*. Sendo assim, as sementes foram previamente desinfestadas em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo por 10 minutos. Posteriormente, foram desinfestadas em câmara de fluxo laminar, em álcool 70% durante 60

segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo durante 20 minutos. Ao final desse processo, foram lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada, banhadas no fungicida Derosal e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura.

O meio de cultura utilizado foi WPM (Lloyd & McCown, 1981), suplementado com 4% de sacarose, solidificado com 0,6% de ágar, pH ajustado em 5,8, cinco diferentes concentrações de TDZ e autoclavagem do meio de cultivo a 120°C durante 20 minutos. Os tratamentos citados em relação ao suplemento de TDZ foram: T0 = 0 mg L<sup>-1</sup>; T1 = 0,01 mg L<sup>-1</sup>; T2 = 0,1 mg L<sup>-1</sup>; T3 = 0,5 mg L<sup>-1</sup> e T4 = 1 mg L<sup>-1</sup>.

A incubação foi realizada em sala de crescimento, no escuro, a 27 °C ± 2 °C. Após 45 dias de cultivo *in vitro*, os tratamentos foram avaliados por meio da percentagem da área do explante coberto por calos, ou seja, taxa de crescimento do calo, que por sua vez será aplicado por uma nota de 0 a 3 referente a proporção de calos, onde 0 correspondeu ausência de calos e 3 toda superfície do explante coberto por calos, e 1 e 2 como valores intermediários. Do mesmo modo foi analisada a coloração dos calos formados onde 0 correspondeu aos calos mais escuros, 1 e 2 tonalidades mais claras e 3 para calos brancos; além disso, também foi analisada a textura, com 0 sendo atribuído aos calos lisos, 1 e 2 pouco granulados e 3 com aspecto muito granular.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o início de formação dos calos nos tratamentos, observou-se diferentes colorações e textura destes calos nos explantes cotiledonares de nim (Figura 1A e 1B). O tratamento T2 (0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ) apresentou a maior formação de calos com coloração clara e textura granular (Figura 2).

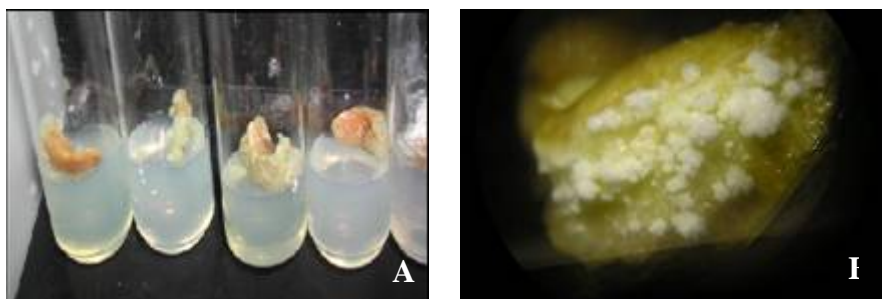


Figura 1. Início de calogênese (A) e aspecto de calos com coloração branca do tipo granular (B) em explantes cotiledonares de nim.

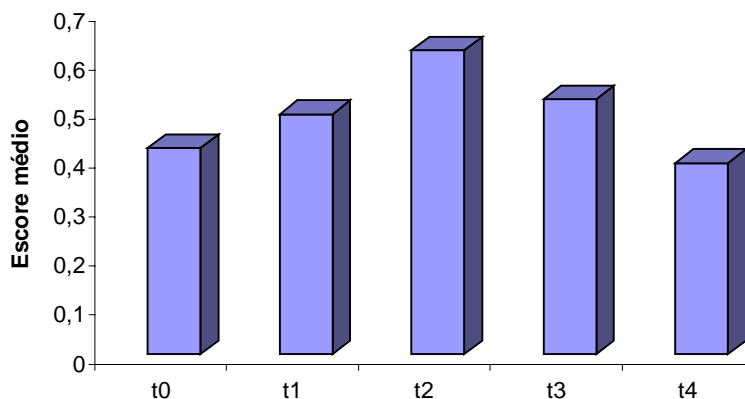


Figura 2. Crescimento de calos em diferentes tratamentos de TDZ.

Podemos inferir que os cotilédones de nim necessitam de uma concentração de 0,1 mg L<sup>-1</sup> exógena do fitormônio TDZ para induzir maior quantidade de calos, isso se deve provavelmente ao balanço hormonal das sementes.

Quanto à coloração apresentada pelos calos formados, houve maior ocorrência da cor branca, principalmente nos tratamentos T2 (0,1 mg L<sup>-1</sup>) e T3 (0,5 mg L<sup>-1</sup>), seguido dos tratamentos T4 (1 mg L<sup>-1</sup>); T1 (0,01 mg L<sup>-1</sup>) e T0 (0 mg L<sup>-1</sup>).

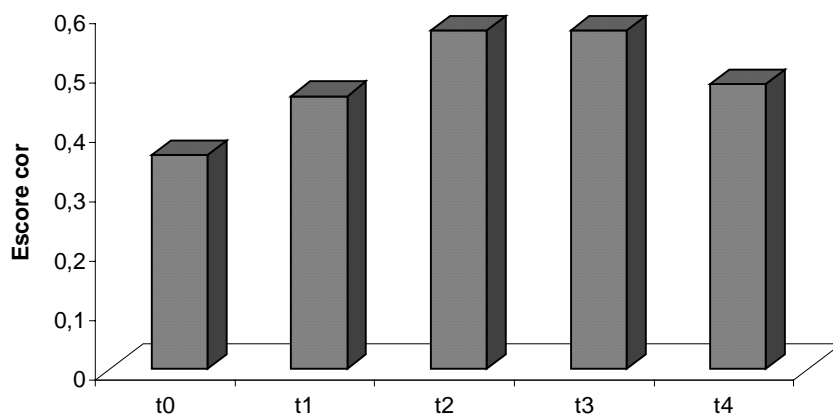


Figura 3. Ocorrência da coloração branca em calos de nim nos diferentes tratamentos de TDZ.

Segundo (FIGUEIREDO, 2007), observou-se que calos com essa coloração, geralmente possuem caráter embriogênicos, induzindo maior formação de gemas e brotos. Desse modo, provavelmente os calos dos tratamentos T2 e T3 possuem um grande potencial para formação de brotos.

Quanto a textura granular, também se destacou a maior formação no tratamento T2, seguido pelo T1 (0,01 mg L<sup>-1</sup>).

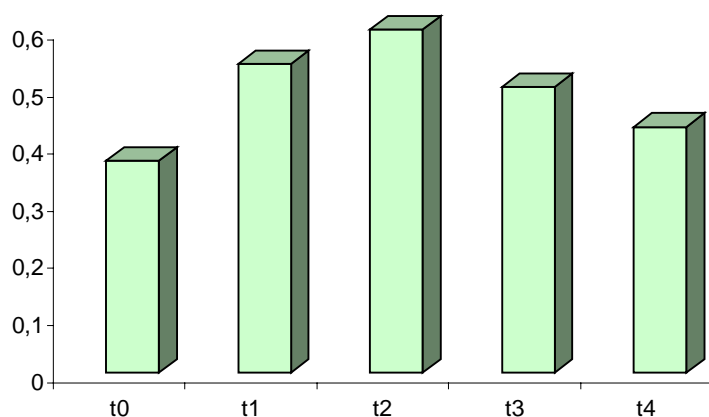


Figura 4. Ocorrência da textura granular em calos de nim nos diferentes tratamentos de TDZ.

Do mesmo modo, de acordo com (FIGUEIREDO, 2007), existe uma correlação entre calos de coloração clara e aspectos granulares. Deste modo, podemos inferir que os tratamentos T2 e T1, possuem maior potencial para formação de brotos.

## CONCLUSÃO

Os maiores valores de crescimento, ocorrência de coloração branca e textura granular de calos induzidos em explantes cotiledonares de nim ocorre em meio de cultura WPM contendo 0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ. Além disso, podemos inferir que o mesmo tratamento possui maior potencial para formação de brotos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 1 - The technology. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.

KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas in vitro. **Biotechnology Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.30-33, maio 1997.

LLOYD, G; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1981.

MARTINEZ, S.S.; LIMA, J. de; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agrônoma e fitoquímica de neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedências em vários locais da região sul e sudeste do Brasil. **XVII Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Resumo, p.831, agosto 1998.

NEVES, B.P.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss)** Goiânia: Embrapa, CNPAF; APA, 1996. 32p. (Circular Técnica, 28).

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotechnology Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.12-15, maio 1997.

VIETEZ, A. M.; SAN-JOSÉ, M. C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In vitro Cellular & Developmental Biology**, Columbia, v. 32, n. 3, p. 140-147, July/Sept. 1996.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.35, p.271-297, 1990.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – CNPq, 1990. 433 p.

OZIAS-AKINS, P.; VASIL, I. K. Nutrition of plant tissue cultures. In: VASIL, I. K. **Cell culture and somatic cell genetics of plants: cell growth, nutrition, cytodifferentiation and cryopreservation**. Florida: Academic, 1985. v. 2, p. 128-147.

FIGUEIREDO, M.A. **Obtenção, Análises Morfológicas e Ultra-Estruturais de Calos de *Passiflora spp.*** 2007. p 44-56. Dissertação de (mestrado)- Universidade Federal de Lavras.

## PALAVRAS CHAVE

*Azadirachta indica*, calo, crescimento, coloração, textura.

## Indução de calos em cotilédones de nim utilizando diferentes concentrações de 2,4-D e BAP

Rodrigues, Marcelo<sup>1</sup>, Renato Paiva<sup>2</sup>; Silva Júnior, Jessé Marques<sup>3</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>4</sup>; Vargas, Daiane Peixoto<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduando de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: [marcel.or.7@hotmail.com](mailto:marcel.or.7@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [jesseagronomo@yahoo.com.br](mailto:jesseagronomo@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

A planta *Azadirachta indica* A. Juss, popularmente conhecida como nim, é uma espécie arbórea nativa da Índia, pertencente a família Meliaceae. Destaca-se por possuir substâncias de ação inseticida, fungicida, bactericida e nematocida (Martinez,1998). Segundo Schmitterer (1995), citado por Pletsch (1997), dentre essas substâncias, estão centenas de princípios ativos.

Entre os compostos químicos presentes no nim com atividade biológica, o mais ativo é a azadirachtina, que por sua vez possui semelhança com o hormônio da ecdise dos insetos, desse modo atua alterando essa transformação, podendo inclusive impedi-la (Martinez, 1998). Apresenta ainda, efeito repelente e intoxicante, afetando a biologia e desenvolvimento, oviposição e a viabilidade dos ovos (Neves & Nogueira, 1996).

A produção em larga escala de clones, via cultura de tecidos, surge como importante alternativa para a produção de mudas selecionadas e sadias de nim. Essa técnica permite o isolamento asséptico de células ou tecidos da planta-mãe e seu cultivo em condições controladas, sendo que a expressão da totipotencialidade celular permite a regeneração de plantas inteiras idênticas a matriz (Tores & Caldas,1990). A micropropagação apresenta-se com grande superioridade em relação aos métodos vegetativos convencionais por incluir elevadas taxas de multiplicação, produção de material livre de doenças e pequeno espaço requerido para multiplicar um grande número de plantas (Torres & Caldas, 1990).

Podemos observar que a micropropagação oferece muitas vantagens para a prática agrícola, como a maior rapidez na obtenção de um grande número de mudas ou materiais vegetais, e a erradicação de pragas e doenças da cultura (Pletsch, 1997). A clonagem *in vitro* é particularmente útil para conservação de espécies ameaçadas, e a propagação de espécies recalcitrantes ou de ciclo de vida longo. Também pode ser aplicada as espécies vegetais produtoras de princípios ativos úteis a serem explorados economicamente, da mesma forma que a micropropagação de espécies leguminosas , frutíferas, florestais e ornamentais (Kerbauy,1997).

Dentre os inúmeros fatores que afetam o cultivo *in vitro* e a regeneração de plantas em condições controladas, sem dúvida, são os reguladores de crescimento, tanto em seus aspectos qualitativos e quantitativos. O presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito de 2,4-D e BAP na formação de calos de nim e o desenvolvimento dos mesmos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cotilédones obtidos de germinação *in vitro* de sementes de nim. As sementes foram previamente desinfestadas em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo por 10 minutos. Posteriormente, foram

desinfestadas em câmara de fluxo laminar, em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo durante 20 minutos. Ao final desse processo, foram lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada, banhadas no fungicida Derosal e inoculadas em tubos de ensaio.

O meio de cultura utilizado foi WPM (Lloyd & McCown, 1981) suplementado com 3% de sacarose, solidificado com 0,6% de ágar, pH ajustado em 5,8. Totalizou-se 16 tratamentos suplementados com os reguladores de crescimento 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) e/ou BAP (6-benzilaminopurina). A autoclavagem do meio de cultivo foi realizada a 120°C durante 20 minutos. Os tratamentos citados em relação aos suplementos utilizados nesse experimento, consta de todas as combinações possíveis de 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>) e BAP (0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>) conforme Tabela 1.

TABELA 1. Descrição dos tratamentos contendo 2,4-D e BAP.

Tratamentos	2,4-D (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )
T0	0,0	3,0
T1	1,0	2,0
T2	2,0	1,0
T3	3,0	0,0
T4	0,0	0,0
T5	0,0	1,0
T6	0,0	2,0
T7	1,0	0,0
T8	1,0	1,0
T9	1,0	3,0
T10	2,0	0,0
T11	2,0	2,0
T12	2,0	3,0
T13	3,0	1,0
T14	3,0	2,0
T15	3,0	3,0

A incubação foi realizada em sala de crescimento, no escuro, a 27 °C ± 2°C. Após 45 dias de cultivo, os tratamentos foram avaliados por meio da verificação da percentagem da área do explante coberto por calos, ou seja, taxa de crescimento, que por sua vez será aplicado uma nota de 0 a 3 referente a proporção de calos, onde 0 corresponde ausência de calos e 3 toda superfície do explante coberto por calos, 1 e 2 valores intermediários. Do mesmo modo foi analisada a coloração, onde 0 correspondeu a calos mais escuros, 1 e 2 como tonalidades mais claras e 3 como calos brancos; além disso, também foi analisado textura, onde 0 correspondeu aos calos lisos, 1 e 2 como pouco granulados e 3 como muito granular.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior formação de calos ocorreu nos tratamentos T0 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP), T6 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP) e T10 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D) (Figura 1 e 2).



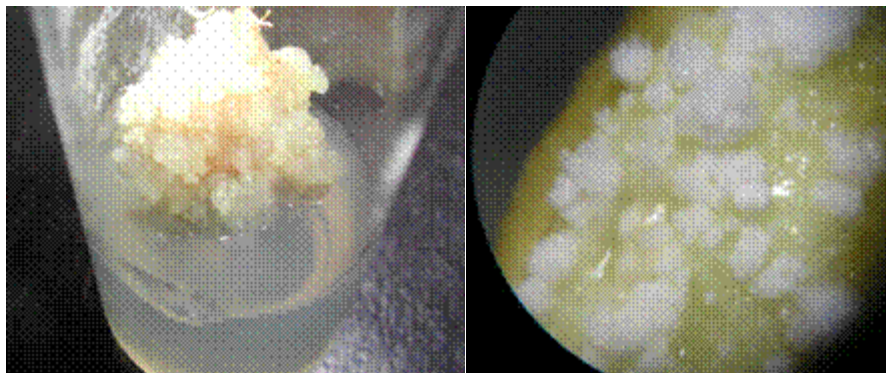


Figura 1. Calogênese em cotilédones de nim.

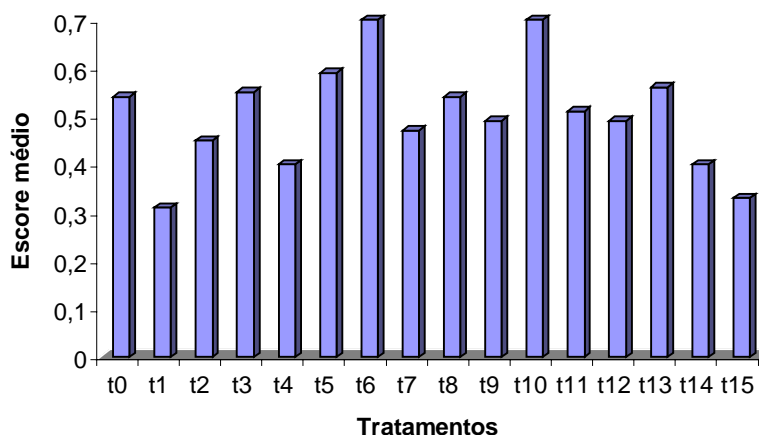


Figura 2. Formação de calos nos diferentes tratamentos contendo 2,4-D e BAP.

Quanto à coloração dos calos, houve maior ocorrência de calos brancos, principalmente nos tratamentos T0 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP), T3 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D), T6 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP) e T10 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D). Na textura dos calos, observou-se que houve a maior formação de calos com aspecto granular novamente nos tratamentos T0 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP), T3 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D), T6 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP) e T10 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D). Conforme apresentado na figura 3, a foto I aponta a correlação de quanto mais escuro for o calo, este possui aspecto liso; na foto II, encontra-se calos de aspecto morfológico do tipo granular e de coloração mais clara.

Na figura 4, observa-se a apresentação gráfica de todos os tratamentos, evidenciando os quatro melhores resultados, nos quesitos coloração (A) e textura (B) conforme descrito: tratamentos T0 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP), T3 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D), T6 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP) e T10 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D).

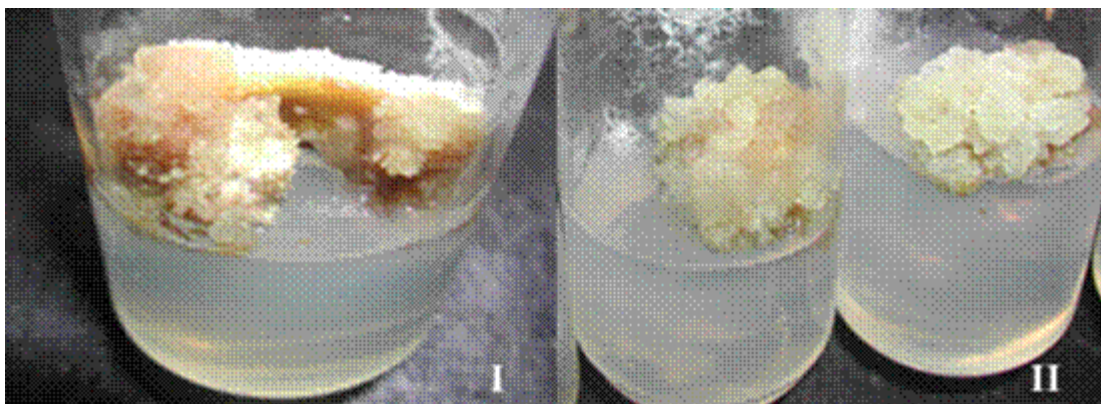


Figura 3. Foto I: quanto mais escuro for o calo, o mesmo se comporta com aspecto morfológico do tipo liso; Foto II: quanto mais claro, maior o aspecto granular.

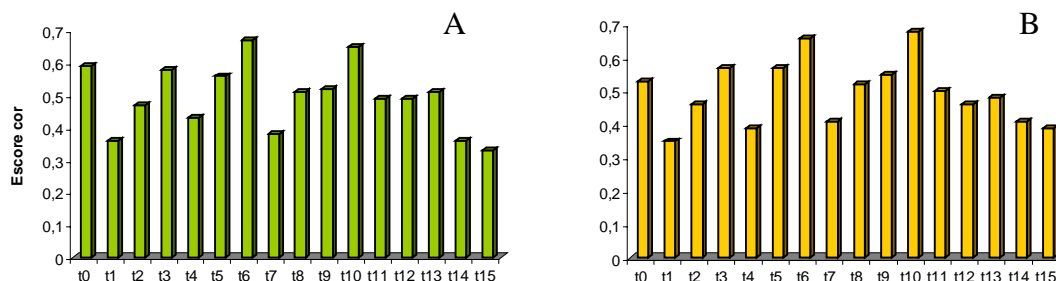


Figura 4. Coloração (A) e textura (B) dos calos nos diferentes tratamentos contendo 2,4-D e BAP.

Podemos observar que a coloração dos calos nos tratamentos T0;T3;T6 e T10 é mais clara e com aspecto morfológico do tipo granular. Desse modo, podemos inferir segundo (Figueiredo; 2007), que tais calos possuem células com maior potencial para indução e desenvolvimento de brotos, pois trata-se de calos embriogênicos, cujas células são organizadas e de formato isodiamétricas, caracterizando as condições favoráveis para indução de brotos.

Além disso, o experimento foi submetido a ausência de luz, o que favorece ainda mais as condições para o desenvolvimento de gemas e conseqüentemente formação de brotos, nos respectivos calos dos tratamentos T0;T3;T6 e T10.

## CONCLUSÃO

Os tratamentos T0 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP), T3 (3,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D), T6 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP) e T10 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D) promovem a maior formação de calos e desenvolvimento dos mesmos, com coloração clara e aspecto granular. Deste modo, tais tratamentos são mais viáveis para indução de brotação.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas in vitro. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.30-33, maio 1997.

LLOYD, G; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1981.

MATINEZ, S.S.; LIMA, J. de; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agronomica e fitoquímica de neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedências em vários locais da região sul e sudeste do Brasil. **XVII Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Resumo, p.831, agosto 1998.

NEVES, B.P.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss)** Goiânia: Embrapa, CNPAF; APA, 1996. 32p. (Circular Técnica, 28).

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.12-15, maio 1997.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.35, p.271-297, 1990.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990. 433 p.

FIGUEIREDO, M.A. **Obtenção, Análises Morfológicas e Ultra-Estruturais de Calos de *Passiflora* spp.** 2007. p 44-56. *Dissertação de (mestrado)- Universidade Federal de Lavras*.

## PALAVRAS CHAVE

*Azadirachta indica*, calos, cotilédones, 2,4-D, BAP, cultivo in vitro.

## Efeito de reguladores de crescimento e do carvão ativado na organogênese de variedade botânica de mangabeira da região Nordeste\*.

Ledo, Ana da Silva<sup>1</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>2</sup>; Silva Júnior, Josué Francisco da<sup>1</sup>; Ledo, Carlos Alberto da Silva<sup>3</sup>; Freire, Karla Cristina Santos<sup>4</sup>; Araújo Machado, Caroline<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadores da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: [analedo@cpatc.embrapa.br](mailto:analedo@cpatc.embrapa.br), [josue@cpatc.embrapa.br](mailto:josue@cpatc.embrapa.br);

<sup>2</sup>Pesquisadora do Deagro, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: [sarah@cpatc.embrapa.br](mailto:sarah@cpatc.embrapa.br);

<sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/n, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8060, email: [ledo@cpatc.embrapa.br](mailto:ledo@cpatc.embrapa.br);

<sup>4</sup>Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, email: [karla@cpatc.embrapa.br](mailto:karla@cpatc.embrapa.br);

<sup>5</sup>Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: [carol@cpatc.embrapa.br](mailto:carol@cpatc.embrapa.br)

### INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), nativa de paisagens de tabuleiros costeiros com solos de textura arenosa, baixada litorânea e cerrados do Brasil, constitui-se em uma das mais importantes matérias primas para a indústria de sucos e sorvetes do Nordeste. Essa frutífera está entre as dez espécies selecionadas como de altíssima prioridade pelo programa Plantas do Futuro do CNPq/World Bank/GEF/MMA/Probio, com maior potencial de uso imediato entre as fruteiras nativas da região Nordeste (Ferreira et al., 2005).

Segundo Lemos et al. (2006), plantas elite podem estar se perdendo e a pesquisa científica precisa desenvolver meios para fixar vegetativamente estas, sob o risco de se extinguir um dos mais ricos bancos naturais de germoplasma da espécie. Além disso, a introdução da mangabeira ao cultivo comercial depende, entre outras, da determinação de técnicas adequadas de propagação assexuada. A propagação dessa fruteira no Nordeste tem sido feita principalmente por meio de sementes. Esse tipo de propagação apresenta desvantagens, como longo período de imaturidade das plantas e a variabilidade genética das progênes em desenvolvimento, quantidade e qualidade dos frutos produzidos, além de outros caracteres agrônômicos importantes na produção comercial (Pereira et al., 2006).

A utilização de métodos de propagação *in vitro* apresenta inúmeras vantagens como, por exemplo, a manutenção de características da planta-mãe e o rápido incremento do número de plantas, promovendo a implantação de plantios uniformes. Apesar dos grandes avanços das técnicas de cultura de tecidos, o estabelecimento de protocolos eficientes que estimulem a organogênese e/ou embriogênese em plantas lenhosas é muito limitado, fato que se deve à recalcitrância da maioria dessas espécies. No entanto, alguns trabalhos têm demonstrado o potencial e a viabilidade de regeneração *in vitro* da mangabeira (Pereira Neto, 1991; Aloufa, 2003; Costa et al., 2003; Fonseca et al., 2003; Lemos, 2003; Moreira et al., 2003; Machado et al., 2004, citados por Lemos et al., 2006).

O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito de reguladores de crescimento e do carvão ativado na indução de organogênese de variedade botânica de mangabeira do Nordeste.

### METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Aracaju-Sergipe. Segmentos nodais obtidos a partir de plantas germinadas *in vitro* foram inoculados em frascos de vidro contendo 30 mL de meio

---

\* Apoio Financeiro: Embrapa e CNPq; concessão de bolsa ITI: CNPq

de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 3,0% de sacarose, 0,3% de Phytigel®, ácido indolacético (AIA) e benzilaminopurina (BAP). Foram avaliadas duas concentrações de AIA (0 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) combinadas com duas de BAP (0 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>), na ausência e presença de carvão ativado (0,25%).

O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 e, em seguida, submetido à esterilização em autoclave a 120 °C durante 15 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura variando de 26 °C ± 2, umidade relativa do ar média em torno de 70% e fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria (52 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de irradiância)/oito horas de escuro.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (duas concentrações de AIA combinadas com duas de BAP, na ausência e presença de carvão ativado) com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída de cinco frascos contendo três segmentos nodais cada.

Aos 15 dias de cultura foi observada a percentagem de explantes viáveis e aos 60 dias de cultura foram analisados o número médio de brotações adventícias/explante e número médio de nós/brotação. As médias foram submetidas a análise de variância e para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 15 dias de cultura, 100% dos segmentos nodais estavam viáveis, sem oxidação em todos os tratamentos e apresentavam-se intumescidos e com calo nas extremidades.

Não houve diferenças significativas para o AIA, BAP e interação entre os fatores para o número médio de brotações/explante, apenas para o fator carvão ativado. Na ausência de reguladores de crescimento foi observada a proliferação de brotos adventícios nos segmentos nodais, entretanto a adição isolada ou combinada de AIA e BAP no meio de cultura foi benéfica na emissão de brotações (Tabela 1). Observou-se maior proliferação de brotações adventícias nos explantes estabelecidos *in vitro*, em média 2,83 brotações/explante, na ausência de carvão ativado (Figura 1A). Resultados aproximados (2,2 brotações/explante) foram obtidos por Lemos (2003) em meio MS com 1,0 ou 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP combinados com 1,0 ou 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA.

Tabela 1. Valores médios para número de brotações adventícias/explante de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) cultivados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de AIA e BAP, na presença e ausência de carvão ativado (CA).

AIA (mg L <sup>-1</sup> )	Número de brotações adventícias/explante			
	BAP (mg L <sup>-1</sup> )			
	0,0	1,0	0,0	1,0
0,0	2,02aA	2,26aA	2,02aA	2,28aA
1,0	2,26aA	2,70aA	2,26aA	2,70aA
	Ausência CA		Presença CA	
	2,83a		1,80b	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para o número médio de nós/brotação foram detectadas diferenças significativas para os fatores AIA, CA e entre a interação AIA x BAP e AIA x CA, não havendo significância para os fatores isolados e demais interações.

A combinação de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP promoveu a formação de um maior número de nós nas brotações adventícias (7,60) durante a fase de estabelecimento, indicando o maior crescimento das brotações (Tabela 2), contribuindo para aumento da taxa de multiplicação durante os cultivos subseqüentes (Figura 1B).

A concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA na ausência de carvão ativado promoveu a maior formação de nós nas brotações adventícias (em média, 9,72) (Tabela 3). A presença de carvão ativado pode ter prejudicado a absorção dos reguladores de crescimento pelos explantes influenciando as respostas *in vitro*.

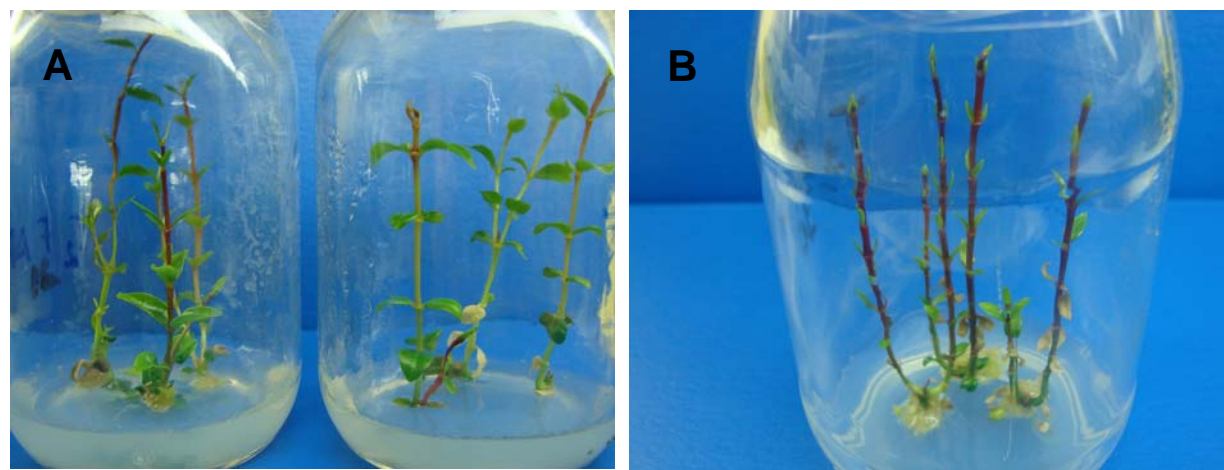


Figura 1. (A) Proliferação de brotações adventícias em meio de cultura MS na ausência de carvão ativado; (B) Formação de nós em brotações regeneradas em meio MS suplementado com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP na ausência de carvão ativado.

Tabela 2. Valores médios para número de nós/brotação de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) cultivados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de AIA e BAP.

AIA (mg L <sup>-1</sup> )	Número de nós/brotação	
	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	
	0,0	1,0
0,0	4,38bA	5,80aB
1,0	4,32bA	7,60aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios para número de nós/brotação de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) cultivados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de AIA na presença e ausência de carvão ativado.

AIA (mg L <sup>-1</sup> )	Número de nós/brotação	
	Carvão Ativado (0,25%)	
	ausência	presença
0,0	6,02aB	2,68bA
1,0	9,72aA	3,68bA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

A combinação de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e a adição isolada de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA promovem a formação de um maior número de nós nas brotações adventícias e o carvão ativado é dispensável na fase inicial de estabelecimento de segmentos nodais de mangabeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, E. G. ; LEMOS, E. E. P. ; SOUZA, F. X. ; LOURENCO, I. P. ; LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F. ; SILVA JUNIOR, J. F. da ; BARROS, L. M. ; RUFINO, M. S. M. ; OLIVEIRA, M. E. B. Frutíferas. In: SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C.; FIGUEIRÔA, J. M. de; SANTOS JUNIOR, A. G. (Org.). **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2005, p. 49-100.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45<sup>a</sup> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. **Anais...UFSCar**, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.

LEMOS, E. E. P. de. Estratégias para a multiplicação clonal da mangabeira em Alagoas. In: Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangaba, 1, 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: EMBRAPA-CPATC/MAPA, 2003. 1 CD-ROOM.

LEMOS, E. E. P. de; COSTA, M. A. P. de C.; ALOUFA, M. A. I.; LEDO, A. da S. et al. Micropropagação. In: SILVA JUNIOR, J. F. da; LEDO, A. da S. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 125-133, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; ARAÚJO, I. A. de; JUNQUEIRA, N. T. V. Propagação por sementes. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. da S. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Brasília: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 92-109.

## PALAVRAS-CHAVE

*Hancornia speciosa* Gomes, Apocynaceae, organogênese, cultivo *in vitro*.



## Meios de cultura e reguladores de crescimento na micropropagação de amoreira-preta.

Ribeiro, Márcia de Nazaré Oliveira<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Vilela, Ximena Maira de Souza<sup>3</sup>; Santos, Jean Carlos de Souza<sup>4</sup>; Silva, Andrieli Leão Pereira da<sup>4</sup>; Souza, Aline das Graças<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mribeiro@ufla.br](mailto:mribeiro@ufla.br); <sup>2</sup>Professor Adjunto do Departamento de Agricultura (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup>Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG; <sup>4</sup>Aluna de graduação em Agronomia, Cesur, Rondonópolis, MT, e-mail: [andrielileao@hotmail.com](mailto:andrielileao@hotmail.com); <sup>5</sup>Bióloga, UNILAVRAS, Lavras, MG.

### INTRODUÇÃO

Um dos fatores importantes para o sucesso do sistema de micropropagação é a conjugação de fatores nutritivos, ambientais e endógenos. No caso específico dos fatores ambientais, procura-se estudar os componentes do meio de cultura, como sais minerais, vitaminas, reguladores de crescimento, entre outros. Neste caso, diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas na micropropagação de frutíferas. Embora não exista uma formulação padrão, o meio MS, suas modificações e diluições tem apresentado resultados satisfatórios para diversas espécies (George & Sherrington, 1984).

Entretanto, com espécies lenhosas, o meio MS não se mostrou satisfatório em alguns casos, observando-se que composições mais diluídas em macronutrientes tiveram melhor desempenho. Outras formulações como, por exemplo, o meio NN e Knudson, têm sido descritas e utilizadas como alternativas ao MS.

O crescimento e morfogênese *in vitro* são fatores regulados pela interação e balanço dos fitoreguladores existentes no meio de cultura, principalmente auxinas e citocininas (George & Sherrington, 1984). As citocininas são utilizadas para quebrar a dominância apical dos brotos e aumentar a taxa de multiplicação. Deste modo, ocorre grande número de brotações por meio do crescimento de meristemas laterais (Hu & Wang, 1983).

As auxinas, apesar de não promoverem a proliferação de brotações axilares, podem incrementar o crescimento da cultura (Hu & Wang, 1983). Uma das possíveis ações da auxina no meio seria a anulação do efeito supressivo das altas concentrações de citocinina sobre a alongação das brotações axilares, restaurando o crescimento normal das mesmas. Dentre os reguladores de crescimento comumente usadas no cultivo *in vitro* da amoreira-preta estão a 6-benzilaminopurina (BAP) e o ácido indolbutírico (AIB) (Donnelly et al., 1980).

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito das concentrações de ácido indolbutírico (AIB) e 6-benzilaminopurina (BAP) sob diversos meios de cultura na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cultivares Tupy e Brazos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de amoreira-preta (*Rubus* sp.), cultivares Tupy e Brazos, com cerca de 2 cm, foram excisados de propágulos pré estabelecidos *in vitro*. Os explantes foram inoculados em tubo de ensaio contendo 15 mL de diversos meios de cultivo. O primeiro experimento constou da cv. 'Brazos' inoculada em 3 diferentes meios: 1) MS (Murashige & Skoog, 1962), 2) Knudson (1946) e 3) Roubelakis (Roubelakis-Angelakis & Zivanovitch, 1991), combinados com cinco concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L<sup>-1</sup>). O segundo experimento constou da cv. 'Tupy' inoculada em 4 meios de cultivo: 1) MS (Murashige & Skoog, 1962), 2) Knudson (1946), 3) Roubelakis (Roubelakis-Angelakis & Zivanovitch, 1991) e 4) NN (Nitsch & Nitsch, 1969), combinados com cinco concentrações de AIB (0; 0,125; 0,25; 0,5 e 1,0 mg.L<sup>-1</sup>). O pH dos meios foram ajustados para 5,8 antes da autoclavagem e solidificados com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar.

Posteriormente foram transferidos para sala de crescimento a 27±1°C, irradiância de 35 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> fornecida por tubos fluorescentes de 20W e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 70 dias. O delineamento experimental foi inteiramente



casualizado com 4 repetições constituídas e 12 plantas por tratamento. As variáveis analisadas foram número de folhas e de raízes, comprimento da parte aérea e das raízes, peso da matéria fresca da parte aérea, número de brotos (cv. 'Brazos') e peso fresco de calos (cv. 'Brazos'). Os resultados foram submetidos à análise de variância por meio do software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo utilizado regressão polinomial para concentrações de BAP e AIB e teste de Scott-Knott para os tipos de meios de cultivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Verificou-se interação significativa para as variáveis analisadas em todas as concentrações de AIB e meios de cultura empregados no estudo com a cv. 'Tupy'. Para a cv. 'Brazos', interação significativa deu-se somente para número de folhas, de raízes, peso fresco de calos, comprimento da parte aérea e das raízes. Nas Tabelas 1, 2, 3 e 4, observam-se os dados obtidos na avaliação feita 70 dias após a inoculação, relacionando-se o comprimento da parte aérea e das raízes de amoreira-preta cvs. Tupy e Brazos com os respectivos meios de cultura e concentrações dos fitormônios. Para número de folhas de 'Tupy' o meio de cultivo que se destacou foi o Knudson, com a adição de baixas concentrações do regulador (0,125 - 0,5 mg.L<sup>-1</sup>), seguido do MS. O melhor meio para se obter maior número de folhas dessa cultivar com concentrações de 0,5 a 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB foi o meio de cultivo MS. Para a cv. 'Brazos', maior número de folhas foi verificado em meio MS e Knudson adicionado de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP.

Na ausência da auxina os meios não de cultivo não diferiram estatisticamente para a cv. 'Tupy'; porém os que tiveram resultados levemente superiores foram o MS, Knudson e Roubelakis. Possivelmente, a concentração de nutrientes dos meios sem a adição do regulador não interfere no aumento do número de folhas de amoreira-preta.

Maior comprimento da parte aérea da cv. 'Tupy' foi verificado em meio NN adicionado ou não de AIB (Tabela 1), sugerindo que a concentração desse meio em relação aos outros testados é ideal para o crescimento e desenvolvimento da parte aérea dessa cultivar. Na ausência da citocinina a altura dos propágulos de 'Brazos' mostrou-se superior quando inoculadas em Knudson. O efeito da composição dos meios sobre o desenvolvimento de frutíferas já foi constatado por diversos autores (Nali et al., 2005).

TABELA 1. Comprimento da parte aérea de amoreira-preta cv. Tupy cultivada em diferentes meios de cultura, adicionados de concentrações de AIB. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Meios de cultura	AIB (mg.L <sup>-1</sup> )				
	0	0,125	0,25	0,5	1,0
MS	1,34 b	1,47 b	1,38 b	1,47 b	1,72 a
Knudson	1,31 b	1,05 c	1,16 c	1,36 b	1,49 b
Roubelakis	1,07 c	1,20 c	1,45 b	1,61 b	1,56 b
NN	1,89 a	1,84 a	1,72 a	1,90 a	1,90 a

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Os resultados aqui apresentados para as duas cultivares corroboram Erig et al. (2002), que afirmaram que, nas concentrações de 0 e 1µM de AIB, o aumento nos níveis de BAP resultou na diminuição do comprimento médio das brotações *in vitro* da cv. 'Tupy'. Elevados níveis de citocinina no meio de cultura podem ser tóxicos à cultura, caracterizada pelo demasiado enroscamento e falta de alongamento das culturas (Leshem et al., 1988).

Foi observada a formação do sistema radicular de plantas em todos os meios empregados, porém melhores resultados de 'Tupy', na ausência de AIB deu-se nos meios Knudson, NN e MS. Resultados semelhantes foram observados com a adição de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> do regulador. Com outras concentrações do fitohormônio, o meio de cultivo que se destacou foi o MS. Mesmo na ausência de AIB observou-se que os meios de cultura tiveram papel importante no crescimento do sistema radicular, sendo que os meios MS, Knudson e NN não diferem estatisticamente (Tabela 2). Maior comprimento de raízes de 'Brazos' foi verificado em meio Roubelakis adicionado de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP.

TABELA 2. Comprimento de raízes de amoreira-preta cv. Tupy cultivada em diferentes meios de cultura, adicionados de concentrações de AIB. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Meios de cultura	AIB (mg.L <sup>-1</sup> )				
	0	0,125	0,25	0,5	1,0
MS	1,28 a	0,86 b	1,51 a	1,47 a	1,33 a
Knudson	1,61a	1,49 a	0,78 b	1,28 a	1,31 a
Roubelakis	0,86 b	1,33 a	0,86 b	0,84 b	0,78 b
NN	1,27 a	1,18 a	1,36 a	1,43 a	1,43 a

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

TABELA 3. Comprimento da parte aérea de amoreira-preta cv. Brazos cultivada em diferentes meios de cultura, adicionados de concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Meios de cultura	BAP (mg.L <sup>-1</sup> )				
	0	0,5	1,0	2,0	4,0
MS	---	---	---	4,37 a	3,93 a
Knudson	---	---	---	4,63 a	2,48 b
Roubelakis	---	---	---	3,69 b	3,39 a

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

TABELA 4. Comprimento de raízes de amoreira-preta cv. Brazos cultivada em diferentes meios de cultura, adicionados de concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Meios de cultura	BAP (mg.L <sup>-1</sup> )				
	0	0,5	1,0	2,0	4,0
MS	---	1,60 a	1,62 a	1,58 a	1,57 a
Knudson	---	0,92 b	0,71 b	0,97 b	0,84 b
Roubelakis	---	1,80 a	1,78 a	1,65 a	1,45 a

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Pasqual et al. (1995) obtiveram melhor enraizamento adicionando 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ácido indolbutírico ao meio MS, promovendo a formação de mudas bem desenvolvidas. Kiss & Zakyto (1978) também obtiveram maior enraizamento de brotações de um híbrido entre amoreira-preta e framboeseira, utilizando 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Isto, provavelmente, se deve ao fato de se utilizarem diferentes genótipos, os quais respondem melhor à adição de auxina ao meio de cultivo. Provavelmente, a cultivar Tupy apresenta quantidade de auxina endógena suficiente para estimular o enraizamento, não respondendo, portanto, à adição de auxina exógena (Salisbury, 1991).

Diversas espécies enraízam com níveis muito reduzidos de auxina ou em meio básico sem substâncias de crescimento (Anderson, 1984). Nesse caso, as partes aéreas em rápido crescimento são fontes de intensa produção de auxina, a qual é translocada para a base, estimulando a rizogênese (Grattapaglia et al, 1987).

Para o peso fresco da parte aérea, os meios utilizados na micropropagação de amoreira-preta não diferiram entre si estatisticamente com a adição de 0,125 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Na ausência desse regulador, os meios que se destacaram foram o NN, MS e Knudson. Com a adição de 0,25 e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, melhores resultados para essa variável foram obtidos em meios MS, NN e Roubelakis. Piores resultados para essa variável foram obtidos em meio Knudson com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Esse meio, por ser mais diluído que os meios empregados na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta, fornece menor quantidade de nutrientes ao desenvolvimento dos explantes, mesmo com a adição do fitoregulador.

## CONCLUSÕES

As cultivares de amoreira-preta apresentam diferentes potências de multiplicação.

Maior número de brotos da cv. 'Brazos' deu-se em meio MS. Comprimento e número de raízes dessa cultivar foram estimulados em meio Roubelakis e MS adicionados de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Menor formação de calos na base dos explantes de 'Brazos' deu-se em meio Knudson com 4,0 mg.L<sup>-1</sup> do fitoregulador.

Maior comprimento da parte aérea e número de raízes da cv. 'Tupy' foram obtidos nos meios NN e MS, com a adição de 0,5-1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Para o sistema radicular, os meios que se destacaram foram o Knudson, MS e NN, sem a auxina. Com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB adicionado em meio Roubelakis obteve-se maior peso fresco da parte aérea.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, W. C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.109, p.343-347, 1984.

ERIG, A.C.; DE ROSSI, A.; FORTES, G.R.L. 6-benzilaminopurina e ácido indolbutírico na multiplicação *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus idaeus* L.) cv. Tupy. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.5, p.765-770, 2002.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p.255-258.

GEORGE, E.F., SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

GRATTAPAGLIA, D.; ASSIS, T.F.; CALDAS, L.S. Efeito residual de BAP e NAA na multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 2., 1987, Brasília, DF. **Resumos ...** Brasília, 1987. p.10.

KISS, F.; ZAKYTO, J. Vegetative propagation of *Rubus* species *in vitro*. **Botanikal Koslemenyek**, Budapest, v.65, p. 65-69, 1978.

LESHEN, B., WERKER, E., SHALEV, D. P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, p.271-276, 1988.

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

NALI, L.R.; ALMEIDA, W.A.B.; MELO, N.F. Propagação *in vitro* de videiras. **Magistra**, Cruz das Almas, v.17, n.2, p.96-100, 2005.

NITSCH, J.P.; NITSCH, C. Haploids plants from pollen grains. **Science**, Washington, v.163, p.85-87, 1969.

PASQUAL, M.; RAMOS, J.D.; CHALFUM, N.N.J.; ANTUNES, L.E.C.; CARVALHO, G.R. Effects of temperature and sacarose on *in vitro* multiplication of sprouts of temperature climate fruit trees. In: ENCUENTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 2., 1995, Puerto Iguazu, Argentina.

ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A.; ZIVANOVITC, S.B. A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.12, p.1551-1553, 1991.

SALISBURY, F. B.; ROOS, C.W. **Plant Physiology**. California: Wadsworth,. 1991. cap.17, p.357-378.

PALAVRAS-CHAVE: *Rubus* sp., BAP, AIB.

# Indução da embriogênese somática em dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq) a partir de estruturas foliares e potencial de indução utilizando discos apicais de plantas jovens<sup>1</sup>

Scherwinski-Pereira, Jonny Everson<sup>1,2</sup>; Maciel, Simone de Alencar<sup>3</sup>; Silva, Tatiane Loureiro<sup>3</sup>; Guedes, Rodrigo<sup>1,4</sup>; Fermino Jr., Paulo Cesar Poeta<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Programa Biotecnologia do Dendê – Apoio financeiro: CNPq

<sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL - C. Postal 321, 69908-970 Rio Branco – AC. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq. E-mail: [jonny@cpafac.embrapa.br](mailto:jonny@cpafac.embrapa.br); <sup>3</sup>Bolsistas PIBIC/CNPq/Embrapa Acre; <sup>4</sup>Mestrando em Produção Vegetal - UFAC; <sup>5</sup>Professor do Depto. Ciências Agrárias UFAC, Rio Branco-AC.

## INTRODUÇÃO

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*), pertencente à família Arecaceae, é originário do continente Africano. Desenvolve-se em regiões de clima tropical, em vários tipos de solo e ricos em matéria orgânica (Carvalho et al., 2001).

As sementes estacam-se pela produção de óleo, o qual tem uso alimentício, medicinal, oleoquímico e industrial. O dendê é a oleaginosa mais produtiva do mundo, chegando a atingir 5 mil kg de óleo/ha. O programa brasileiro de biocombustíveis busca viabilizar a utilização do biodiesel, constituído das misturas de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, obtidos da reação química de transesterificação de diversos óleos, entre eles os do dendê (Miragaya 2005).

A propagação do dendezeiro ocorre através de sementes e, mesmo quando se utilizam híbridos selecionados, as plantas podem apresentar alta variabilidade, constituindo-se num dos principais fatores da baixa produtividade em plantios comerciais (Juan & Rodrigues, 1989).

Devido à dificuldade de usar a propagação via sementes, a cultura de tecidos surge como uma excelente alternativa para a multiplicação clonal de espécies selecionadas (Scherwinski-Pereira et al., 2006). A cultura de tecidos de plantas, em especial a embriogênese somática, se constitui como uma técnica eficaz para a multiplicação clonal de plantas lenhosas. Segundo Ammirato (1983), a embriogênese somática é um processo análogo à embriogênese zigótica em que, uma única célula ou um grupo de células somáticas são precursoras de embriões somáticos. A embriogênese somática pode ser implementada a partir de explantes de diversas origens, como: embriões zigóticos, inflorescência, ápices caulinares e folhas imaturas (Guerra et al., 1999). Alguns padrões morfogenéticos típicos ocorrem em tecidos vegetais cultivados *in vitro* tais como a formação de calos, isto é, uma massa de células de proliferação contínua e mais ou menos desordenada (George, 1993).

Este trabalho teve como objetivo a indução da embriogênese somática a partir de diferentes estruturas foliares de *Elaeis guineensis* em meio de cultura contendo diferentes tipos de auxinas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL - da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

### *Experimento 1: Indução da embriogênese somática a partir de folhas imaturas de plantas de dendezeiro.*

Como fonte de explante, foram utilizadas folhas imaturas de plantas com até 3 meses de idade de três genótipos de dendezeiro. As plantas foram submetidas à lavagem com água corrente e assepsia, retirando-se as folhas externas e raízes. Em seguida, folhas próximas ao ápice caulinar foram seccionadas em porções de 2 a 3 cm e desinfestadas com álcool 70% por

30 segundos e em hipoclorito de sódio 1% por 20 minutos. Finalmente, o material foi submetido à tríplex lavagem em água esterilizada.

O meio de cultura utilizado para o pré-tratamento dos explantes foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 30,0 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 2,5 g.L<sup>-1</sup> de Phytigel e suplementado com 225 µM de Picloran e 2,4-D. Para este experimento utilizou-se frascos de 250 mL com 30 mL de meio de cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo cada parcela formada por 6 explantes.

Após o primeiro procedimento, os calos passaram a ser cultivados em meio constituído pelos sais e vitaminas de MS, suplementados com 0,537 µM de ANA (Ácido Naftaleno Acético) e 12,30 µM de 2iP (2-isopenteniladenina). Após quatro meses de cultivo avaliaram-se os explantes quanto à presença de calos granulares e multi-granulares. Posteriormente, os calos foram transferidos para meio de multiplicação de calos, consistindo de meio MS, acrescido de altas concentrações de Picloran e 2,4-D (112,50; 225 e 450 µM). Para a montagem dos experimentos foram utilizados tubos (25x150 mm) contendo 10 mL de meio de cultura. Após três meses foram avaliados os calos embriogênicos quanto à massa fresca.

#### *Experimento 2: Avaliação do potencial de indução de calos embriogênicos em dendezeiro a partir de discos apicais caulinares de plantas jovens.*

Plantas jovens de dendezeiro de até três meses foram coletadas em condições de campo e em laboratório tiveram suas folhas mais externas e raízes removidas para obtenção de materiais com tecidos subapicais, meristema apical, primórdios e bainhas foliares. Em laboratório o material passou por um processo de desinfestação. Para a obtenção dos explantes propriamente dito foram realizados secções transversais de aproximadamente 1 mm de espessura contendo diferentes camadas histológicas. As secções foram feitas de maneira que, algumas camadas fossem compostas apenas por bainhas foliares, por tecidos subapicais e meristema apical, classificados como basal, mediano e apical.

O meio utilizado foi composto pelos sais de MS acrescido de 30,0 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg.L<sup>-1</sup> de inositol, 500 mg.L<sup>-1</sup> de L-glutamina e 300 mg.L<sup>-1</sup> de carvão ativado. Foram adicionados os reguladores Picloran e 2,4-D, nas concentrações de 0, 225 e 450 µM. Os discos transversais do ápice caulinar foram inoculados em frascos contendo 30 mL de meio.

A avaliação foi feita 90 dias após a inoculação, observando a presença de calos embriogênicos, de explantes vivos, de oxidação e de contaminação por microorganismos. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com 18 tratamentos e 5 repetições por tratamento, sendo cada parcela composta com 6 explantes por frasco.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### *Experimento 1: Indução da embriogênese somática a partir de folhas imaturas de plantas de dendezeiro.*

Verificou-se que o Picloran proporcionou melhores resultados, quando se refere à formação de número de embriões somáticos por explante (Figura 1 A e B). A influência de auxinas sob os explantes mostrou ser fundamental para a indução e conseqüentemente, a formação dos embriões somáticos. Nesse sentido, as auxinas (2,4-D, Picloran e Dicamba) são frequentemente utilizadas na indução da embriogênese somática em plantas (Guerra et al., 1999).

De modo geral, explantes oriundos de meios cultivados com Picloran foram melhores na multiplicação dos calos, principalmente na formação de calos multi-granulares, formados em até 19% dos explantes, enquanto que em cultivo com 2,4-D registrou-se apenas 11% dos explantes (Figura 1 D, E e F). Estes resultados estão de acordo com Pereira et al. (2006) que também verificaram resultados superiores quando o Picloran foi utilizado. Foram descritos como calos granulares os explantes que apresentaram uma única estrutura, ou seja, unidade/calco; e como calos multi-granulares àqueles com capacidade de formação de múltiplas estruturas/calco.

Com relação à massa fresca, constatou-se que o Picloram mostrou ter mais eficiência, com o aumento da massa fresca dos calos, enquanto que em cultivo com a auxina 2,4-D foi inferior. Observou-se que o aumento da massa fresca dos calos está diretamente proporcional ao aumento das concentrações de auxinas no meio de cultura. Estudos realizados utilizando Picloram na concentração de  $0,06 \text{ mg.L}^{-1}$  em explantes da parte aérea de pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K), promoveu a formação de calos, após três meses no escuro. Após esse estágio, um novo meio com  $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$  de Picloram promoveu aumento na massa fresca e desenvolvimento dos calos, após 6 meses (Valverde, 1987).

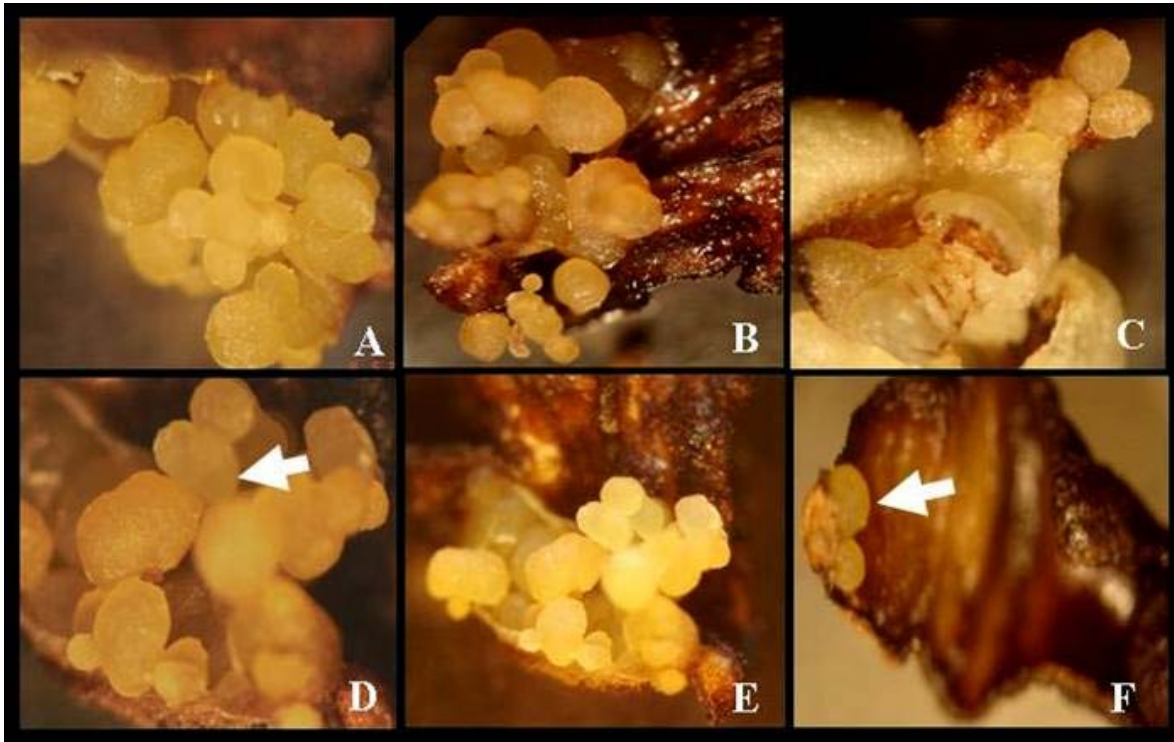


Figura 1. Indução da embriogênese somática a partir de folhas imaturas de dendezeiro. (A) e (B) embriões somáticos obtidos do genótipo GES4 e GES6, sendo cultivados em meio MS com  $225 \mu\text{M}$  de Picloram; (C) explantes com embriões somáticos cultivados com 2,4-D; (D) e (E) calos multi-granulares obtidos com Picloram; (F) calos granulares obtidos com 2,4-D.

*Experimento 2: Avaliação do potencial de indução de calos embriogênicos em dendezeiro a partir de discos apicais caulinares de plantas jovens.*

A formação de calos foi significativamente maior nos tratamentos que continham Picloram, com 8% e 27% de calos formados, nas concentrações de  $225 \mu\text{M}$  e  $450 \mu\text{M}$ , respectivamente (Figura 2 A-E). A região basal, em relação às regiões medianas e apicais, teve um melhor resultado quanto à reposta calogênica. Steinmacher (2005), trabalhando com embriogênese somática em pupunha, a partir de discos foliares, obteve calos embriogênicos com o uso do Picloram e suas concentrações testadas. O uso de 2,4-D na concentração de  $225 \mu\text{M}$  também apresentou formação de calo (Figura 2 F), indicando que nessa concentração essa auxina induz a diferenciação de tecidos apicais do caule.

A formação de embriões a partir de células somáticas é uma característica que promove uma eficiente forma de regeneração de plantas *in vitro* (Steinmacher, 2005). Para Guerra et al. (1999), a embriogênese somática apresenta vantagens sobre as demais técnicas de micropropagação, como a capacidade de produzir grande número de embriões num espaço limitado.



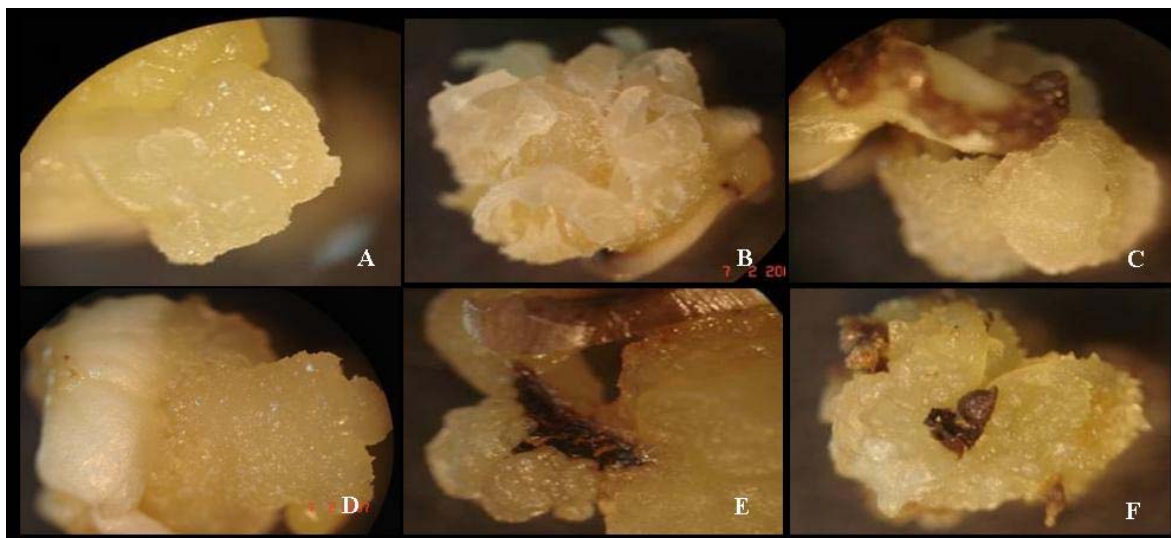


Figura 2. Aspectos morfológicos de calos potencialmente embriogênicos formados a partir de segmentos apicais caulinares de plântulas de dendezeiro. A, B, C e D: Estruturas formadas em meio contendo 450 µM de Picloram. E: Estruturas formadas em meio contendo 225 µM de Picloram. F: Estruturas formadas em meio contendo 225 µM de 2,4-D.

## CONCLUSÕES

As estruturas foliares e porções apicais do caule são explantes competentes para indução da embriogênese somática em dendezeiro. O Picloram em altas concentrações demonstra ser uma auxina eficaz para a embriogênese somática em dendezeiro. Os diferentes genótipos de dendezeiro influenciam os processos embriogênicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMMIRATO, P.V. **Embryogenesis**. *In Handbook of plant cell culture* (D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato & Y. Yamada, eds.). Macmillan Publisher Co., New York, p.82-123. 1983.
- CARVALHO, A. R. V.; REIS, V. M. ; BALDANI, V. L. D. O dendê (*Elaeis guineensis* Jacq). **Rio de Janeiro: Embrapa agrobiologia. 25 p. 2001.**
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Exegetics, Edington. V.1, 555p. 1993.
- GUERRA, M.P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. **Embriogênese somática e sementes sintéticas**. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds), **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. V.2, Brasília: SPI/Embrapa, 1999, p.533-568.
- JUAN, A., RODRIGUES A. **Produção de embriões em dendê a partir da cultura de embriões imaturos**. Rev. Bras. Fisiol. Vegetal, 1(1):119-120, 1989.
- MIRAGAYA, J. C. G. **Biodiesel: tendências no mundo e no Brasil**. Informe agropecuário. Minas Gerais, V. 26, n. 229, 2005.
- PEREIRA, J.E.S.; COSTA, F.H.S.; MACIEL, S.A. Indução da embriogênese somática em genótipos de dendezeiro (*Elaeis guineensis*) a partir de explantes foliares. In: 3º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2006, Varginha. **Anais**. Lavras: UFLA, 2006. v.1. p.1-5.
- STEINMACHER, D. A. **Germinação *in vitro*, criopreservação e embriogênese somática em pupunha**. Florianópolis. 124 p. 2005
- VALVERDE, R.; ARIAS, O.; THORPE, T. A. Picloram induced somatic embryogenesis in pejiibaye palm (*Bactris gasipaes* H.B.K) **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 10: 149-156 (1987).
- PALAVRAS-CHAVES: *Elaeis guineensis*; embriogênese somática; auxinas; micropropagação.

## Parâmetros para a produção e conversão de sementes sintéticas de orquídeas e avaliação de utilização na conservação *in vitro*.<sup>1</sup>

Scherwinski-Pereira, Jonny Everson<sup>2</sup>; Oliveira, Janiffe Peres de<sup>3</sup>; Guedes, Rodrigo da Silva<sup>4</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>5</sup>; Fermino Jr., Paulo Cesar Poeta<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

<sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL - Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco, AC. E-mail: [jonny@cpafac.embrapa.br](mailto:jonny@cpafac.embrapa.br). Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; <sup>3,4</sup> Mestrando em Produção Vegetal da Universidade Federal do Acre - UFAC, Rio Branco, AC. <sup>5</sup> Doutorando em Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras, CEP 37200-000, Lavras, MG. <sup>6</sup>Professor Assistente do Departamento de Ciências Agrárias da UFAC.

### INTRODUÇÃO

A aplicação de técnicas de cultura de tecidos vegetais para a propagação de orquídeas têm sido considerada de grande importância para a expansão comercial destas plantas, o que se deve, entre outros fatores, a obtenção de clones com alto padrão genético e fitossanitário, bem como pela alta taxa de germinação das sementes *in vitro*. Adicionalmente, possibilita que espécies raras e em extinção sejam resgatadas, reintroduzidas em seu habitat e conservadas em bancos de germoplasma *in vitro* (Martin, 2003).

Nesse contexto, destaca-se a tecnologia de sementes sintéticas, uma ferramenta biotecnológica que tem ganhado destaque nos últimos tempos em razão da facilidade de produção e manipulação de propágulos, abrindo perspectivas promissoras em áreas como a de intercâmbio de germoplasma (Datta et al., 1999; Divakaran et al., 2006), conservação de germoplasma vegetal *in vitro* (Datta et al., 1999; Martin, 2003) e produção massal de propágulos (Danso & Ford-Lloyd, 2003; Martin, 2003).

Diante do exposto e devido aos poucos estudos a respeito de aspectos básicos da produção de sementes artificiais e seu emprego na conservação de germoplasma *in vitro* em espécies de orquídeas, objetivou-se otimizar parâmetros para a produção e conversão de sementes sintéticas de orquídeas e avaliar a utilização desta técnica na conservação *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Como unidades de encapsulamento foram utilizadas microplantas de orquídea *Cattleya* sp (com cerca de 0,3 mm) (Figura 1A), obtidas por meio da germinação assimbiótica *in vitro* de sementes. Inicialmente, os propágulos foram misturados à matriz de alginato de sódio e com o auxílio de uma pipeta automática e ponteira autoclavada (ajustada para 350 µL), foram individualmente resgatadas e gotejadas em solução de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (Cloreto de sódio) (50mM) para a solidificação da cápsula (complexação), permanecendo sob esta condição por períodos determinados de acordo com os experimentos. Seguindo a etapa de complexação, as cápsulas foram submetidas a tríplice lavagem em água destilada e esterilizada, sendo imediatamente imersas em solução de KNO<sub>3</sub> (Nitrato de potássio) (100mM) por 20 minutos para a descomplexação. Posteriormente, realizou-se nova tríplice lavagem das cápsulas e logo após sua transferência para frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio de MS (Murashige & Skoog, 1962) para a germinação (Figura 1C-D).

Num primeiro experimento, a influência da constituição (água ou sais e vitaminas de MS), associado à consistência da cápsula (alginato de sódio Synth<sup>®</sup> a 1% ou 2%) foram estudados. O tempo de complexação utilizado foi de 15 minutos. Após quinze, trinta e sessenta dias da transferência *in vitro*, o percentual de germinação foi avaliado. No segundo experimento, estudou-se a constituição (água ou MS pleno) e consistência da cápsula (alginato de sódio Synth<sup>®</sup> a 1% ou 2%), associados ao tempo de complexação (10, 20 e 30

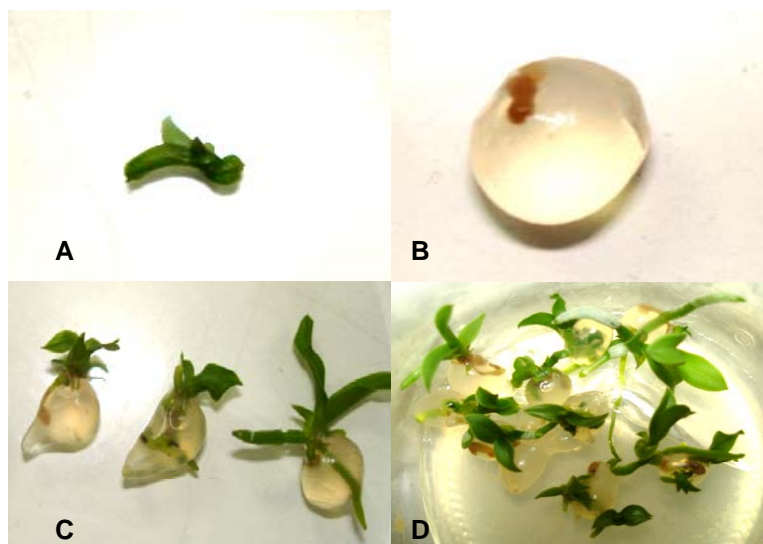
---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



minutos), sendo a percentagem de germinação avaliada aos sessenta dias de cultivo. Posteriormente, um terceiro experimento foi realizado visando avaliar a conservação *in vitro* das microplantas de orquídeas encapsuladas. Para isso, diferentes tempos de conservação (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias) e dois gêneros de orquídeas (*Cattleya* sp e *Epidendro* sp.) foram avaliados. A matriz de encapsulamento foi constituída de alginato de sódio a 2% e meio MS pleno, com tempo de complexação e descomplexação de 20 minutos em solução de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (50mM) e  $\text{KNO}_3$  (100mM). O armazenamento foi em frascos de 250 mL desprovido de meio de cultura mantidos em câmara tipo BOD a 8°C sob condições de escuro. Um grupo de microplantas encapsuladas foi mantido sob condições de sala de crescimento sobre meio semi-sólido de MS. Decorrido cada período de armazenamento, as cápsulas foram submetidas ao processo de descomplexação, transferidas para meio de cultura semi-sólido de MS e mantidas em sala de crescimento, efetuando-se a avaliação de germinação a cada 15 dias por até 150 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada tratamento formado por cinco repetições com 10 unidades encapsuladas por parcela. Os dados obtidos foram analisados com o emprego do programa estatístico SANEST (Zonta & Machado, 1984) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados expressos em percentagem (x) foram transformados segundo arco seno  $(x/100)^{0,5}$



**Figura 1.** A - Aspecto das microplantas de orquídea selecionadas para encapsulamento; B – Aspecto da cápsula de alginato de sódio com microplanta morta; C – Microplantas de orquídea encapsuladas em fase de germinação (detalhe do rompimento da cápsula); D – Aspecto geral das microplantas encapsuladas e inoculadas em fracos contendo meio MS.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimento 1

Em ambas as concentrações de alginato avaliadas (1% e 2%), diferenças significativas entre a constituição da cápsula foram observadas apenas aos 30 dias de avaliação, obtendo-se maior taxa de germinação pela adição de água e meio MS à matriz de encapsulamento, respectivamente. Já em relação ao fator época de avaliação, melhores resultados foram obtidos aos 60 dias de cultura, independentemente da constituição e consistência da cápsula (Tabela 1).

Alto percentual de germinação *in vitro* (80%) de sementes sintéticas foi verificado por Datta et al. (1999) ao encapsular protocormos de *Geodorum densiflorum* em matriz provida de meio Knudson (KC) adicionada de 4% de alginato de sódio e cultivadas em meio sólido, acrescido de peptona, água de coco,  $\text{N}^6$ -benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA).

Diferentes respostas dos propágulos encapsulados, em relação às taxas de germinação, têm sido verificadas com o uso da tecnologia de sementes sintéticas, devido especialmente aos diferentes tipos de propágulos empregados no encapsulamento, tipos comerciais de alginato de sódio e substratos para germinação e regeneração das sementes sintéticas.

**Tabela 1.** Efeito da constituição da cápsula e concentração de alginato de sódio no percentual de emergência *in vitro* de microplantas encapsuladas de orquídea aos 15, 30 e 60 dias da semeadura em meio MS sólido.

<u>Época de avaliação (Dias)</u>	<u>Alginato 1%</u>		<u>Alginato 2%</u>	
	----- <u>Constituição</u> -----			
	<u>H<sub>2</sub>O</u>	<u>MS</u>	<u>H<sub>2</sub>O</u>	<u>MS</u>
15	8,3 bA	3,5 cA	5,0 cA	3,7 cA
30	41,3 aA	23,7 bB	23,8 bB	31,3 bA
60	55,1 aA	42,7 aA	58,5 aA	69,4 aA

Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

### Experimento 2

A adição de meio MS a matriz de encapsulamento quando associado à concentração de 2% de alginato, aos 60 dias da semeadura, proporcionou melhores percentuais de germinação que à utilização de água, independentemente do tempo de complexação. Quanto à consistência da cápsula, o emprego de alginato de sódio a 2% promoveu resultados significativamente superiores à concentração de 1% (Tabela 2). Este resultado está em concordância com Ipekci & Gozukumizi (2003), o qual afirmam que o uso de baixas concentrações de alginato de sódio não promove boa uniformidade e firmeza das cápsulas, resultando em baixa frequência de germinação.

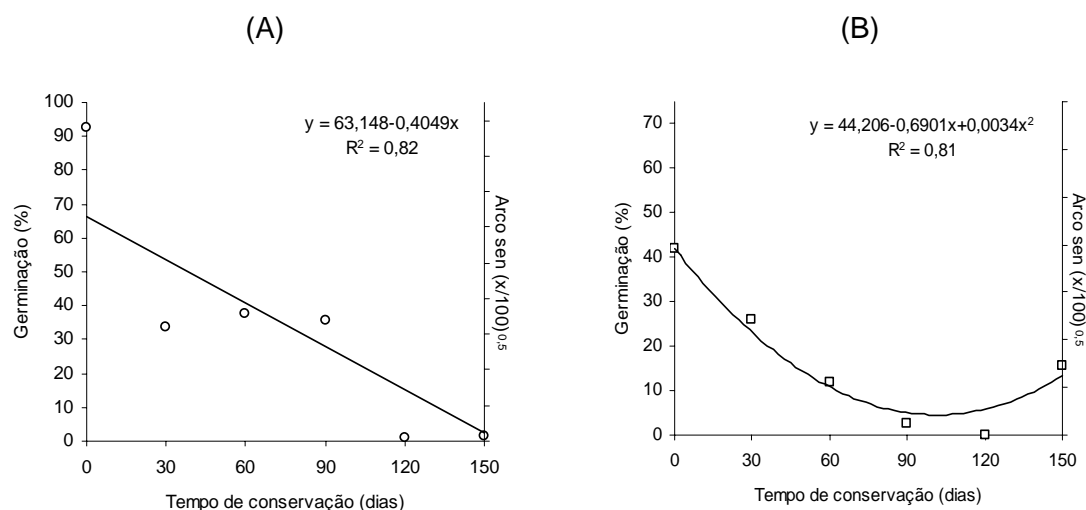
**Tabela 2.** Efeito da constituição da cápsula, concentração de alginato e tempo de complexação sobre a percentagem de emergência de orquídeas oriundas do encapsulamento de microplantas aos 60 dias da semeadura em meio MS sólido.

<u>Tempo de complexação (min)</u>	<u>Alginato 1%</u>		<u>Alginato 2%</u>	
	----- <u>Constituição</u> -----			
	<u>H<sub>2</sub>O</u>	<u>MS</u>	<u>H<sub>2</sub>O</u>	<u>MS</u>
10	60,10	44,59	57,52	62,66
20	44,86	47,48	58,00	71,43
30	60,10	36,07	60,10	73,77
Média (Constituição)	55,06	42,67	58,54	69,38
Média (Alginato)	48,86 B		63,96 A	

Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

### Experimento 3

A conservação *in vitro* das microplantas encapsuladas a 8°C demonstrou haver uma tendência de redução na percentagem de germinação com o aumento do período de armazenamento, independente do gênero estudado. De modo geral, foi observado que no gênero *Cattleya* sp. houve uma germinação média entre 34% e 38% até os 90 dias de armazenamento, após o qual nenhuma germinação foi verificada. Já as microplantas encapsuladas não armazenadas tiveram cerca de 92% de germinação (Figura 2A). Por outro lado, uma acentuada redução na germinação foi observada para o gênero *Epidendro* sp., sendo a máxima germinação (26%) obtida aos 30 dias de armazenamento (Figura 2B). Resultados semelhantes e também promissores pelo uso da técnica de sementes sintéticas para a conservação *in vitro* de orquídeas foram obtidos por Sharma et al. (1992), Chetia et al. (1998), Datta et al. (1999) e Divakaran et al. (2006).



**Figura 2.** Percentagem de germinação de sementes sintéticas de orquídeas em razão do tempo de conservação *in vitro* (dias) à temperatura de 8°C: (A) *Cattleya* sp. e (B) *Epidendro* sp.

## CONCLUSÕES

O emprego de uma matriz de encapsulamento contendo meio de MS associado a 2% de alginato de sódio possibilita a obtenção de sementes sintéticas de *Cattleya* sp com satisfatórias taxas de germinação *in vitro*. A técnica de encapsulamento apresenta potencial para utilização na conservação *in vitro* de orquídeas. Melhorias no processo de conservação *in vitro* ainda são necessárias para a obtenção de elevadas taxas de germinação associada a um maior período de armazenamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHETIA, S.; DEKA, P.C.; DEVI, J. Germination of fresh and stored encapsulated protocorms of orchids. **Indian Journal of experimental Biology**, v.36, p.108-111, 1998.
- DANSO, K.E. & FORD-LLOYD, B.V. Encapsulation of nodal cuttings and shoot tips for storage and exchange of cassava germplasm. **Plant Cell Reports**, v.21, p.718-725, 2003.
- DATTA, K.B.; KANJILAL, B.; DE SARKER, D. Artificial seed technology: development of a protocol in *Geodorum densiflorum* (Lam) Schltr. – an endangered orchid. **Current Science**, v.76, p.1142-1145, 1999.
- DIVAKARAN, M.; BABU, K.N.; PETER, K.V. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, v.110, p.175-180, 2006.
- IPEKCI, Z.; GOZUKIRMIZI, N. Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from *Paulownia elongata*. **Plant Cell Reports**, v.22, p.16-24, 2003.
- MARTIN, K.P. Clonal propagation, encapsulation and reintroduction of *Ipsea malabarica* (REICHB. f.) J. D. Hook., an endangered orchid. **In vitro Cellular Development Biology – Plant**, v.39, p.322-326, 2003.
- MURASHIGE, T.; SKOOG F. A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- SHARMA, A.; TANDON, P.; KUMAR, A. Regeneration of *Dendrobium wardianum* Warner. (orchidaceae) from synthetic seeds. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.30, p.747-748, 1992.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. SANEST - **Sistema de Análise Estatística para microcomputadores**. Pelotas: UFPel, SEI, 1984, 138p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Orchidaceae*; encapsulamento; unidades encapsuláveis; preservação; micropropagação.

## **Análises morfo-histológicas da embriogênese somática em açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.)<sup>1</sup>.**

Fermino<sup>2</sup> Jr, Paulo Cesar Poeta; Silva<sup>3</sup>, Ricardo Alexandre; Maciel, Simone<sup>4</sup>; Guedes, Rodrigo<sup>5</sup>; Pereira<sup>6</sup>, Jonny Everson Scherwinski

<sup>1</sup>Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq. <sup>2</sup>Professor da Universidade Federal do Acre, e-mail: paulofermino@ufac.br; <sup>3</sup>Doutorando da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ/ PBV – Pós graduação em Biotecnologia Vegetal; <sup>4</sup>Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa Acre; <sup>5</sup>Mestrando em Produção Vegetal - UFAC. <sup>6</sup>Pesquisador da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL e-mail: jonny@cpafac.embrapa.br

### **INTRODUÇÃO**

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira típica do estuário amazônico, encontrada em populações homogêneas nas matas de terra firme (Jardim et al., 1995). Das espécies frutíferas nativas com potencial mercadológico de ocorrência na Amazônia, o açai se destaca pela grande produção de frutos, palmito e celulose.

A despeito de seu potencial, a utilização de técnicas de propagação ineficientes e a ausência de material geneticamente melhorado têm contribuído negativamente para a exploração racional e econômica dessa espécie (Oliveira, 1999).

A propagação *in vitro* constitui-se numa importante técnica para plantas com grande dificuldade de multiplicação vegetativa, como ocorre com *Euterpe oleracea* Mart. A propagação *in vitro* via embriogênese somática oferece um grande potencial para a multiplicação clonal, onde uma célula isolada pode ser induzida a produzir primeiramente um embrião e então uma planta completa (Rout et al., 1999; Guedes et al., 2006).

O desenvolvimento vegetal é o resultado de um intrincado controle hormonal múltiplo espacial e temporal, o qual é oriundo da regulação e expressão de múltiplos sistemas gênicos (Barendse & Peeters, 1995). O mesmo autor ainda salienta que a variação no número de receptores e sua distribuição, durante o desenvolvimento, podem alterar a sensibilidade das células aos hormônios ou outros sinais. A multiplicação por embriogênese somática ocorre pelo desenvolvimento de estádios morfológicos característicos, de seqüências similares àquelas observadas no embrião zigótico, e origina uma planta completa (Williams & Maheswaram, 1986).

As alterações histológicas associadas com a posição e a atividade das células competentes têm sido muito estudadas na embriogênese somática (Cangahuala-Inocente et al., 2004). Maheswaran & Williams (1985) constataram que a embriogênese somática de *Trifolium repens* L., obtida a partir de embriões zigóticos imaturos, originava-se de células da epiderme do hipocótilo, que proliferavam produzindo embriões somáticos sem uma fase de calo. A iniciação do desenvolvimento da embriogênese somática de *Carya illinoensis* (Wagenh) C. Koch induzida por diferentes auxinas, revelou pela análise morfológica e anatômica que as auxinas ANA e 2,4-D induziram acentuada divisão celular na camada subepidérmica dos cotilédones de embriões imaturos (Rodriguez & Wetzstein, 1998).

Diante do exposto, o trabalho teve por objetivo avaliar aspectos morfo-anatômicos da indução e desenvolvimento de embriões somáticos a partir de embriões zigóticos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados embriões zigóticos de *Euterpe oleracea* como fontes de explantes, a partir de plantas obtidas na Embrapa Acre. A assepsia foi realizada em câmara de fluxo laminar com imersão dos embriões zigóticos em hipoclorito de sódio 1% por 10 minutos e em álcool 70% por 15 segundos e logo após submetidos a tríplex lavagem em água destilada e esterilizada. Em

seguida, os explantes foram inoculados em meio MS solidificado com ágar, acrescido dos reguladores Picloran e o 2,4-D nas concentrações de 225 e 450  $\mu\text{M}$ . Posteriormente, foram transferidos para um meio de multiplicação contendo 0,537  $\mu\text{M}$  de ANA combinado com 12,30  $\mu\text{M}$  de 2iP. As culturas embriogênicas foram mantidas em meio cultura para maturação e regeneração, no qual foi composto pela metade dos sais e vitaminas de MS com 2,5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de carvão ativado. O experimento foi mantido em sala de crescimento com temperatura controlada entre  $26 \pm 2$  °C na ausência de luz, conforme metodologia proposta por Guedes et al., (2006).

Após 150 dias de cultivo, amostras dos explantes responsivos foram preparadas para a análise morfo-anatômica. As amostras foram preparadas para microscopia óptica de acordo com James et al.(1994), com modificações. Estas, foram fixadas em solução de glutaraldeído 2,5 % em tampão fosfato 0,1M (pH 7,2) por 24 horas a temperatura ambiente. Após a fixação, as amostras foram lavadas por três vezes em tampão fosfato e desidratadas em série etanólica crescente (20% a100%). Após a desidratação as amostras foram embebidas em resina acrílica “LR White medium grade” (London Resin Company, UK) durante um período de 7 dias, sendo mantidas em geladeira para infiltração da resina. Posteriormente as amostras foram emblocadas em cápsulas transparentes de gelatina contendo resina e postas para polimerizar em estufa a 55 °C por um período de 18 horas. A partir destes blocos, secções semi-finas (1  $\mu\text{m}$ ) foram obtidas utilizando um ultramicrótomo Reichert-Jung Ultracut S (Leica) e coradas com azul de toluidina solução 0,1% sendo examinadas em um microscópio óptico Axioplan (Zeiss).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As células epidérmicas e sub-epidérmicas do calo apresentam núcleo proeminente e citoplasma denso (Figura 1). Observa-se intensa divisão celular na epiderme, com a formação de delgadas paredes celulares anticlinais e periclinais (Figura 2). Segundo Rodriguez & Wetzstein (1998) a iniciação do desenvolvimento da embriogênese somática de *Carya illinoensis* (Wagenh) C. Koch induzida por diferentes auxinas, revelou pela análise morfológica e anatômica que as auxinas NAA e 2,4-D induziram acentuada divisão celular na camada subepidérmica dos cotilédones de embriões imaturos.

As sucessivas divisões celulares organizam inicialmente uma protuberância com poucas células (Figura 2), progredindo para uma formação multicelular mais numerosa (Figura 3). Nesse momento, percebe-se a organização da massa celular pró-embriogênica.

O desenvolvimento da massa pró-embriogênica origina embriões somáticos com numerosas células em arranjo esférico, caracterizando embriões somáticos no estágio globular (Figura 4). A multiplicação por embriogênese somática ocorre pelo desenvolvimento de estádios morfológicos característicos, de seqüências similares àquelas observadas no embrião zigótico, e origina uma planta completa (Thorpe & Stasolla, 2001).

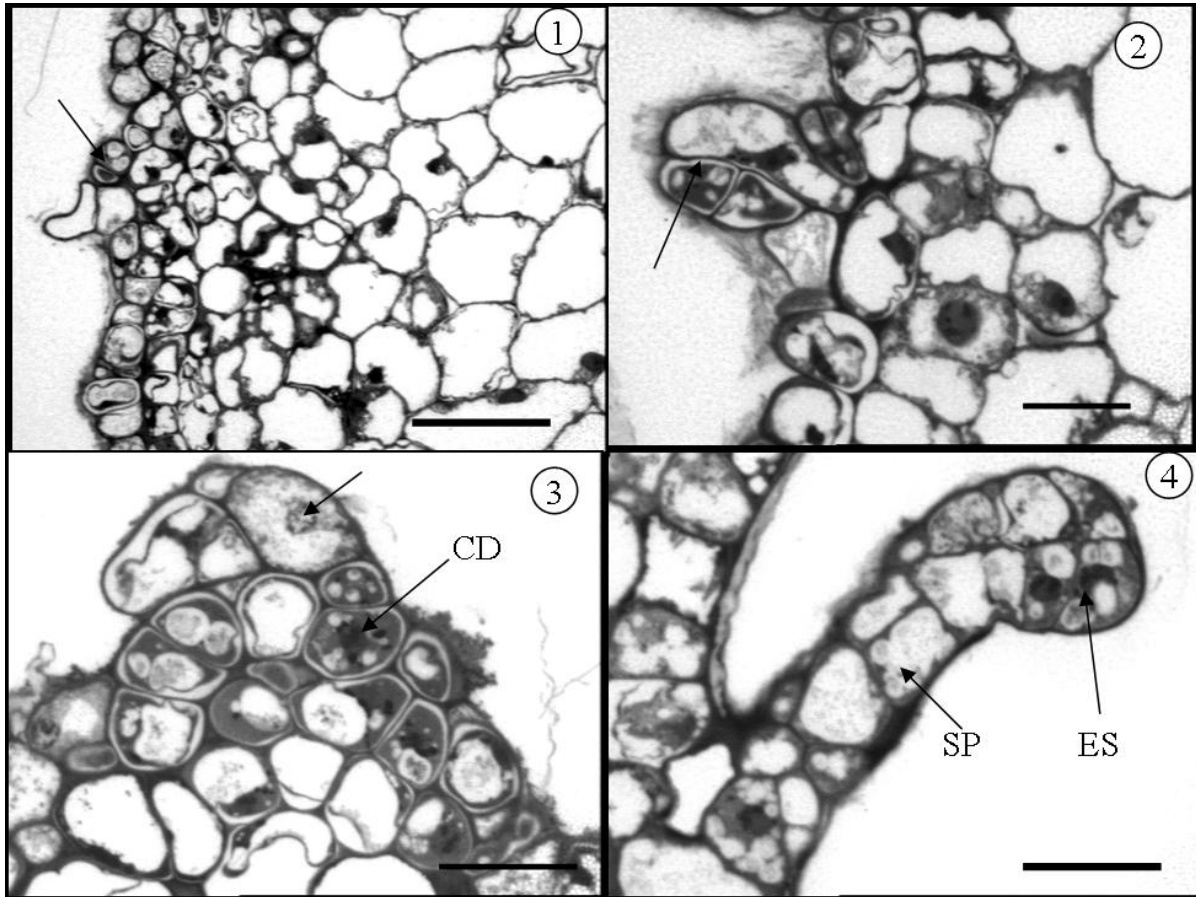
O processo de indução da embriogênese somática passa pela formação de calo, caracterizando uma rota regenerativa indireta (Guerra et al., 1999). Maheswaran & Williams (1985) constataram que a embriogênese somática de *Trifolium repens* L., obtida a partir de embriões zigóticos imaturos, originava-se de células da epiderme do hipocótilo, que proliferavam produzindo embriões somáticos sem uma fase de calo.

Na base da estrutura globular, observam-se células, semelhantes ao suspensor, conectando o embrião somático aos tecidos do embrião zigótico. De acordo com Nonohay et al., (1999), a presença de estruturas semelhantes ao suspensor indicam a origem unicelular do desenvolvimento de embriões somáticos. As características descritas sugerem que a embriogênese somática a partir de embriões imaturos de açaizeiro tem origem unicelular da epiderme.

O sucesso na iniciação e estabelecimento de culturas embriogênicas depende basicamente do tipo e estágio fisiológico dos explantes (Pompelli, 2002). Este é o primeiro passo importante para a transição de células somáticas em células embriogênicas (De Jong et al., 1993). Por isto, é fundamental o reconhecimento dos explantes que tenham a competência

morfogenética e que estejam em estágio específico de desenvolvimento (Harry & Thorpe, 1991).

A propagação *in vitro* via embriogênese somática oferece um grande potencial para a multiplicação clonal, onde uma célula isolada pode ser induzida a produzir primeiramente um embrião, e então, uma planta completa (Rout *et al.*, 1999).



FIGURAS 1-4. Ontogênese de embriões somáticos de açazeiro (*Euterpe oleraceae*). 1. Epiderme com intensa atividade de divisão celular (seta) da massa pró-embriogênica (Barra = 50 µm). 2. Divisões celulares anticlinais (seta) e periclinais sucessivas (Barra = 10 µm). 3. Células pró-embriogênicas com núcleos proeminentes (seta) e citoplasma denso (Barra = 10 µm). 4. Embrião somático no estágio globular (seta) e suspensor (SP) (Barra = 10 µm). Legenda: ES- embrião somático; SP- suspensor. CD – citoplasma denso.

## CONCLUSÃO

A embriogênese somática passa por uma fase de calo, caracterizando uma rota regenerativa indireta. As características celulares da epiderme do calo tais como: formação de paredes celulares delgadas, núcleo proeminente e citoplasma denso expressas durante a cultura *in vitro*, juntamente com o desenvolvimento de suspensor, sugerem a origem unicelular dos embriões somáticos em açazeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARENDSE, G.W.M.; PEETERS, T.J.M. Multiple hormonal control in plants. **Acta Botanica Neerl.** 44 (1): 3-17. 1995.

CANGAHUALA-INOCENTE, G.C.; STEINER, N.; SANTOS, M.; GUERRA, M.P. Morphohistological analysis and hisrochemistry of *Feijoa sellowiana* somatic embryogenesis. **Protoplasma**, 224, 33-40. 2004.

De JONG, A.J.; SCHMIDT, E.D.L.; VRIES, S.C. Early events in higher-plant embryogenesis. **Plant Molecular Biology**, 22: 367-377. 1993.

GUEDES, R.S.; MACIEL, S.A.; PEREIRA, J.E.S. Indução da embriogênese somática em açazeiro a partir de embriões zigóticos imaturos. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2006, Cabo Frio. **Anais**. Rio de Janeiro : UFRRJ. v. 1. p. 354-354.

GUERRA, M.P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. **Embriogênese somática e sementes sintéticas**. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds), **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. V.2, Brasília: SPI/Embrapa, 1999, p.533-568.

HARRY, I.S.; THORPE, T.A. Somatic embryogenesis and plant regeneration from mature zygotic embryos of red spruce. **Botanical Gazette**, 152 (4): 446-452. 1991.

JAMES, E.K; REIS, V.M.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. & DÖBEREINER, J. Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 45, p. 757-766, 1994.

JARDIM, M. A. G.; OASHI, S. T.; LAMEIRA, O. N. Cartilha informativa sobre a palmeira açai (*Euterpe oleracea* Mart.). Belém: **MPEG**, 1995. 11p

MAHESWARAN, G.; WILLIAMS, E.G. Origin and development of the embryoids formed directly on immature embryos of *Trifolium repens* *in vitro*. **Annals of Botany**, vol. 56, p. 619-630, 1985.

NONOHAY, J.S.; MARIATH, J.E.A.; WINGE, H. Histological analysis of somatic embryogenesis in Brazilians cultivars of Barley *Hordeum vulgare vulgare*, Poaceae. **Plant Cell Reports** 18: 929-934.

OLIVEIRA, M. do S. P. Açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental. (Ed.). **Programa de melhoramento genético e de adaptação de espécies vegetais para a Amazônia Oriental**. Belém, 1999. 137p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 16).

POMPELLI, M.F. **Morfogênese *in vitro*, Métodos de Micropropagação e Conservação de germoplasma de *Dickia distachya* Hassler**. Florianópolis, Dissertação de Mestrado, UFSC, 93p. 1999.

RODRIGUEZ, A.P.M.; WETZSTEIN, H.Y. A morfological and histological comparison of initiation and development of pecan (*Carya illinoinensis*) somatic embryogenic culture induced with naphthaleniactic acid or 2,4-dichlorophenoxyiacetic acid. **Protoplasma** 204: 71-83. 1998.

ROUT, G.R. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. **Scientia Horticulturae**, 81: 201-228. 1999.

THORPE, T.A.; STASOLLA, C. Somatic embryogenesis. In: BHOJWANI, S.S.; SOH, W.Y. (eds.) **Current trends in the embryology of angiosperms**. Kluwer, Dordrecht, pp.279-336. 2001.

WILLIAMNS, E.S.; MAHESWARAN, B. Somatic embryogenesis: factors influencing coordinated behavior of cells as na embryogenic group. **Ann. Botany**, 57: 443-462. 1986.

PALAVRAS-CHAVES: *Euterpe oleraceae*; Arecaceae, histologia; embriogênese somática.



## **Indução da embriogênese somática em pupunheira (*Bactris gasipaes* H. B. K.) a partir de embriões zigóticos imaturos<sup>1</sup>.**

Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>2</sup>; Maciel, Simone de Alencar<sup>3</sup>; Fermino-Jr., Paulo Cesar Poeta<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

<sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL, C. Postal 321, 69908-970 Rio Branco – AC, Pesquisador Bolsista em Produtividade do CNPq, email: [jonny@cpafac.embrapa.br](mailto:jonny@cpafac.embrapa.br); <sup>3</sup>Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa Acre; <sup>4</sup>Professor Depto. Ciências Agrárias-UFAC.

### **INTRODUÇÃO**

A pupunha é uma Arecaceae que apresenta aptidão para a produção de frutos e palmito. A composição dos frutos faz desta uma excelente fonte alimentícia essencialmente energética, com boas quantidades de lipídios e caroteno (provitamina A) (Mora-Urpí et al, 1997).

A pupunha tem sido o objeto de pesquisas intensivas e desenvolvimento em várias partes da América tropical (Clement, 1995), devido principalmente as suas características de precocidade, rusticidade, elevada produtividade e perfilhamento. Sua reprodução é assexuada pela formação de perfilho. No entanto, a formação de mudas para plantios comerciais é feita normalmente por meio de sementes. Por ser uma planta alógama a produção de mudas por sementes pode provocar alta variabilidade genética nesses plantios.

A cultura de tecidos é uma excelente técnica na micropropagação de plantas, manipulação genética, conservação (George, 1993). A cultura de tecidos permite aumentar a velocidade e a eficiência de muitos programas de melhoramento, criando novas fontes de variabilidade genética. Entre as principais contribuições dessa tecnologia na agricultura, destacam-se: a micropropagação, cultura de embriões, seleção *in vitro*, produção de plantas duplohaplóides, hibridização somática, variação somaclonal e transformação genética (Karp, 1995).

Dentre as técnicas, podemos mencionar a embriogênese somática. Essa rota morfogênica constitui-se numa fonte eficaz para a multiplicação clonal em plantas lenhosas. Segundo Ammirato (1983), a embriogênese somática é um processo análogo à embriogênese zigótica em que uma única célula, ou um grupo de células somáticas são precursoras dos embriões somáticos. Este sistema é utilizado para a propagação massal de plantas elites, apresentando grande potencial, pois possibilita elevadas taxas de multiplicação (Gupta *et al.* 1993). Na embriogênese somática, ocorre a formação de embriões somáticos, com fases similares às de formação do embrião zigótico, sem fecundação (Segura, 1993).

O sucesso na iniciação e estabelecimento de culturas embriogênicas depende basicamente do tipo e estágio fisiológico dos explantes (Pereira *et al.*, 2006). Potencialmente muitos tecidos vegetais têm capacidade para originar calos *in vitro*, contudo poucos explantes têm habilidade para produzir calos embriogênicos (De Jong *et al.*, 1993). Explantes embrionários possuem maior competência morfogênica (Guedes *et al.*, 2006), podendo suas células apresentar receptores específicos e de maior sensibilidade aos hormônios vegetais (Guerra *et al.*, 1998).

Este trabalho teve por objetivo induzir a embriogênese somática em pupunheira a partir de embriões zigóticos imaturos.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL da Embrapa Acre, Rio Branco-AC. Utilizou-se como fonte de explante embriões zigóticos imaturos de pupunha. A desinfestação das sementes consistiu na retirada do



endocarpo dos frutos de forma não asséptica, com o auxílio da prensa manual, e posteriormente, foram retirados os embriões zigóticos. A desinfestação foi realizada na câmara de fluxo laminar onde os embriões foram imersos em álcool (70%) por 15 segundos, mergulhados por 10 minutos no hipoclorito de sódio (1%). Em seguida, os embriões foram lavados, novamente, por três vezes consecutivas com água esterilizada. Finalmente, o material foi hidratado por 15 minutos em água esterilizada.

Os explantes foram pré-tratados em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 2,5 g.L<sup>-1</sup> de Phytigel<sup>®</sup>, vitaminas de Morel & Wethmore (1951), e suplementados com Picloram e 2,4-D na concentração de 25 µM e BAP (0, 5 e 10 µM). Para a inoculação utilizaram-se frascos com capacidade de 110 mL, contendo aproximadamente 20 mL de meio de cultura.

Após 103 dias do efeito do pré-tratamento, as culturas embriogênicas foram transferidas para meio MS, suplementado com 450 µM de Picloram e 2,4-D.

As culturas embriogênicas obtidas em tratamento anterior foram transferidas após 179 dias de cultivo para meio de maturação, composto de sais de MS suplementado com 45 µM de Picloram e 2,4-D e 11,25 µM de 2iP.

O meio de cultura teve o pH ajustado para 5,8±0,1 antes da adição do Phytigel<sup>®</sup>, sendo posteriormente autoclavado a 121°C por 15 minutos em 1,3 atm de pressão. Os experimentos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25±1°C na ausência de luz. Após 5 meses de cultivo foram avaliados quanto a presença de calos primários, de calos embriogênicos e de oxidação dos explantes.

O delineamento foi inteiramente casualizado com 8 repetições e 5 embriões/frasco.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Aos 41 dias de cultivo os embriões zigóticos apresentaram um intumescimento na região do mesocótilo (Figura 1A). Houve formação de calos nos tratamentos testados, os quais variaram em tamanho e potencial morfogênico de acordo com cada concentração hormonal (Figura 1B). De acordo com as observações de George & Sherrington (1984), os calos apresentam expressões morfogênicas distintas, conforme o explante e meio nutritivo. Os mesmos autores relatam que, de forma geral, o tipo de calo formado em um determinado genótipo, seu grau de diferenciação celular e potencial morfogênico dependem do explante e dos constituintes do meio de cultura.

Observou-se que na região do mesocótilo (Figura 1D), a auxina 2,4-D induziu o desenvolvimento dos calos primários. O crescimento de calos primários foi de forma lenta e gradativa e aos 164 dias de cultivo mostrou incrementos significativos sob ação de Picloram e 2,4-D (Figura 1C). Segundo Karp (1995), as diferenças observadas na proliferação dos calos ocorrem porque os explantes podem variar em sua sensibilidade para os fitorreguladores e/ou devido a diferenças no teor endógeno de hormônios.

De modo geral, os tecidos competentes em embriões zigóticos diferenciaram calos embriogênicos sob ação das auxinas Picloram e 2,4-D em 450 µM, onde a presença de estruturas granulares foram observadas (Figura 1 H e I). A indução da rota embriogenética ou organogenética é influenciada e determinada pelo tipo de explante, genótipo, fitorreguladores, meio de cultura e condições de cultivo (Hou & Jia, 2004; Paramageetham et al. 2004). Guerra & Handro (1998), observaram que a rota da embriogênese somática em *Euterpe edulis* Mart. ocorria como resposta à interação entre o estágio fisiológico do explante, tipo e concentração de fitorreguladores presentes no meio de cultura.

A morfogênese *in vitro* resulta da interação entre os processos de indução, competência celular, determinação e diferenciação celular (Christianson & Warnick, 1983), que culminam na obtenção de órgãos ou embriões somáticos.

Após a obtenção de calos embriogênicos, estes foram transferidos para o meio de cultura de maturação. Nesse processo foi observado que a interação da citocinina e auxina

influenciou no desenvolvimento dos calos embriogênicos e notou-se a presença de estruturas globulares (Figura 1M). Este tipo de resposta embriogênica ocorreu em baixa frequência, concordando com os resultados obtidos por Steinmacher (2005).

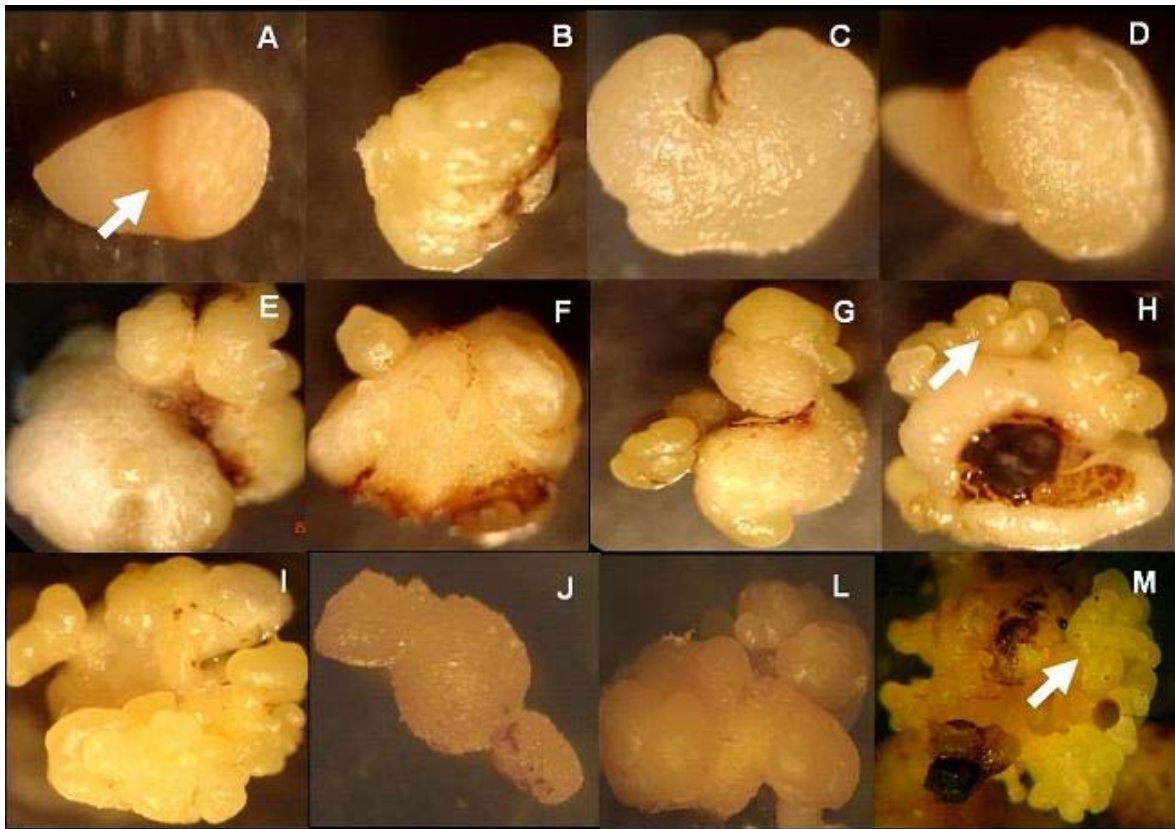


FIGURA 1: Aspectos morfológicos da embriogênese somática em pupunheira: (A) Intumescimento na região do mesocótilo do embrião zigótico (seta); (B e C) Início do desenvolvimento do calo primário induzidos pelas auxinas Picloram e 2,4-D com 25 µM; (D) Crescimento do calo primário no embrião após 41 dias de cultivo; (E e F) Estruturas granulares na superfície do calo primário obtidas com 450 µM de 2,4-D; (G) Desenvolvimento de estruturas globulares na superfície do calo primário; (H e I) Calo embriogênico obtido após 164 dias (seta); (J) Detalhe do embrião somático isolado; (L) Estruturas diferenciadas no início da maturação dos embriões; (M) Maturação e multiplicação dos embriões somáticos (seta).

## CONCLUSÕES

A utilização de embriões zigóticos imaturos são explantes responsivos na indução da embriogênese somática. Altas concentrações de auxinas 2,4-D e Picloram no meio de cultura são necessárias para a indução de estruturas embriogênicas. A combinação de auxinas e citocininas favorecem a maturação dos calos embriogênicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMIRATO, P.V. **Embryogenesis**. In Handbook of plant cell culture (D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato & Y. Yamada, eds.). Macmillan Publisher Co., New York, p.82-123. 1983.  
 CHRISTIANSON, M.L.; WARNICK, D. A. Competence and determination in the process of in vitro shoot organogenesis. **Development Biology**, v.35, p.288-93, 1983.

- CLEMENT, C. R. Growth and analysis of pejobaye (*Bactris gasipaes kunth*, plamae) in Hawaii. Honolulu, 1995. 221p. Thesis (Ph.D.) – University of Hawaii.
- De JONG, A.J.; SCHMIDT, E.D.L.; VRIES, S.C. Early events in higher-plant embryogenesis. **Plant Molecular Biology**, **22**: 367-377. 1993.
- GUERRA, M.P.; HANDRO, W. Somatic embryogenesis and plant regeneration in different organs of *Euterpe edulis* Mart. (Palmae): Control and structural features. **Journal of Plant Research**, **111**: 65-71. 1998.
- GUERRA, M.P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. Embriogênese Somática e Sementes Sintéticas. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J. A (eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, Brasília: Embrapa, v.2, p.533–568, 1998.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Exegetics, Edington, v.1, 555p. 1993.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Eastern Press, 1984, 709p.
- GUEDES, R.S.; MACIEL, S.A.; PEREIRA, J.E.S. Indução da embriogênese somática em açazeiro a partir de embriões zigóticos imaturos. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2006, Cabo Frio. **Anais**. Rio de Janeiro : UFRRJ. v.1. p.354-354.
- GUPTA, P.K., PULLMAN, G., TIMMIS, R., KREITINGER, M., CARLSON, W.C., GROB, J. & WELTY, E. 1993. Forestry in the 21st Century. **Bio/Technology** 11:454-459.
- HOU, S.W.; JIA, J.F. High frequency plant regeneration from *Astragalus melilotoides* hypocotul and stem explants via somatic embryogenesis and organogenesis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.79, p.95-100, 2004.
- KARP, A. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. **Euphytica**, v.85, p.295-302, 1995.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tabacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- MOREL, G. And Wetmore, R.H. Tissue culture of monocotyledons. **American Journal of Botany**, v.38, p.138-140, 1951.
- MORA-URPI, J.; WEBER, J.C.; CLEMENT, C.R. **Preach-palm (*Bactris gasipaes kunth*) – Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops**. Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research and Intenacional Plant Genetic Resources Institute, 1997.
- PARAMAGEETHAM, C. BABU, G.P.; RAO, J.V.S. Somatic embryogenesis in *Centella asiatica* L. an important medicinal and neutraceutical plant of India. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.79, p.19-24, 2004.
- PEREIRA, J. E. S.; COSTA, F.H.S.; ALVES JR., B; GUEDES, R.S. Respostas morfológicas *in vitro* de inflorescências imaturas de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) influenciada por fatores do meio de cultura. In: 3º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel., 2006, Varginha. **Anais**. Lavras : UFLA, 2006. v.1, p.1-5.
- SEGURA, J. Morfogênese *in vitro*. In: BIETO, J. A.; TALON, M. (Ed.) **Fisiologia y Bioquímica Vegetal**. Madrid: Interamericana, 1993. p. 381-392.
- STEINMACHER, D.A. **Germinação *in vitro*, Criopreservação e Embriogênese Somática em pupunha**. Pós-graduação em recursos Genéticos vegetais na Universidade federal de Santa Catarina – Florianópolis, 2005.

#### PALAVRAS – CHAVE

*Bactris gasipaes*; embriogênese somática; auxinas; calos embriogênicos.

## Efeito de auxinas no enraizamento *in vitro* de dedaleiro.

Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nicioli, Patrícia Matile<sup>3</sup>; Rodrigues, Marcelo<sup>4</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrandos do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas FAPEMIG e CNPq, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br); [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Biologia, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Bolsista recém-mestre –CAPES- (UFMG), Instituto de Ciências Biológicas. Av. Antônio Carlos N° 6627 Laboratório Microrganismo Planta, sala 174, bloco I2, ICB Pampulha 31270-901 - Belo Horizonte, MG, fone: (35) 3499-2680, e-mail: [pmnicioli@yahoo.com.br](mailto:pmnicioli@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Graduando em Agronomia, bolsista de Iniciação Científica – CNPq, email: [marcel.or.7@hotmail.com](mailto:marcel.or.7@hotmail.com); <sup>5</sup>Professora adjunta do Depto. de Agricultura (UFLA), e-mail: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br).

## INTRODUÇÃO

A espécie *Lafoensia pacari* St. Hil., pertence à família Lythraceae, é conhecida popularmente por dedaleiro ou pacari. Esta árvore de médio porte (de 10 a 18 m de altura) possui crescimento lento e ocorre nos cerradões onde apresenta menor desenvolvimento. Sua fenologia é muito variável entre regiões. Floresce normalmente nos meses de outubro a dezembro e a maturação dos frutos ocorre nos meses de abril a junho. A dispersão é feita por pássaros e pelo vento (Silva & Barbosa, 2004). O dedaleiro é muito utilizado entre populações humanas devido seu potencial medicinal e estudos demonstram seu efeito antiinflamatório e analgésico (Rogério et al., 2006). Também é utilizada na arborização urbana, paisagismo e sua madeira na construção civil e carvão (Carvalho, 1994).

O propósito da rizogênese *in vitro* é a formação de raízes adventícias nas partes aéreas obtidas no estágio de multiplicação, que permite a constituição de plantas completas, para posterior aclimação às condições *ex-vitro*. No caso da maioria das espécies lenhosas, o enraizamento é a etapa mais difícil, principalmente quando se usa material na fase adulta (Hu & Wang, 1983).

Auxinas são substâncias quimicamente relacionadas com o ácido indol-3-acético (AIA), que é a auxina principal de várias plantas. Essas substâncias têm em comum a capacidade de atuar na expansão e no alongamento celular, ajudando também na divisão celular em cultura de tecidos, principalmente no enraizamento (Krikorian, 1991). Entre outras substâncias usadas para o enraizamento *in vitro* estão o ácido naftaleno acético (ANA), o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido 2-4-diclorofenoxiacético (2,4-D), sendo este último menos recomendado devido ao forte estímulo à formação de calos e à repressão da organogênese (Ross, 1992).

Tendo em vista a importância medicinal e a carência de informações sobre o cultivo *in vitro* do dedaleiro, este trabalho objetivou-se avaliar a influência de diferentes concentrações das auxinas AIB e ANA no enraizamento *in vitro* da espécie *Lafoensia pacari*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Brotões com aproximadamente 2 cm de comprimento oriundas de processo de multiplicação *in vitro* foram inoculadas em meio WPM (Lloyd & McCown, 1980), contendo 3% de sacarose e suplementado com os reguladores de crescimento AIB e ANA, ambos nas concentrações de 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0mg L<sup>-1</sup>. O meio foi solidificado com 0,6% de ágar e seu pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os brotos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C, na ausência de luz. Após 7 dias, os brotos foram transferidos para um novo meio WPM, diferindo do descrito anteriormente pela presença de 0,2% de carvão e pela ausência dos reguladores de crescimento. Depois da transferência, os brotos voltaram para a sala de

crescimento, desta vez sob irradiância de  $36\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas por 13 dias.

As variáveis avaliadas foram: número de raízes e comprimento da maior raiz por broto. Os dados foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tudo de ensaio contendo um broto.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variáveis analisadas (número de raízes e comprimento da maior raiz por broto) não apresentaram diferenças significativas.

Entre os tratamentos com AIB e ANA, a concentração de  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB proporcionou maior número de raízes, com média de 5,5 raízes por broto, enquanto que  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA obteve média de 4,5 raízes por broto (Figura 1).

Lopes et al. (2001), estudando o efeito do AIB e ANA na indução do enraizamento de mogno obteve como resultado em relação ao número médio de raízes formadas, maiores valores na concentração de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  de ANA. Pôde-se observar que à medida que a concentração de AIB no meio se eleva, o número médio de raízes cresce linearmente, e para o ANA, a partir de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  também há um crescimento, pressupondo que pode haver um aumento no número médio de raiz em concentrações acima de  $4,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB e ANA.

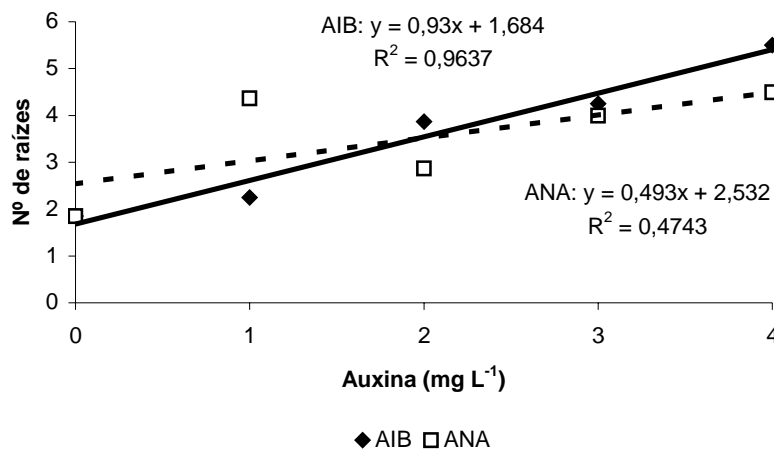


Figura 1. Número de raízes por brotação obtidas em diferentes concentrações de AIB e ANA.

A tendência de aumento linear também foi observada na variável comprimento de raízes. O tratamento que proporcionou maior comprimento médio das raízes foi  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB, com média  $30,87 \text{ mm}$  (Figura 2).

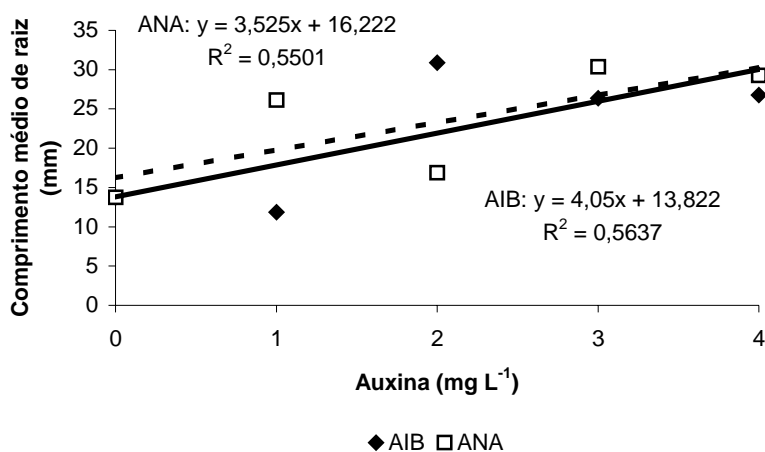


Figura 2. Comprimento médio de raiz por broto de dedaleiro obtidas em diferentes concentrações de AIB e ANA.

Para a indicação de um protocolo de enraizamento eficiente para o dedaleiro, outros experimentos serão conduzidos para observar a concentração ótima de indução de raízes, ou seja, a partir da qual ocorre um declínio no número de raízes.

## CONCLUSÃO

A auxina AIB, na concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup>, foi a mais eficiente para o enraizamento de brotações de dedaleiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras. Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **EMBRAPA-CNPQ**. Brasília. 1994. 640p.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 412-427, 1980.

LOPES, S.C. ; LAMEIRA, O.A. ; FORTES, G.R.L. ; NOGUEIRA, R. C. ; PINTO, J.E.B.P. Enraizamento in vitro de mogno (*Swietenia macrophylla* King.). *Cerne*, Lavras - MG, v. 7, n. 1, p. 124-128, 2001.

ROGERIO, A. P.; FONTANARI, C.; MELO, M.C.C.; AMBROSIO, S.R.; DE SOUZA, G.E.P.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; DA COSTA, F.B.; ALBUQUERQUE, D.A.; FACCIOLI, L.H. Anti-inflammatory, analgesic and anti-oedematous effects of extract and ellagic acid. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 58, Number 9, September 2006, pp.1265-1273(9).

SILVA, Osvaldo Aulino da; BARBOSA, L. M.. **Manejo do solo e recomposição da vegetação com vistas a recuperação de Áreas Degradadas pela extração de Bauxita..** 2004, 139 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro.

HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.). *Handbook of plant cell cultures*. New York: Macmillan, 1983. v.1, p.177-227.

ROSS, C.W. Hormones and growth regulators: auxins and gibberellins. In: SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. (Eds.). Plant physiology. 4.ed. Belmont: Wadsworth, 1992. p.357- 377.

KRIKORIAN, A.D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W.M.; MROGINSKY, L.A. (Eds.). Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones. Cali: CIAT, 1991. p.41-77.

PALAVRAS-CHAVES

*Lafoensia pacari* St. Hil., AIB, ANA, rizogênese *in vitro*.



## Utilização de BAP na organogênese *in vitro* em dedaleiro.

Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>4</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrandos do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas FAPEMIG e CNPq, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br); [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Biologia, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia, bolsista de Iniciação Científica – CNPq, e-mail: [lucoutsilva@yahoo.com.br](mailto:lucoutsilva@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professora adjunta do Depto. de Agricultura (UFLA), e-mail: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A espécie *Lafoensia pacari* St. Hil., pertence à família Lythraceae, é conhecida popularmente por dedaleiro ou pacari. Esta árvore de médio porte (de 10 a 18 m de altura) possui crescimento lento e ocorre nos cerradões onde apresenta menor desenvolvimento. Sua fenologia é muito variável entre regiões. Floresce normalmente nos meses de outubro a dezembro e a maturação dos frutos ocorre nos meses de abril a junho. A dispersão é feita por pássaros e pelo vento (Silva & Barbosa, 2004). O dedaleiro é muito utilizado entre populações humanas devido seu potencial medicinal e estudos demonstram seu efeito antiinflamatório e analgésico (Rogério et al., 2006). Também é utilizada na arborização urbana, paisagismo e sua madeira na construção civil e carvão (Carvalho, 1994).

Na fase de multiplicação, o principal objetivo é produzir o maior número de plantas possível, no menor espaço de tempo. O importante é obter uma taxa média satisfatória com o mínimo de variação de explante para explante. Outro aspecto importante é a qualidade e homogeneidade das partes aéreas produzidas, o que irá determinar o sucesso na fase seguinte de enraizamento (Grattapaglia & Machado, 1998).

Tendo em vista a importância medicinal e a carência de informações sobre o cultivo *in vitro* do dedaleiro, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes concentrações da citocinina BAP na micropropagação da espécie *Lafoensia pacari* via organogênese direta a partir de segmentos caulinares.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Plântulas obtidas de germinação *in vitro* foram utilizadas como fonte de explante. Segmentos caulinares, contendo até duas gemas laterais, foram inoculados em meio WPM (Lloyd & McCown, 1980), suplementado com diferentes concentrações de BAP (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0mg L<sup>-1</sup>) e 3% de sacarose. O meio foi solidificado com 0,6% de ágar e seu pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C, durante 20 minutos. Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C de temperatura, irradiância de 36µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas.

Aos 60 dias após a inoculação, foi avaliado o número de brotações e gemas e comprimento da maior brotação por explante. Os dados foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um todo de ensaio contendo um explante. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se regressão polinomial, com significância fixada em 5%.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variáveis analisadas (número de brotações e de gemas e comprimento da maior brotação por explante) apresentaram diferenças significativas. Os maiores índices de brotação foram proporcionados nas concentrações de 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>, com médias 3 e 3,2 brotações por explante, respectivamente (Figura 1).



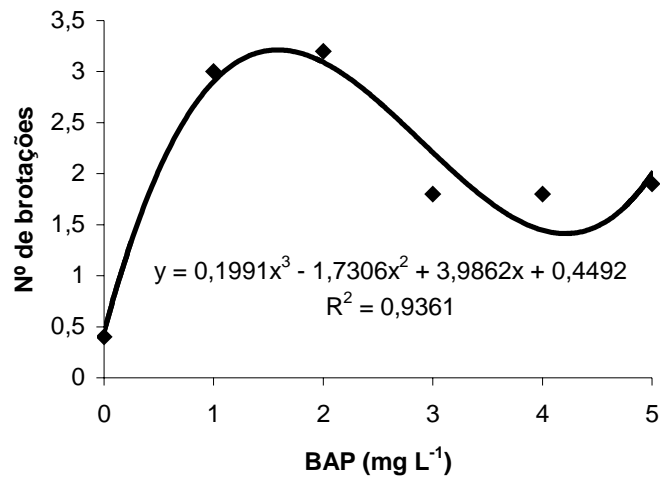


Figura 1. Número de brotos por segmento nodal de dedaleiro obtidos em diferentes concentrações de BAP.

O maior comprimento das brotações foi obtido na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, com tamanho médio de 7 cm (Figura 2) e a mesma tendência pode ser constatada em relação ao número de gemas. A concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> BAP apresentou o melhor resultado, com número médio de 3 gemas por explante (Figura 3).

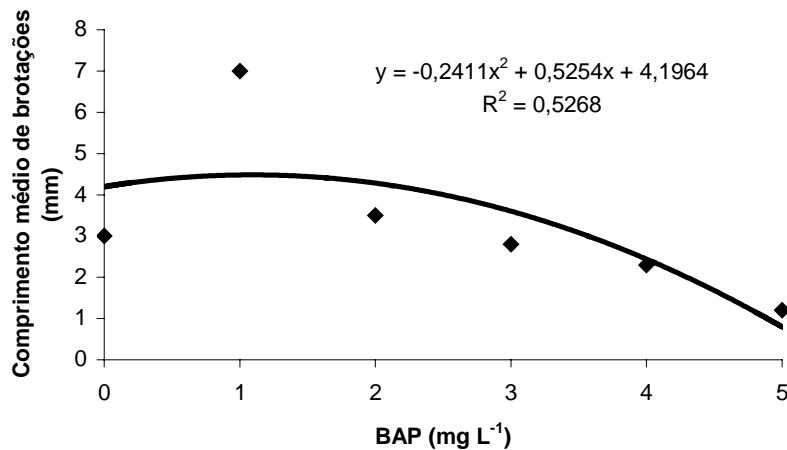


Figura 2. Comprimento de brotações de dedaleiro obtidas em diferentes concentrações de BAP.

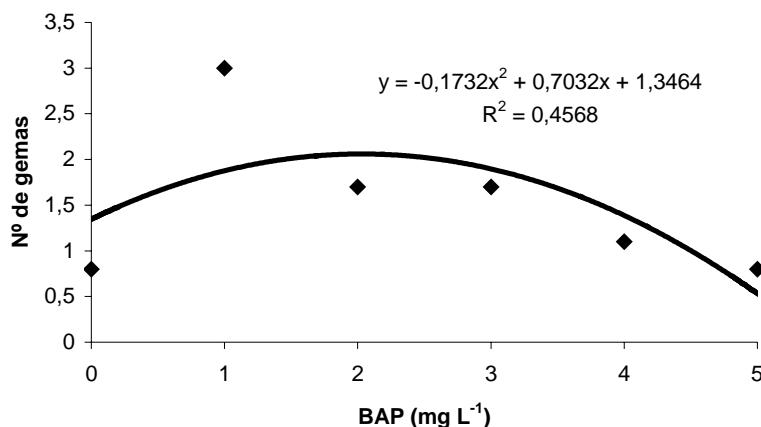


Figura 3. Número de gemas em brotações de dedaleiro obtidas em diferentes concentrações de BAP.

Porto et al. (2006), ao estudar o efeito de diferentes concentrações de cinetina na organogênese *in vitro* de dedaleiro, obteve um valor máximo de duas brotações por explante. Em relação ao comprimento médio das brotações, houve um decréscimo no seu comprimento com relação ao aumento da concentração de cinetina, observando um melhor resultado no tratamento sem o regulador de crescimento. E para o número de gemas, o autor constatou que o maior número de gemas foi obtido na concentração de 3,0mg L<sup>-1</sup> de cinetina, com aproximadamente 13 gemas.

## CONCLUSÃO

A concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> do regulador de crescimento BAP foi o mais eficiente para a micropropagação *in vitro*, proporcionando os resultados mais elevados para número de brotações e gemas e maior comprimento das brotações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras. Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **EMBRAPA-CNPQ**. Brasília. 1994. 640p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A.. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, v.1. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa CNPH, 1998. p. 183-260.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 412-427, 1980.

PORTO, J.M.P.; PAIVA, R.; FIGUEIREDO, M.A.; SANTOS, F.M.; STEIN, V.C.; SOARES, F.P. Organogênese *In Vitro* Em Dedaleiro. In: **XV Congresso dos Pós-Graduandos da Universidade Federal de Lavras**, 2006, Lavras. XV Congresso dos Pós-Graduandos da Universidade Federal de Lavras, 2006.

ROGERIO, A. P.; FONTANARI, C.; MELO, M.C.C.; AMBROSIO, S.R.; DE SOUZA, G.E.P.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; DA COSTA, F.B.; ALBUQUERQUE, D.A.; FACCIOLI, L.H. Anti-inflammatory, analgesic and anti-oedematous effects of extract and ellagic acid. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Volume 58, Number 9, September 2006, pp.1265-1273(9).

SILVA, Osvaldo Aulino da; BARBOSA, L. M.. **Manejo do solo e recomposição da vegetação com vistas a recuperação de Áreas Degradadas pela extração de Bauxita.** 2004, 139 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro.

PALAVRAS-CHAVES

*Lafoensia pacari* St. Hil., BAP, Brotação.

## Indução de calos em segmentos foliares de dedaleiro com a utilização de BAP e ANA.

Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nicioli, Patrícia Matile<sup>3</sup>; Silva Junior, Jessé Marques<sup>1</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestrandos do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas FAPEMIG, CAPES e CNPq, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br); [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), [jesseagronoma@yahoo.com.br](mailto:jesseagronoma@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Biologia, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Bolsista recém-mestre –CAPES- (UFMG), Instituto de Ciências Biológicas. Av. Antônio Carlos Nº 6627 Laboratório Microrganismo Planta, sala 174, bloco I2, ICB Pampulha 31270-901 - Belo Horizonte, MG, fone: (35) 3499-2680, e-mail: [pmnicioli@yahoo.com.br](mailto:pmnicioli@yahoo.com.br). <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A espécie *Lafoensia pacari* St. Hil., pertence à família Lythraceae, é conhecida popularmente por dedaleiro ou pacari. Esta árvore de médio porte (de 10 a 18 m de altura) possui crescimento lento e ocorre nos Cerradões onde apresenta menor desenvolvimento. Sua fenologia é muito variável entre regiões. Floresce normalmente nos meses de outubro a dezembro e a maturação dos frutos ocorre nos meses de abril a junho. A dispersão é feita por pássaros e pelo vento (Silva & Barbosa, 2004). O dedaleiro é muito utilizado entre populações humanas principalmente da região do Mato Grosso devido seu potencial medicinal, como atividade cicatrizante (Neto, 2003). Também é utilizada na arborização urbana, paisagismo e sua madeira na construção civil e carvão (Carvalho, 1994).

A formação de calos pode ser dividida em três fases: indução, divisão celular e diferenciação. Durante a fase de indução ocorre um estímulo no metabolismo reparando as células para a divisão celular. Na fase de divisão, os explantes readquirem capacidade meristemática pela desdiferenciação de suas células, promovendo o crescimento do calo, pela produção de células parenquimáticas indiferenciadas. Na última fase, algumas regiões do calo rediferenciam-se formando zonas de atividade meristemática (AITCHISON et al., 1977). Usualmente se induz a formação de calos em explantes cultivados em meio de cultura contendo auxina, ou com alta relação auxina:citocinina (LITZ & JARRET, 1991).

Tendo em vista a importância medicinal e a carência de informações sobre o cultivo *in vitro* do dedaleiro, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da interação de BAP e ANA na indução de calos em segmentos foliares de *Lafoensia pacari*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Plântulas obtidas de germinação *in vivo* foram utilizadas como fonte de explante. As folhas oriundas destas plântulas foram primeiramente lavadas em água corrente por 15 minutos, logo depois imersas em hipoclorito de sódio comercial a 25%, por cinco minutos. Posteriormente, foram lavadas por cinco vezes em água destilada e autoclavada, e, então, excisadas e inoculadas em meio de cultura em câmara de fluxo laminar.

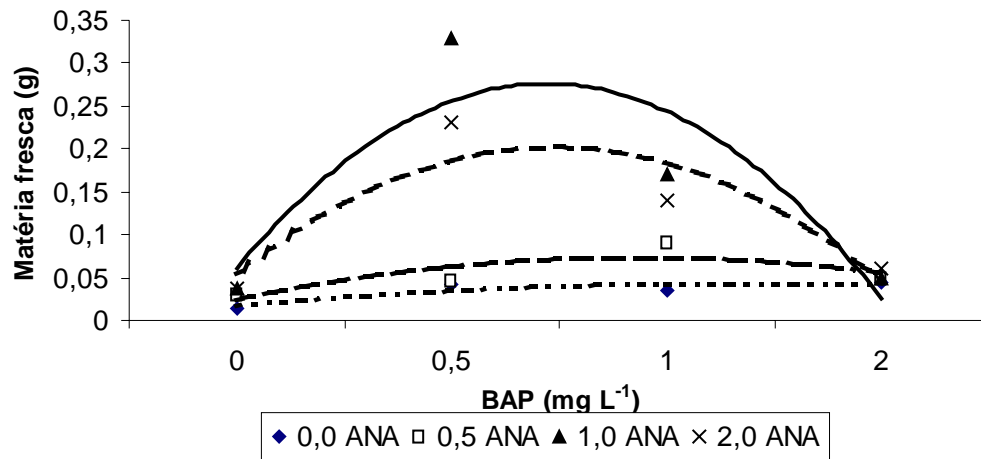
Segmentos foliares de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> foram inoculados em meio WPM (Lloyd & McCown, 1980), e 3% de sacarose. Foram testados 16 tratamentos, resultantes da combinação entre BAP e ANA, ambos nas concentrações de 0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>. O meio foi solidificado com 0,6% de ágar e seu pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C, durante 20 minutos. Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C e na ausência de luz.

Aos 90 dias após a inoculação, foram avaliados o peso fresco e o peso seco. Os dados foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tudo de ensaio contendo

um explante para o peso fresco e para a análise do peso seco, duas repetições, sendo cada repetição composta por cinco explantes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças significativas na interação BAP x ANA. O tratamento com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP combinado com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA apresentaram o melhor resultado, obtendo a média do peso da matéria fresca em 0,34 g (Figura 1) e a média do peso da matéria seca em 0,20 g (Figura 2).



$$0,0 \text{ ANA: } y = -0,0048x^2 + 0,0318x - 0,0102$$

$$R^2 = 0,7203$$

$$1,0 \text{ ANA: } y = -0,1033x^2 + 0,5041x - 0,3392$$

$$R^2 = 0,7811$$

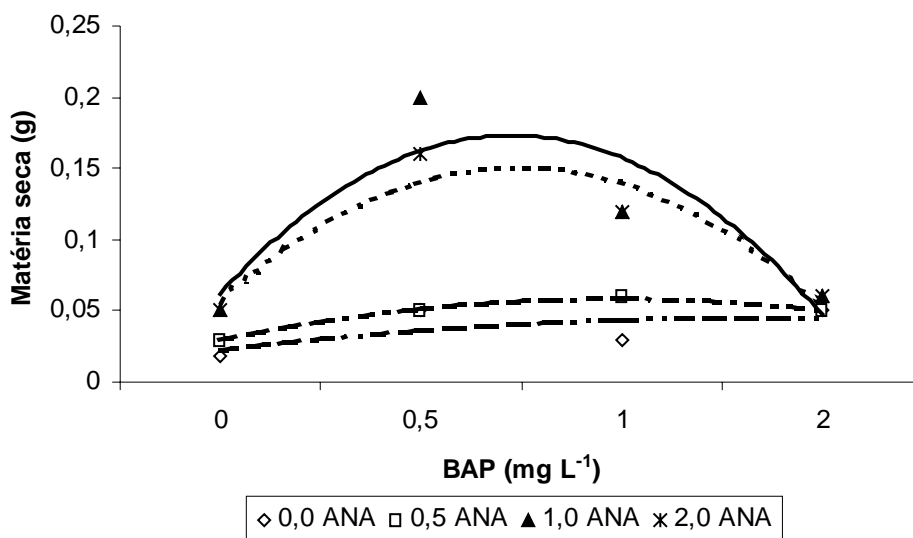
$$0,5 \text{ ANA: } y = -0,014x^2 + 0,0804x - 0,042$$

$$R^2 = 0,6787$$

$$2,0 \text{ ANA: } y = -0,068x^2 + 0,3376x - 0,217$$

$$R^2 = 0,8129$$

Figura 1. Valores médios de peso de matéria fresca dos calos formados a partir de segmentos foliares de dedaleiro submetidos a diferentes combinações de BAP e ANA.



$$0,0 \text{ ANA: } y = -0,003x^2 + 0,0226x + 0,003$$

$$R^2 = 0,4342$$

$$1,0 \text{ ANA: } y = -0,0525x^2 + 0,2575x - 0,1425$$

$$R^2 = 0,7811$$

$$0,5 \text{ ANA: } y = -0,0075x^2 + 0,0445x - 0,0075$$

$$R^2 = 0,9895$$

$$2,0 \text{ ANA: } y = -0,0425x^2 + 0,2115x - 0,1125$$

$$R^2 = 0,8954$$

Figura 2. Valores médios de peso de matéria seca dos calos formados a partir de segmentos foliares de dedaleiro submetidos a diferentes combinações de BAP e ANA.

Landa et al. (2000), estudando o efeito da combinação de BAP x ANA na indução de calos em segmentos foliares de pequizeiro obteve resultados semelhantes, sendo a melhor combinação dos reguladores, as concentrações de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

## CONCLUSÃO

A combinação de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA é a mais indicada para a obtenção de calo em segmento foliar de dedaleiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AITCHISON, P.A.; MACLEOD, A.J.; YEOMAN, M.M. Growth patterns in tissue (callus) cultures. In: STREET, H.E. (Ed). **Plant Tissue and Cell Culture**. 2 ed. Berkeley, University of California Press. P.267-306.1977.

CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras. Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **EMBRAPA-CNPQ**. Brasília. 1994. 640p.

LANDA, F. S. L.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O.; BUENO FILHO, J. S. S. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 56-63, 2000. Edição Especial.

LITZ, R.E.; JARRET, R.L. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: Embriogénesis somática y organogénesis. In: ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. (Eds). **Cultivo de Tejidos en el Agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali, CIAT. P.143-172. 1991.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washigton, v. 30, p. 412-427, 1980.

ROGERIO, A. P.; FONTANARI, C.; MELO, M.C.C.; AMBROSIO, S.R.; DE SOUZA, G.E.P.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; DA COSTA, F.B.; ALBUQUERQUE, D.A.; FACCIOLI, L.H. Anti-inflammatory, analgesic and anti-oedematous effects of extract and ellagic acid. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Volume 58, Number 9, September 2006, pp.1265-1273(9).

SILVA, Osvaldo Aulino da; BARBOSA, L. M.. **Manejo do solo e recomposição da vegetação com vistas a recuperação de Áreas Degradadas pela extração de Bauxita..** 2004, 139 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Lafoensia pacari*, BAP, ANA, calogênese.

## Resposta da cv. Caipira (*Musa spp.*, grupo AAA) a diferentes doses de BAP nas fases de estabelecimento e multiplicação da micropropagação.

Brito, Lucila Karla Felix Lima de<sup>1</sup>; Farias, MarluCIA Elias de<sup>2</sup>; Dutra, Maria de Fátima Batista<sup>3</sup>; Pereira, Edilma da Costa<sup>4</sup>; Macedo, Cristiane Elizabeth Costa de<sup>5</sup>; Oliveira, José Flamarion de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Técnico de nível superior (NS) da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN) - Laboratório de Biotecnologia Vegetal, R. Jaguarari, 2192 - CP 188, CEP 59062-500, Lagoa Nova, Natal, RN, fone/fax (84) 3232-2286/3232-5868, e-mail: [lucilaemparn@rn.gov.br](mailto:lucilaemparn@rn.gov.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da EMPARN, fone (84) 3232-5850, e-mail: [marluCIAemparn@rn.gov.br](mailto:marluCIAemparn@rn.gov.br); <sup>3</sup>Técnico NS da EMPARN, e-mail: [fatimadutra@rn.gov.br](mailto:fatimadutra@rn.gov.br); <sup>4</sup>Técnico NS da EMPARN, e-mail: [edilmabiotec2007@hotmail.com](mailto:edilmabiotec2007@hotmail.com); <sup>5</sup>Professora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Centro de Biociências – Departamento de Biologia Celular e Genética – Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal, Av. Sen. Salgado Filho, s/n, Lagoa Nova, CEP 59078-970, Natal, RN, fone: (84) 3215-3424, e-mail: [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); <sup>6</sup>Pesquisador da EMPARN – Coordenação de Pesquisa e Desenvolvimento, fone (84) 3232-5063, e-mail: [emparn@rn.gov.br](mailto:emparn@rn.gov.br).

### INTRODUÇÃO

Os benefícios da micropropagação para a agricultura são amplamente conhecidos: elevadas produtividade, homogeneidade e fitossanidade das mudas, em curtos períodos de produção (Torres et al, 1998). Assim, essa técnica também apresenta um papel de destaque na bananicultura.

No Brasil, a cv. Maçã é de grande aceitação. No entanto, essa cultivar é suscetível ao mal-do-panamá e ao mal-da-sigatoka (amarela e negra). Os danos causados por essas doenças levam a redução na produtividade do bananal e, com isso, a prejuízos financeiros para o produtor (Borges et al, 2004).

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas cultivares resistentes a esses males. É na introdução rápida destas no cultivo comercial que a micropropagação têm se destacado como uma alternativa promissora. Isso porque, essa técnica permite a disseminação acelerada das cultivares elite e, com isso, pode contribuir para manutenção da rentabilidade do cultivo de banana (Braga et al, 2001).

Dentre os diversos genótipos elite atuais, têm-se a cv. Caipira. Esta é resistente ao mal-do-panamá e ao mal da sigatoka amarela e negra. Ainda, a cv. Caipira apresenta características de campo e fruto semelhantes a cv. Maçã (Borges et al, 2004).

A citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) é amplamente empregada na micropropagação de bananeira. A dose administrada pode variar entre 1 a 15mg.L<sup>-1</sup> BAP (Borges et al, 2006).

Braga et al (2001), trabalhando com a cv. Caipira (AAA), utilizaram o fitorregulador BAP, na dose de 5 mg.L<sup>-1</sup>, no estabelecimento e na multiplicação. Foi concluído que essa dose não estimulou uma proliferação de brotos eficiente. Foi sugerido que, ao longo das subculturas, a diminuição ou alternância do uso do fitorregulador poderia levar a resultados mais positivos.

Diante do exposto, este trabalho visou avaliar a resposta da cv. Caipira a diferentes doses de BAP, durante as fases de estabelecimento e aos primeiro e segundo subcultivos da fase de multiplicação.

### METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da EMPARN, Parnamirim/RN. Perfilhos, do tipo chifre, foram coletados no Vale do Assu, em fevereiro de 2007. Após a coleta, o material foi lavado e reduzido a explantes com 15 x 7 cm, os quais compreendiam a região limítrofe entre o pseudocaulo e o rizoma, onde se localiza o ápice caulinar da bananeira.

---

Trabalho financiado com recursos do Fundo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNDECI do Banco do Nordeste do Brasil – BNB, processo nº 5547 281004797 1792001.



Em seguida, o material foi acondicionado em sacos plásticos em solução de HClONa a 0,05% e levado ao laboratório, sob refrigeração. Foi, então, enxaguado e reduzido a 5 x 2 cm. A desinfestação, em câmara de fluxo laminar, consistiu em: imersão em álcool etílico a 70% - 5min, imersão em HClONa a 2% - 30min; três enxágües em água destilada e esterilizada. Os explantes finais tinham dimensões de 1 x 0,5cm e foram inoculados individualmente.

Foi usado o meio básico, adaptado de Torres et al (1998), composto por macro e micronutrientes do meio MS, vitaminas de White, 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 2g.L<sup>-1</sup> de phytigel® e 0,1g.L<sup>-1</sup> de inositol. O pH foi ajustado para 5,7. Foram usadas doses de 0 e 2,5mg.L<sup>-1</sup> de BAP no estabelecimento (**Est**) e 4,5 e 5mg.L<sup>-1</sup> de BAP na multiplicação (**Mult**). O material foi cultivado em 20ml e 40ml de meio de cultura nas fases **Est** e **Mult**, respectivamente.

A fase **Est** foi de trinta dias, com ausência de luz na primeira semana. Em seguida, cada explante foi subdividido longitudinalmente e subcultivado em frascos distintos. Na fase **Mult**, foram realizados subcultivos a cada trinta dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, esquema fatorial 2X2 (BAP na **Est** x BAP na **Mult**). Foram realizados quatro tratamentos: **T1**: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; **T2**: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP; **T3**: 2,5mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; **T4**: 2,5mg.L<sup>-1</sup> x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP. Cada tratamento constou de três a quatro repetições, sendo uma repetição correspondente a um frasco de cultura.

A avaliação foi feita a cada vinte e oito dias. Foram avaliadas a incidência de oxidação (**Ox**), contaminação (**Co**), calogênese (**Ca**) e proliferação de propágulos (**PP**), na fase **Est** e nos dois primeiros subcultivos da fase **Mult**.

A análise estatística foi feita no aplicativo Microsoft® Excel 2002. A estatística descritiva forneceu a distribuição da **Ox**, **Co**, **Ca** e **PP** nos diferentes tratamentos. Para comparar a distribuição de **Ox**, **Co** e **Ca**, foi usado o teste do qui-quadrado. Para comparar a **PP**, foi usado o teste de Kruskal-Wallis. Quando possível, as diferenças observadas foram avaliadas pelo teste de Dunn. O nível de significância usado foi de 5%, no primeiro subcultivo e 10%, no segundo, devido ao tamanho das amostras e a maior variabilidade dos dados obtidos neste último.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na fase **Est**, foi observado a incidência de **Ox** na região do rizoma. Entretanto, durante a repicagem, observou-se que esta ocorreu superficialmente e não atingiu porções internas do tecido, sendo facilmente removida. Resultados similares foram obtidos por Mendes et al (1999), na cv. Maçã. Na fase **Mult**, houve redução na incidência de **Ox**. Pelo qui-quadrado, as proporções observadas nos tratamentos não diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ). A oxidação não foi limitante ao cultivo *in vitro* da cv. Caipira, devido ao caráter superficial observado. Entretanto, no primeiro subcultivo da fase **Mult**, no tratamento **T3**, foi observada a necrose em uma repetição (tabela 1).

Tabela 1. Distribuição da incidência de **Ox**, na fase de multiplicação. Os valores entre parênteses correspondem aos percentuais observados. O total, em cada subcultivo, corresponde ao número de repetições avaliadas em cada tratamento.

Tratamento	1º Subcultivo		2º Subcultivo	
	Incidência*	Total	Incidência	Total
<b>T1</b>	3 (75)	4	4 (100)	4
<b>T2</b>	4 (100)	4	4 (100)	4
<b>T3</b>	4 (100)	4	3 (100)	3
<b>T4</b>	4 (100)	4	4 (100)	4
<b>Total</b>	<b>15 (93,75)</b>	<b>16</b>	<b>15 (100)</b>	<b>15</b>

\*As proporções observadas não diferem significativamente entre os tratamentos, segundo o Teste do  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

Não foi observada a incidência de **Co**. Isso pode estar relacionado aos métodos usados na coleta, transporte e preparo do material, bem como à destreza na manipulação. Esses métodos foram adaptados de Souza & Junghans (2006) e Oliveira & Melo (1998).

Braga et al (2001) obtiveram taxa de 74,7% de contaminação na fase de estabelecimento. Os autores não relataram as condições de coleta e transporte dos explantes, ou a concentração e o período de exposição ao HClONa na desinfestação.

A incidência de **Ca** foi observada apenas na região do rizoma e na fase **Mult**. Esta variou entre 0 e 100%, entre os tratamentos. Pelo qui-quadrado, as proporções observadas não diferiram, significativamente, entre si ( $p < 0,05$ ) (tabela 2). Assim, os tratamentos não estimularam maior ou menor incidência de **Ca**. A calogênese pode levar a ocorrência de variantes somaclonais. Por isso, como medida preventiva, a cada subcultivo, é realizada a remoção do tecido calogênico, conforme o procedimento de Braga et al (2001).

Tabela 2. Distribuição da incidência de **Ca**, na fase de multiplicação. Os valores entre parênteses correspondem aos percentuais observados. O total, em cada subcultivo, corresponde ao número de repetições avaliadas em cada tratamento.

Tratamento	1º Subcultivo		2º Subcultivo	
	Incidência*	Total	Incidência*	Total
<b>T1</b>	3 (75)	4	-- --	4
<b>T2</b>	3 (75)	4	2 (50)	4
<b>T3</b>	1 (25)	4	1 (33,33)	3
<b>T4</b>	4 (100)	4	2 (50)	4
<b>Total</b>	<b>11 (68,75)</b>	<b>16</b>	<b>5 (33,33)</b>	<b>15</b>

\*As proporções observadas não diferem significativamente entre os tratamentos, segundo o Teste do  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

Na fase **Est**, foi observada uma coloração esverdeada superficial no pseudocaule, mas não a incidência de morfogênese. Diversos trabalhos relatam uma baixa morfogênese durante o estabelecimento de cultivares de bananeira (Braga et al, 2001; Mendes et al, 1999).

A **PP** foi observada a partir da fase **Mult**. Pelo teste de Kruskal-Wallis, houve diferenças entre os tratamentos, em ambos os subcultivos ( $p \geq 0,05; p \geq 0,10$ ). O teste de Dunn indicou que os tratamentos **T3** e **T4** estimularam uma maior **PP**, no primeiro subcultivo (tabela 3). No tratamento **T4**, após vinte e oito dias do segundo subcultivo, os propágulos foram, em geral, menores que 0,5cm, enquanto que, no tratamento **T3**, os propágulos tinham entre 0,5-1,5cm (Figura 1). Assim, o tratamento **T3** apresentou resultado promissor, em relação à proliferação e altura dos propágulos. Entretanto, observou-se, também, uma maior variabilidade entre as famílias no **T3**. Segundo Mendes et al (1999), em cultivares de bananeira, a **PP** é influenciada por características individuais dos explantes iniciais.

Tabela 3. Comparação da **PP**, na cv. Caipira, em função dos tratamentos avaliados. T1: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T2: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T3: 2,5mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T4: 2,5mg.L<sup>-1</sup> x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP.

Famílias*	1º Subcultivo				2º Subcultivo				Taxa de multiplicação**			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	0	0	0	0	2	4	--	12	--	--	--	--
2	0	0	1	0	7	8	6	8	--	--	6	--
3	0	0	2	3	3	1	9	6	--	--	4,5	2
4	0	0	4	6	5	3	15	7	--	--	3,75	1,17
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>17</b>	<b>16</b>	<b>30</b>	<b>33</b>	<b>--</b>	<b>--</b>	<b>4,29</b>	<b>3,67</b>
Tamanho (n)	4	4	4	4	4	4	3	4				
PP média (x) <sup>1</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,75 <sup>b</sup>	2,25 <sup>ab</sup>	4,25	4	10	8,25				
Desvio padrão (DP)	0	0	1,71	2,87	2,22	2,94	4,58	2,63				
PP média total	2,12	2	5,87	5,25	*Grupo de indivíduos provenientes de um mesmo explante inicial.				**Razão entre nº de propags. do 2º subc e nº de propags. do 1º subc.			

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo Teste de Dunn ( $\alpha=5\%$ ).

Diante disso, observou-se que o material proveniente da dose de  $2,5\text{mg.L}^{-1}$  BAP apresentou uma maior proliferação *in vitro*. Os explantes estabelecidos em  $2,5\text{mg.L}^{-1}$  BAP e subcultivados em  $4,5\text{mg.L}^{-1}$  e  $5\text{mg.L}^{-1}$  BAP obtiveram uma média de 5,87 e 5,25 propágulos por frasco, respectivamente. Braga et al (2001), observaram uma média de 3,15 propágulos por frasco nos dois primeiros subcultivos da multiplicação.



Figura 1. Aspecto geral de propágulos da cv. Caipira aos trinta (A) e sessenta dias (B) da fase de multiplicação. T1:  $0\text{mg.L}^{-1}$ BAP x  $4,5\text{mg.L}^{-1}$ BAP; T2:  $0\text{mg.L}^{-1}$ BAP x  $5\text{mg.L}^{-1}$ BAP; T3:  $2,5\text{mg.L}^{-1}$ BAP x  $4,5\text{mg.L}^{-1}$ BAP; T4:  $2,5\text{mg.L}^{-1}$  x  $5\text{mg.L}^{-1}$ BAP. Barra: 1cm.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que, em geral, a incidência de oxidação foi superficial e se restringiu a região de rizoma dos explantes. A ausência de contaminação é um indicativo de que os procedimentos empregados, da coleta a desinfestação, tiveram alta eficácia no controle da contaminação *in vitro* na cv. Caipira. A resposta morfogênica obtida está dentro espectro de respostas de cultivares de bananeira encontrado na literatura. Quanto à proliferação de propágulos, a administração de  $2,5\text{mg.L}^{-1}$  BAP no estabelecimento e  $4,5\text{mg.L}^{-1}$  BAP na multiplicação apresentou resultados positivos e promissores, em relação ao encontrado na literatura para a cv. Caipira. Como perspectivas, acompanhar-se-á as etapas seguintes da micropropagação, a fim de avaliar a dinâmica da multiplicação *in vitro* da cv. Caipira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORGES, A.L.; SOUZA, L.S., eds. **O cultivo da bananeira: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 2004. 279p.
- BRAGA, M.F.; SÀ, M.E.L.; MUSTAFÁ, P.C. Avaliação de protocolo para multiplicação *in vitro* de bananeira (*Musa sp.*) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 215- 219, 2001.
- MENDES, B.M.J.; FILIPPI, S.B.; DEMÉTRIO, C.G.B.; RODRIGUEZ, A.P.M. A statistical approach to study the dynamics of micropropagation rates, using banana (*Musa spp.*) as an example. **Plant Cell Reports**, v.18, p: 967-971, 1999.
- SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G., eds. **Introdução a micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 2006. 152p.
- OLIVEIRA, R.P.; MELO, N.F. Produção comercial de mudas de bananeira em laboratórios de cultura de tecidos. **Biotecnologia em foco**, s.v., n.11, 1998.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A, eds.. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. 509p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa spp.*; cv. Caipira; citocinina; multiplicação *in vitro*.

## Resposta da cv. Tropical (*Musa spp.*, grupo AAAB) a diferentes doses de BAP nas fases de estabelecimento e multiplicação da micropropagação.

Brito, Lucila Karla Felix Lima de<sup>1</sup>; Farias, MarluCIA Elias de<sup>2</sup>; Dutra, Maria de Fátima Batista<sup>3</sup>; Pereira, Edilma da Costa<sup>4</sup>; Macedo, Cristiane Elizabeth Costa de<sup>5</sup>; Oliveira, José Flamarion de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Técnico de nível superior (NS) da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN) - Laboratório de Biotecnologia Vegetal, R. Jaguarari, 2192 - CP 188, CEP 59062-500, Lagoa Nova, Natal, RN, fone/fax (84) 3232-2286/3232-5868, e-mail: [lucilaemparn@rn.gov.br](mailto:lucilaemparn@rn.gov.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da EMPARN, fone (84) 3232-5850, e-mail: [marluCIAemparn@rn.gov.br](mailto:marluCIAemparn@rn.gov.br); <sup>3</sup>Técnico NS da EMPARN, e-mail: [fatimadutra@rn.gov.br](mailto:fatimadutra@rn.gov.br); <sup>4</sup>Técnico NS da EMPARN, e-mail: [edilmabiotec2007@hotmail.com](mailto:edilmabiotec2007@hotmail.com); <sup>5</sup>Professora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Centro de Biociências – Departamento de Biologia Celular e Genética – Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal, Av. Sen. Salgado Filho, s/n, Lagoa Nova, CEP 59078-970, Natal, RN, fone: (84) 3215-3424, e-mail: [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); <sup>6</sup>Pesquisador da EMPARN – Coordenação de Pesquisa e Desenvolvimento, Natal, RN, fone (84) 3232-5063, e-mail: [emparn@rn.gov.br](mailto:emparn@rn.gov.br).

### INTRODUÇÃO

A micropropagação traz benefícios à agricultura, pois viabiliza a produção de grandes quantidade de mudas, em curtos períodos, com elevado padrão fitossanitário (Torres et al, 1998). Essa técnica apresenta papel de destaque, também, na bananicultura.

Dentre as cultivares de bananeira, a cv. Maçã tem grande aceitação no Brasil. Entretanto, esta é suscetível ao mal-do-panamá e ao mal-da-sigatoka (amarela e negra). Os danos causados por esses males acarretam na redução na produtividade do bananal e, com isso, a prejuízos financeiros para o produtor (Borges et al, 2004).

Nos últimos anos, diversas cultivares têm sido desenvolvidas e, muitas destas, apresentam características de resistências a pragas e doenças. A micropropagação é uma alternativa promissora na introdução rápida dessas cultivares elite no cultivo comercial e, pode contribuir para manutenção da rentabilidade do cultivo de banana (Braga et al, 2001).

A cv. Tropical foi desenvolvida pelo CNPMF-Embrapa e apresenta resistência ao mal da sigatoka amarela e tolerância ao mal-do-panamá. Ainda, essa cultivar é classificada como tipo Maçã (Borges et al, 2004).

Na micropropagação da bananeira, a citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) é amplamente administrada em doses que podem variar entre 1 a 15mg.L<sup>-1</sup> BAP (Borges et al, 2004).

Oliveira et al (2001), trabalhando com a cv. FHIA 01 (tipo Prata, grupo AAAB), observaram uma taxa de multiplicação média de 2,65, em meio MS suplementado com 4mg.L<sup>-1</sup> BAP. Entretanto, foi observada uma taxa média de contaminação de 12,53%.

Diante do exposto, este trabalho visou avaliar a incidência de alterações (oxidação, contaminação e calogênese) e a proliferação de propágulos no cultivo *in vitro* da cv. Tropical, sob diferentes doses de BAP, durante as fases de estabelecimento e aos primeiro e segundo subcultivos da fase de multiplicação.

### METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da EMPARN, Parnamirim/RN. Perfilhos, do tipo chifre, foram coletados no Vale do Assu, em fevereiro de 2007. Após a coleta, o material foi lavado e reduzido a explantes com 15 x 7cm, os quais compreendiam a região limítrofe entre o pseudocaulo e o rizoma, onde se localiza o ápice caulinar da bananeira.

---

Trabalho financiado com recursos do Fundo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNDECI do Banco do Nordeste do Brasil – BNB, processo nº 5547 281004797 1792001.

Em seguida, o material foi acondicionado em sacos plásticos em solução de HClONa a 0,05% e levado ao laboratório, sob refrigeração. Foi, então, enxaguado e reduzido a 5 x 2cm. A desinfestação, em câmara de fluxo laminar, consistiu em: imersão em álcool etílico a 70% - 5min, imersão em HClONa a 2% - 30min; três enxágües em água destilada e esterilizada. Os explantes finais tinham dimensões de 1 X 0,5cm.

Foi usado o meio básico, adaptado de Torres et al (1998), composto por macro e micronutrientes do meio MS, vitaminas de White, 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 2g.L<sup>-1</sup> de phytigel® e 0,1g.L<sup>-1</sup> de inositol. O pH foi ajustado para 5,7. Foram usadas doses de 0 e 2,5mg.L<sup>-1</sup> de BAP no estabelecimento (**Est**) e 4,5 e 5mg.L<sup>-1</sup> de BAP na multiplicação (**Mult**). O material foi cultivado em 20ml e 40ml de meio de cultura nas fases **Est** e **Mult**, respectivamente.

A fase **Est** foi de trinta dias, com ausência de luz na primeira semana. Em seguida, cada explante foi subdividido longitudinalmente e subcultivado em frascos distintos. Na fase **Mult**, foram realizados subcultivos a cada trinta dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, esquema fatorial 2X2 (BAP na **Est** x BAP na **Mult**). Foram realizados quatro tratamentos: **T1**: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; **T2**: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP; **T3**: 2,5mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; **T4**: 2,5mg.L<sup>-1</sup> x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP. Cada tratamento constou de três a quatro repetições, sendo uma repetição correspondente a um frasco de cultura.

A avaliação foi feita a cada vinte e oito dias. Foram avaliadas a incidência de oxidação (**Ox**), contaminação (**Co**), calogênese (**Ca**) e proliferação de propágulos (**PP**), na fase **Est** e nos dois primeiros subcultivos da fase **Mult**.

A análise estatística foi feita no aplicativo Microsoft® Excel 2002. A estatística descritiva forneceu a distribuição da **Ox**, **Co**, **Ca** e **PP** nos diferentes tratamentos. Para comparar a distribuição de **Ox**, **Co** e **Ca**, foi usado o teste do qui-quadrado. Para comparar a **PP**, foi usado o teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância usado foi de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas fases **Est** e **Mult**, foi observado a incidência de **Ox** generalizada na região do rizoma e, por vezes, nas extremidades do psdeudocaulo. Entretanto, na repicagem, viu-se que esta foi superficial, de modo que não atingiu as porções mais internas do tecido. Resultado semelhante foi obtido por Mendes et al (1999), na cv. Maçã. No primeiro subcultivo da fase **Mult**, houve necrose em repetições nos tratamento **T1** e **T2** (tabela 1).

Tabela 1. Distribuição da incidência de **Ox**, na fase de multiplicação. Os valores entre parênteses correspondem aos percentuais observados. O total, em cada subcultivo, corresponde ao número de repetições avaliadas em cada tratamento.

Tratamento	1º Subcultivo		2º Subcultivo	
	Incidência	Total	Incidência	Total
<b>T1</b>	4 (100)	4	3 (100)	3
<b>T2</b>	4 (100)	4	3 (100)	3
<b>T3</b>	4 (100)	4	4 (100)	4
<b>T4</b>	4 (100)	4	4 (100)	4
<b>Total</b>	<b>16 (100)</b>	<b>16</b>	<b>14 (100)</b>	<b>14</b>

\*As proporções observadas não diferem significativamente entre os tratamentos, segundo o Teste do X<sup>2</sup> ( $p \geq 0,05$ ).

Não foi observada a incidência de **Co**, o que pode estar relacionado aos métodos usados na coleta, transporte e preparo do material, e, ainda, como à destreza na manipulação. Os métodos de assepsia foram adaptados de Souza & Junghans (2006). Oliveira et al (2001), trabalhando com o híbrido FHIA 01, observaram uma média de 22,32% de contaminação na fase de estabelecimento. De acordo com os autores, houve redução desse valor até 1,07%, na fase de enraizamento.

A incidência de **Ca** foi observada na região do rizoma, nas fases **Est** e **Mult**. Esta variou entre 66,67% e 100%, entre os tratamentos. Pelo qui-quadrado, as proporções observadas não diferiram, significativamente, entre si ( $p \geq 0,05$ ) (tabela 2). Assim, os tratamentos estimularam igualmente a incidência de **Ca**. A calogênese pode levar a

ocorrência de variantes somaclonais. Por isso, como medida preventiva, a cada subcultivo, é realizada a remoção do tecido calogênico, conforme o procedimento de Braga et al (2001).

Tabela 2. Distribuição da incidência de **Ca**, na fase de multiplicação. Os valores entre parênteses correspondem aos percentuais observados. O total, em cada subcultivo, corresponde ao número de repetições avaliadas em cada tratamento.

Tratamento	1º Subcultivo		2º Subcultivo	
	Incidência	Total	Incidência*	Total
<b>T1</b>	4 (100)	4	3 (100)	3
<b>T2</b>	4 (100)	4	2 (66,67)	3
<b>T3</b>	4 (100)	4	4 (100)	4
<b>T4</b>	4 (100)	4	4 (100)	4
<b>Total</b>	<b>16 (100)</b>	<b>16</b>	<b>13 (86,67)</b>	<b>14</b>

\*As proporções observadas não diferem significativamente entre os tratamentos, segundo o Teste do  $\chi^2$  ( $p \geq 0,05$ ).

Na fase **Est**, foi observada uma coloração esverdeada superficial no pseudocaule, mas não a incidência de morfogênese. Diversos trabalhos relatam uma baixa morfogênese durante o estabelecimento de cvs. de bananeira (Braga et al, 2001; Mendes et al, 1999).

A **PP** foi observada a partir da fase **Mult**. Pelo teste de Kruskal-Wallis, houve diferença entre os tratamentos, em ambos os subcultivos ( $p \geq 0,05$ ). Nos tratamentos **T3** e **T4**, em geral, após vinte e oito dias do segundo subcultivo, os propágulos foram menores que 0,5cm (Figura 1). Assim, os tratamentos **T3** e **T4** apresentaram os resultados mais promissores, em relação à proliferação. Nestes, a taxa de multiplicação média foi de 3,5 e 3,13, respectivamente (tabela 3). Oliveira et al (2001), observaram, no híbrido FHIA 01, que a dose de 4mg.L<sup>-1</sup>BAP estimulou uma taxa de 1,56 e 4,56 nos primeiro e no segundo subcultivos, respectivamente. Esse híbrido, assim como a cv. Tropical, é um genótipo tetraplóide, do grupo AAAB.

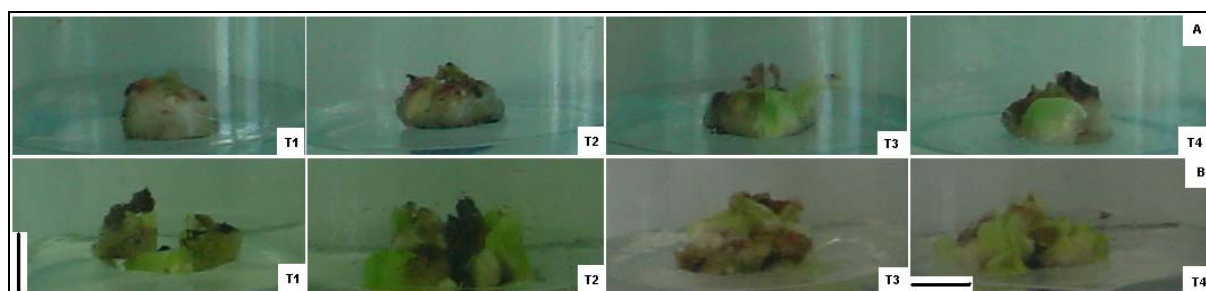


Figura 1. Aspecto geral de propágulos da cv. Tropical aos trinta (A) e sessenta dias (B) da fase de multiplicação. T1: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T2: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T3: 2,5mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T4: 2,5mg.L<sup>-1</sup> x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP. Barra: 1cm.

No entanto, Oliveira et al (2001) observaram menor variabilidade na resposta das famílias e a altura dos propágulos maiores que o obtido neste experimento. Na micropropagação da bananeira, a proliferação de propágulos é, também, influenciada por características individuais dos explantes iniciais (Mendes et al, 1999) e a altura dos propágulos pode interferir na eficiência do enraizamento (Oliveira et al, 2001).

Tabela 3. Comparação da **PP**, na cv. Tropical, em função dos tratamentos avaliados. Os valores entre parênteses correspondem às taxas de multiplicação observadas. T1: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T2: 0mg.L<sup>-1</sup>BAP x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T3: 2,5mg.L<sup>-1</sup>BAP x 4,5mg.L<sup>-1</sup>BAP; T4: 2,5mg.L<sup>-1</sup> x 5mg.L<sup>-1</sup>BAP.

Famílias* <sup>1</sup>	1º Subcultivo				2º Subcultivo				Tx. de multiplicação** <sub>média</sub>			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	0--	0--	0--	2(2)	4(4)	---	4(4)	7(7)	2	--	2	4,5
2	0--	0--	1(1)	0--	4(4)	5(5)	7(7)	4(4)	2	2,5	4	2
3	0--	0--	0--	1(1)	---	1(1)	6(6)	6(6)	--	0,5	3	3,5
4	0--	0--	1(1)	0--	3(3)	1(1)	9(9)	5(5)	1,5	0,5	5	2,5
Total	0--	0--	2(0,5)	3(0,75)	11(2,75)	7(1,75)	26(6,5)	22(5,5)	1,38	0,88	3,5	3,13
Tamanho (n)	4	4	4	4	3	3	4	4	** Razão entre o n <sup>o</sup>			
PP <sub>média</sub>	0	0	0,5	0,75	3,67	2,33	6,5	5,5	propags. e o n <sup>o</sup> .			
Desvio Padrão	0	0	0,58	0,98	1,89	2,22	2,08	1,29	inicial de explantes.			
PP <sub>média</sub> Total	1,83	1,17	3,5	3,13	*Grupo de indivíduos provenientes de um mesmo explante inicial.							

<sup>1</sup>Em cada tratamento foi empregado famílias distintas.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que, em geral, a cv. Tropical apresentou suscetibilidade à oxidação. Com base na ausência de contaminação, os procedimentos empregados, da coleta a desinfestação, foram eficientes no controle da contaminação. A incidência de calogênese observada requer o emprego de procedimentos preventivos, para o controle da variação somaclonal. Quanto à proliferação de propágulos, as taxas de multiplicação obtidas em explantes cultivados em 2,5mg.L<sup>-1</sup> BAP no estabelecimento e 4,5/5mg.L<sup>-1</sup> BAP indicam uma boa resposta da cv. Tropical a micropropagação. No entanto, houve desuniformidade na resposta dos explantes e, em geral, os propágulos apresentaram dimensões reduzidas. Como perspectivas, acompanhar-se-á as etapas seguintes da micropropagação, a fim de avaliar a dinâmica da multiplicação *in vitro* e da dimensão dos propágulos na cv. Tropical.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, A.L.; SOUZA, L.S., eds. **O cultivo da bananeira: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 2004. 279p.

BRAGA, M.F.; SÀ, M.E.L.; MUSTAFÁ, P.C. Avaliação de protocolo para multiplicação *in vitro* de bananeira (*Musa sp.*) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 215- 219, 2001.

MENDES, B.M.J.; FILIPPI, S.B.; DEMÉTRIO, C.G.B.; RODRIGUEZ, A.P.M. A statistical approach to study the dynamics of micropropagation rates, using banana (*Musa spp.*) as an example. **Plant Cell Reports**, v.18, p: 967-971, 1999.

OLIVEIRA, R.P.; SILVEIRA, D.G.; SILVA, S.O. Concentração de BAP e a eficiência de micropropagação de bananeira tetraplóide (grupo AAAB). **Scientia Agrícola**. v.58, n.1, p:73-78, 2001.

SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G., eds. **Introdução a micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 2006. 152p.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A, eds.. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. 509p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa spp.*; cv. Tropical; citocinina; multiplicação *in vitro*.



## Efeito de diferentes concentrações de AIB na multiplicação *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes.

Emrich, Eduardo Bucsan<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>3</sup>, Figueiredo, Milene Alves de<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduando de Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e-mail: [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorandas em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas CNPq e CAPES, e-mail: [fernandapereirasoares@yahoo.com.br](mailto:fernandapereirasoares@yahoo.com.br), [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br), [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), espécie arbórea nativa do Cerrado, apresenta um grande potencial como planta frutífera e na recuperação de áreas degradadas (Vieira Neto, 1994).

O estabelecimento de plantios comerciais da espécie tem sido dificultado pelo curto período de armazenamento das sementes e pelo insucesso da sua propagação assexuada pelos métodos tradicionais.

Neste contexto, a micropropagação surge como uma alternativa a ser utilizada, com a finalidade de obtenção de um grande número de plantas uniformes, independente da época do ano (Borthakur, et al., 1999).

Segundo Bonga (1985), por ser de manipulação relativamente fácil, principalmente devido ao tamanho do explante utilizado, e por originar plantas, em geral, geneticamente mais estáveis, a proliferação de gemas axilares é a técnica mais utilizada para a multiplicação *in vitro* de plantas lenhosas, como a mangabeira.

De acordo com Sano & Almeida (1998), observam-se diversos padrões de multiplicação, dependendo da espécie cultivada. Entretanto, quanto maior o número de brotos, menor será o seu comprimento. A vantagem de se obter brotos normais e alongados (maiores do que 1,5 cm) é que esses enraízam mais facilmente do que brotos curtos.

O crescimento e a organogênese *in vitro* são altamente dependentes da interação entre as substâncias de crescimento que ocorrem naturalmente na planta (hormônios) e os análogos sintéticos (reguladores de crescimento), os quais são adicionados ao meio de cultura (George, 1996).

Quoirin & Lepoivre (1977) constataram que, embora nem sempre as auxinas sejam necessárias no meio de multiplicação, essa classe de reguladores é usada com o intuito de estimular o crescimento das partes aéreas. De acordo com Lundergan & Janick (1979), a presença de uma auxina no meio de multiplicação anula o efeito inibitório das citocininas sobre o alongamento dos explantes. Dentre as auxinas mais usadas nos meios de multiplicação, destacam-se ANA (ácido naftalenoacético), AIB (ácido indolbutírico) e AIA (ácido indolacético).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes concentrações de AIB no processo de multiplicação *in vitro* de mangabeira.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no ano de 2006.

Plantas de mangabeira germinadas *in vitro* foram utilizadas como fonte de explantes. Segmentos caulinares contendo até duas gemas laterais foram inoculados em meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1980) suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e diferentes concentrações de AIB (0,0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>). Foram utilizados 3% de sacarose e



0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C de temperatura, irradiância de 36  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados o número de brotações, gemas e folhas por explante e o comprimento da maior brotação, aos 35 dias de cultivo.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio contendo um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

As médias referentes ao número de brotações, gemas e folhas e ao comprimento do maior broto foram comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não ocorreu efeito significativo da adição da auxina AIB ao meio de cultura suplementado com BAP para as variáveis avaliadas.

A formação de brotações foi verificada em todos os tratamentos testados (Figura 1).

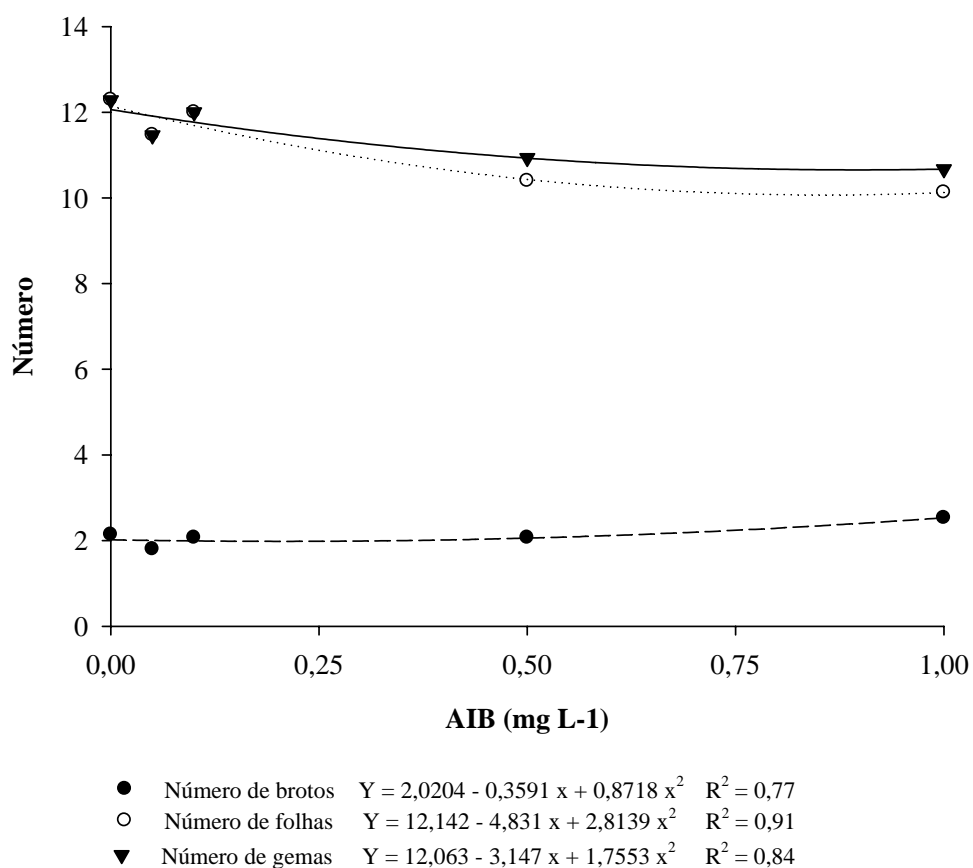


FIGURA 1. Número médio de brotos, folhas e gemas nos explantes caulinares de mangabeira para cada concentração de AIB (0,0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

A média do número de brotos formados permaneceu próxima a 2,0 por explante.

Maior número de gemas e folhas (12,29 e 12,28, respectivamente), apesar da não significância, foram observados em explantes caulinares cultivados na presença da citocinina BAP, sem a suplementação de AIB. Os menores valores foram verificados quando a auxina foi adicionada ao meio de cultura na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup>.

Esses resultados indicam que, provavelmente, os explantes caulinares de mangabeira, possuem uma concentração endógena de auxina satisfatória para a fase de multiplicação.

Para o comprimento da maior brotação, o maior valor médio (4,27 cm) foi obtido em explantes caulinares cultivados em meio nutritivo suplementado com BAP e 0,1 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Em concentrações acima desta, uma tendência de queda no comprimento dos brotos foi verificada (Figura 2).

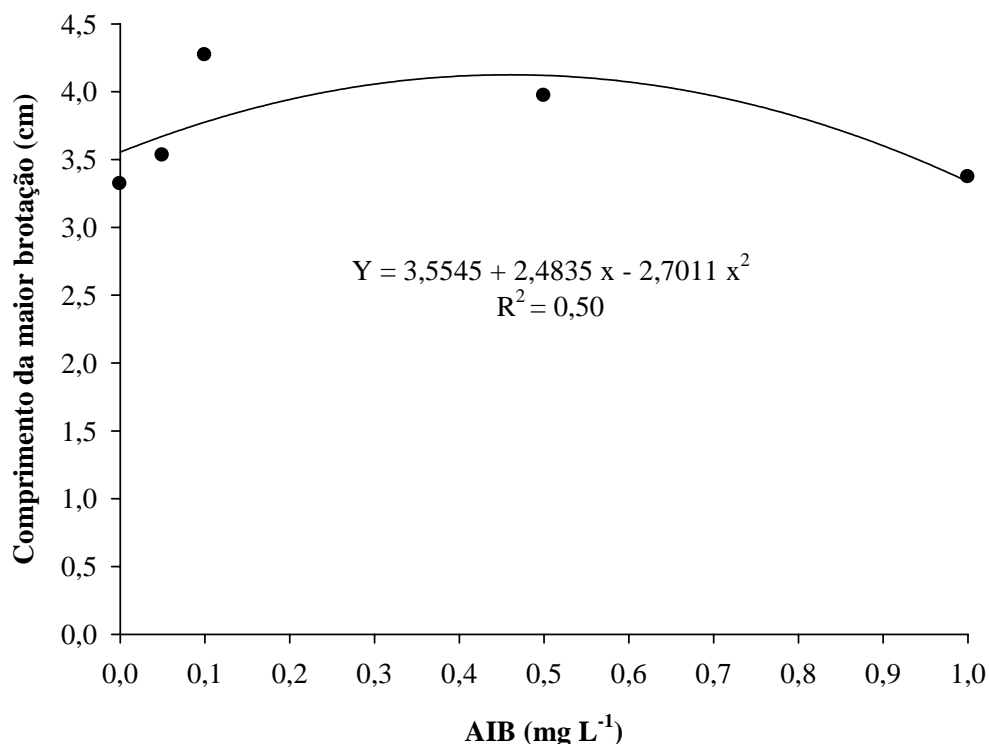


FIGURA 2. Comprimento médio da maior brotação formada nos explantes caulinares de mangabeira, para cada concentração de AIB (0,0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

Segundo Quoirin & Lepoivre (1977), apesar das auxinas, em alguns casos, serem necessárias para a obtenção de melhores resultados na fase de multiplicação, devem ser adicionadas ao meio de cultura em concentrações baixas.

## CONCLUSÃO

O AIB, adicionado ao meio de cultura WPM acrescido de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, não altera significativamente o padrão de multiplicação *in vitro* de mangabeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONGA, J.M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J.M., DURZAN, D.J. **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p.4-35.

BORTHAKUR, M.; HAZARIKA, J.; SINGH, R. S. A protocol for micropropagation of *Alpinia galanga*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 3, p. 231-233, 1998.

FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 1999.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 1 - The technology. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.

LUNDERGAN, C.; JANICK, J. Low temperature storage of *in vitro* apple shoots. **HortScience**, Alexandria, v. 14, p.514, 1979.

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Étude de milieux adaptés aux cultures *in vitro* de *Prunus*. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 78, p.437-442, 1977.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

VIEIRA NETO, R. D. **Cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1994. 16 p. (Circular Técnica, 02).

## PALAVRAS-CHAVE

*Hancornia speciosa*; micropropagação; organogênese; auxinas.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à CAPES.

## Indução de calos em embriões de mangabeira

Emrich, Eduardo Bucsan<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>3</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduando de Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e-mail: [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorandas em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas CNPq e CAPES, e-mail: [fernandapereirasoares@yahoo.com.br](mailto:fernandapereirasoares@yahoo.com.br), [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br), [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), espécie arbórea do Cerrado, apresenta grande potencial como planta frutífera e produtora de borracha. No entanto, com a inexistência de plantios racionais e tecnificados, o extrativismo é, atualmente, sua única forma de exploração, constituindo-se, assim, numa grande barreira para o aproveitamento de todas as suas potencialidades.

Sua propagação sexuada se caracteriza, assim como para outras espécies, por produzir indivíduos heterogêneos. Estudos indicam ainda, que suas sementes são extremamente recalcitrantes, o que tem limitado a obtenção de mudas destinadas à implantação de pomares comerciais.

A propagação vegetativa por meio de estaquia e enxertia, para a mangabeira, ainda não se consolidou como uma técnica viável, enquanto técnicas de cultivo *in vitro* têm se mostrado bastante eficientes (Soares, 2005). Várias são as modalidades de cultura de tecidos, podendo ser por via direta, pelo desenvolvimento de novos órgãos diretamente do explante ou indireta, via cultura de calos.

Calo é um grupo ou massa de células vegetais com crescimento desordenado, as quais podem apresentar certo grau de diferenciação (Torres et al., 2000). Essa massa de células, segundo George (1993), desenvolve-se em resposta a injúrias físicas ou químicas.

De acordo com Grattapaglia & Machado (1998), para ocorrer a indução do calo, qualquer tecido pode ser utilizado como explante. Entretanto, procura-se utilizar aqueles que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que apresentem maior capacidade de expressar a totipotência.

Vietez & San-José (1996) afirmam que, muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a indução de calos. Essa indução é regulada pela interação e balanço entre os reguladores sintéticos fornecidos e os hormônios produzidos internamente pelo explante.

O balanço auxina/citocinina é, na maioria das vezes, determinante na calogênese. Dentre os reguladores de crescimento mais utilizados na indução de calos destacam-se o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), ANA (ácido naftalenoacético), BAP (6-benzilaminopurina) e, mais recentemente, o TDZ (thidiazuron).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na indução de calos em embriões de mangabeira.

## MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de mangabeira foram coletados de populações naturais localizadas no município de Pitangui, região Centro-Oeste do estado de Minas Gerais e, trazidos para o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Para a retirada das sementes, os frutos passaram por processo de beneficiamento, com retirada da polpa e lavagem em água corrente com auxílio de peneira por 10 minutos. Ao final deste tempo, as sementes foram lavadas em água destilada e autoclavada e tiveram seus tegumentos retirados. Posteriormente, foram novamente imersas em solução de NaOCl com 1% de cloro ativo, onde permaneceram por mais 10 minutos e lavadas 5

vezes em água destilada e autoclavada. Os embriões foram retirados com auxílio de estilete e inoculados nos diferentes tratamentos.

O meio de cultura utilizado foi o WPM (Lloyd & McCown, 1980), suplementado com diferentes concentrações de 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). Foram utilizados 3% de sacarose e 0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os embriões foram mantidos em sala de crescimento, no escuro, sob temperatura de 25±2°C. A avaliação foi realizada aos 45 dias de incubação, sendo observada a percentagem de embriões com calos em cada tratamento.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio contendo um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na ausência do regulador de crescimento 2,4-D a formação de calos nos embriões de mangabeira foi mínima (Figura 1).

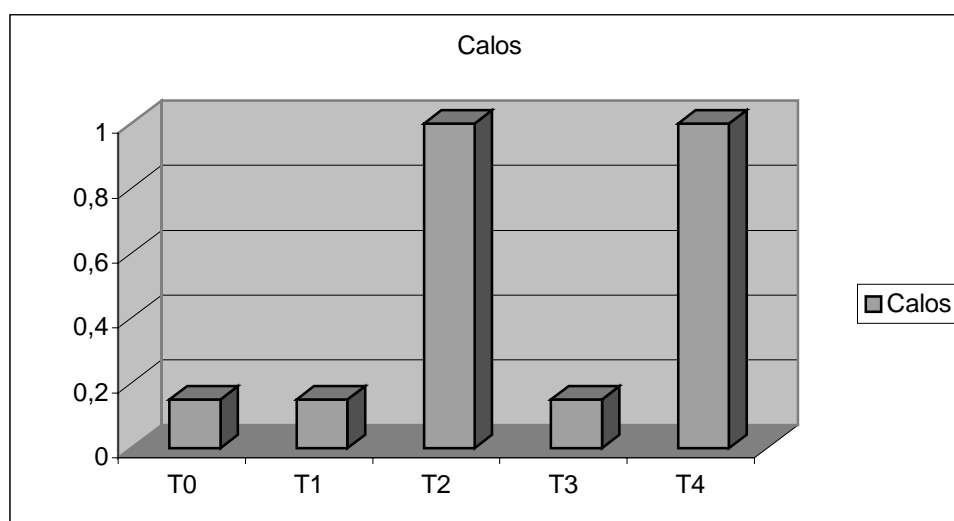


FIGURA 1. Percentagem de embriões de mangabeira cobertos por calos em meio WPM suplementado com diferentes concentrações de 2,4-D (0,0 – T0; 1,0 – T1; 2,0 – T2; 3,0 – T3; 4,0 mg L<sup>-1</sup> - T4).

Este resultado corrobora com estudos realizados por Deccetti (2000) e Soares (2005), que reportam a ausência de calos em *Annona glabra* L. e *Hancornia speciosa* Gomes, quando o 2,4-D não estava presente no meio de cultura.

A essencialidade do 2,4-D na indução de calos tem sido relatada na literatura para várias espécies (Lee et al., 2001; Soares, 2005).

Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o 2,4-D tende a estimular a formação de calos em diferentes explantes. Este fitorregulador apresenta efeito no metabolismo do RNA, induzindo a transcrição de RNAs mensageiros capazes de codificar proteínas requisitadas para o crescimento e que podem induzir a proliferação celular desordenada, ou seja, a calogênese (George, 1993).

A maior percentagem de embriões de mangabeira com calos foi verificada com a utilização das concentrações de 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D.

Kononowicz et al. (1984), ao contrário, estudando a calogênese em embriões zigóticos de cacau, observou escurecimento e morte de calos quando estes foram cultivados em meio de cultura suplementado com concentrações de 2,4-D acima de 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

## CONCLUSÃO

A adição de 2,4-D ao meio de cultura é uma condição necessária para a indução de calos em embriões de mangabeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DECETTI, S. F. C. **Propagação *in vitro* de *Annona glabra* L.** 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados.** Lavras: UFLA, 1999.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** Part 1 - The technology. Edington: Exegetics, 1993. 574 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.
- KONONOWICZ, H.; KONONOWIZ, A. K.; JANICK, J. Assexual embryogenesis via callus of *Theobroma cacao*. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 113, n. 4, p. 347-358, 1984.
- LEE, E. K.; CHO, D. Y.; SOH, W. Y. Enhanced production and germination of somatic embryos by temporary starvation in tissue cultures of *Daucus carota*, **Plant Cell Reports**, 20 : 408 – 415. 2001.
- LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.
- SOARES, F. P. **Aspectos do cultivo *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).** 2005. 121 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A.; SÁ, M. F. G. de; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M. de M; PINHO, E. R. C. **Glossário de biotecnologia vegetal.** Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2000. 128 p.
- VIETEZ, A. M.; SAN-JOSÉ, M. C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In vitro Cellular & Developmental Biology**, Columbia, v. 32, n. 3, p. 140-147, July/Sept. 1996.

## PALAVRAS-CHAVES

*Hancornia speciosa*; calogênese; cultura de tecidos; 2,4-D.

## Concentrações de cinetina na indução de brotações *in vitro* de mangabeira

Emrich, Eduardo Bucsan<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>3</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>3</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>3</sup>; Vitor, Stephania Maíra Machado<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Graduando de Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e-mail: [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorandas em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas CNPq e CAPES, e-mail: [fernandapereirasoares@yahoo.com.br](mailto:fernandapereirasoares@yahoo.com.br), [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br), [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Bolsista Apoio técnico – CNPq (UFLA).

### INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), espécie da família *Apocynaceae*, é uma planta silvestre que vegeta espontaneamente desde os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do Nordeste, até as áreas de cerrado na região central do Brasil. Possui grande importância econômica como espécie frutífera e na recuperação de áreas degradadas (Vieira Neto, 1994).

Sua propagação sexuada se caracteriza, assim como para outras espécies, por produzir indivíduos heterogêneos. Estudos indicam ainda, que suas sementes são extremamente recalcitrantes, o que tem limitado a obtenção de mudas destinadas à implantação de pomares comerciais.

A propagação vegetativa por meio de estaquia e enxertia, para a mangabeira, ainda não se consolidou como uma técnica viável, enquanto técnicas de cultivo *in vitro* têm se mostrado bastante eficientes (Soares, 2005). Dentre estas, a micropropagação tem grande aplicação prática na área de produção comercial vegetal. Sua utilização permite obter plantas com o mesmo genótipo, em larga escala e em curto espaço de tempo, a partir de pequenos fragmentos de tecidos.

Dentre os fatores que controlam a morfogênese *in vitro*, destacam-se os reguladores de crescimento. As citocininas, juntamente com as auxinas, são as classes mais utilizadas. De acordo com Grattapaglia & Machado (1998), para o sucesso da multiplicação *in vitro*, o tipo de citocinina e a sua concentração são os fatores mais importantes a serem observados.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes concentrações de cinetina na indução de brotações *in vitro* de mangabeira.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de mangabeira germinadas *in vitro* foram utilizadas como fonte de explantes. Segmentos caulinares contendo até duas gemas laterais foram inoculados em meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1980), suplementado com diferentes concentrações de cinetina (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). Foram utilizados 3% de sacarose e 0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C de temperatura, irradiância de 36 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados o número de brotações, nós e folhas por explante e o comprimento da maior brotação, aos 30 dias de cultivo.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio com um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve formação de brotações em todos os tratamentos testados (Figura 1), mesmo na ausência do regulador de crescimento. Entretanto, a adição de cinetina ao meio de cultura proporcionou aumento do número de novos brotos formados por explante.

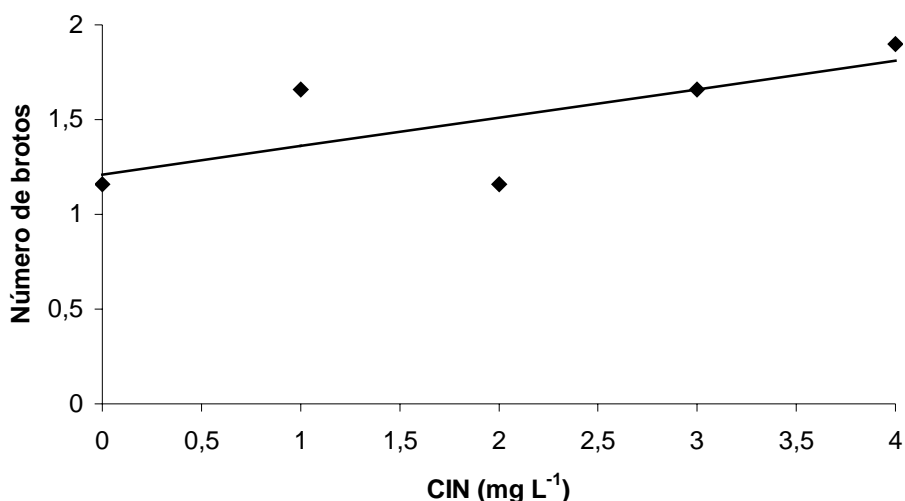


FIGURA 1. Número médio de brotos nos explantes caulinares de mangabeira para cada concentração de cinetina (CIN) (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM.

A maior média observada foi de 1,9 brotações, para explantes cultivados na concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina.

Fráguas et al. (2004) verificaram maior produção de brotos em explantes caulinares de *Ficus carica* quando adicionaram ao meio de cultura 2,45 mg L<sup>-1</sup> de cinetina.

Quanto ao número de nós, o valor máximo foi verificado na presença de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina (3,09 nós por explante) (Figura 2).

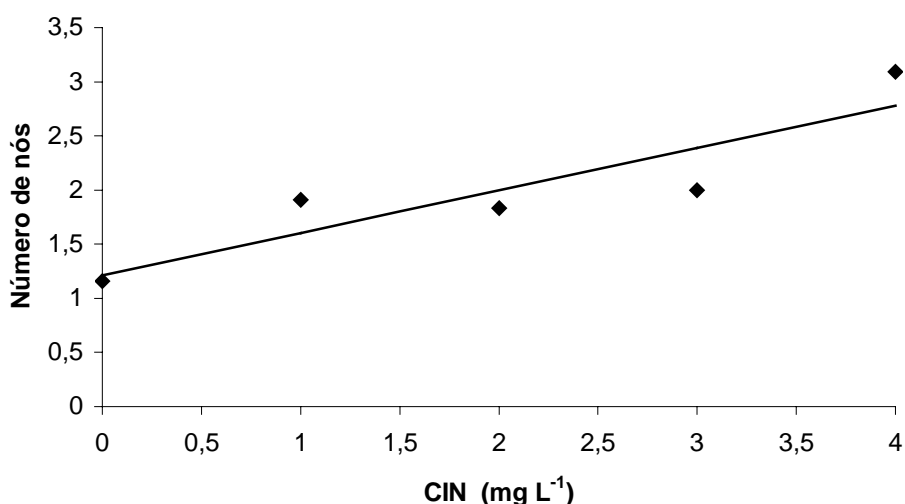


FIGURA 2. Número médio de nós nos explantes caulinares de mangabeira para cada concentração de cinetina (CIN) (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM.

O efeito das diferentes concentrações de cinetina sobre o tamanho da maior brotação formada foi significativo.



O maior comprimento das brotações, 2,32 cm, foi verificado no tratamento com 4,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina (Figura 3).

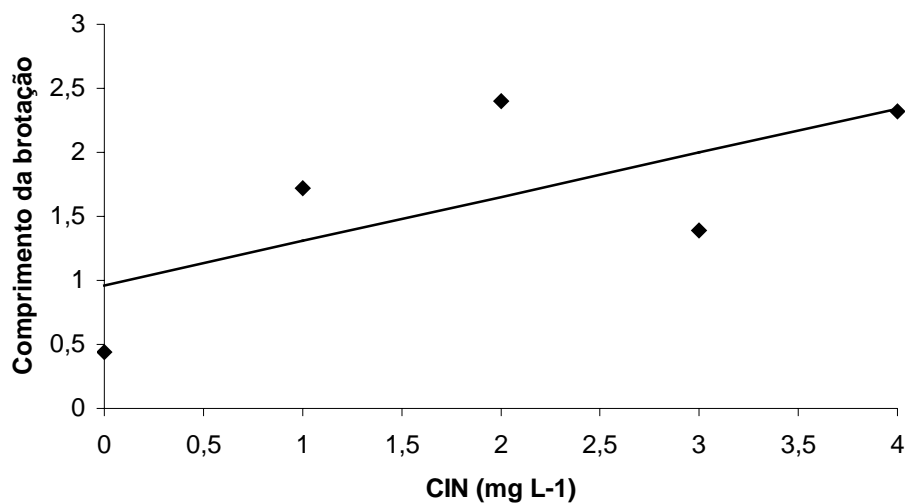


FIGURA 3. Comprimento médio da maior brotação nos explantes caulinares de mangabeira para cada concentração de cinetina (CIN) (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM.

A formação de maior número de folhas também foi observada quando a cinetina foi adicionada ao meio de cultura na concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup> (6,09 folhas por explante). (Figura 4).

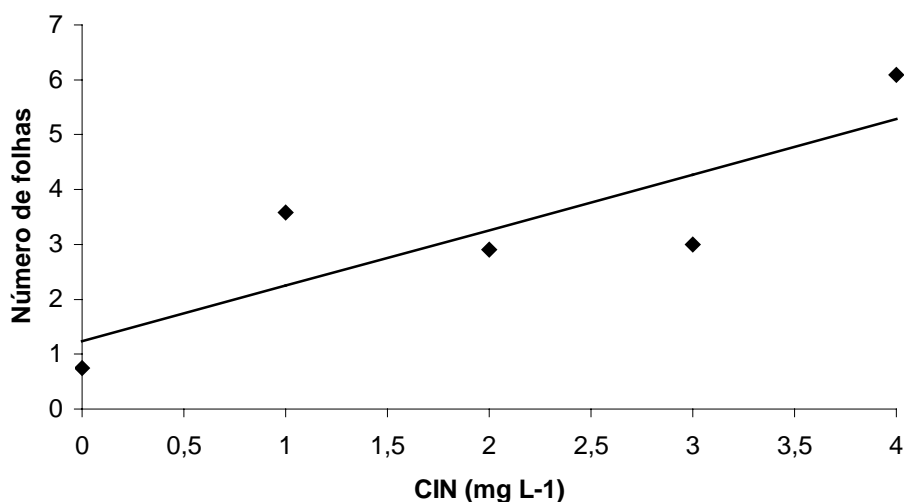


FIGURA 4. Número médio de folhas nos explantes caulinares de mangabeira para cada concentração de cinetina (CIN) (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) acrescentada ao meio de cultura WPM.

Por se constituírem nos órgãos responsáveis pela captação de energia e pela produção de matéria orgânica, a presença de folhas é característica importante das plantas cultivadas *in vitro* para a aclimatização e, possivelmente, mudas com maior número de folhas apresentem maiores índices de pegamento em campo.

## CONCLUSÃO

Cinetina, adicionada ao meio de cultura WPM na concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup>, promove maior taxa de multiplicação de brotações em mangabeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 1999.

FRÁGUAS, C. B.; PASQUAL, M.; PEREIRA, A. R. Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 28, n.1, p. 49-55, 2004.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.

SOARES, F. P. **Aspectos do cultivo *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2005. 121 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIEIRA NETO, R. D. **Cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1994. 16 p. (Circular Técnica, 02).

## PALAVRAS-CHAVES

*Hancornia speciosa*; micropropagação; cultura de tecidos; organogênese.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à CAPES.

## Aspectos nutricionais do meio e influência da divisão longitudinal da brotação sobre o enraizamento *in vitro* de cultivares de bananeira<sup>1</sup>.

Oliveira, Elizângela Barbosa de Lima<sup>2</sup>; Oliveira, Janiffe Peres de<sup>3</sup>; Schmitz, Gottfried<sup>4</sup>; Alves, Luciene da Silva<sup>4</sup>; Maciel, Simone de Alencar<sup>2</sup>; Pereira, Jonny, Everson Scherwinski<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

<sup>2</sup>Estudante de Eng. Agrônômica, bolsista PIBIC/CNPq do LABMOL Embrapa Acre; <sup>3</sup>Mestranda em Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC; <sup>4</sup>Bolsistas DTI/CNPq/Embrapa Acre.

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular - LABMOL, Rodovia BR 364, km 14, C.P. 321, 69908-970 Rio Branco – AC, e-mail: [jonny@cpafac.embrapa.br](mailto:jonny@cpafac.embrapa.br).

### INTRODUÇÃO

A banana é uma das frutas mais importantes e consumidas no mundo, apresentando grande relevância no que se refere à produção e a comercialização (Fioravanço, 2003). Para a maioria dos países, a banana é um alimento integrante na alimentação da população de baixa renda, além de ser um alimento com alto valor nutritivo (Moura et al., 2002). No Brasil, a bananicultura está entre os principais produtos agrícolas, destacando-se em segundo lugar entre as fruteiras na predileção dos consumidores (Bernardi et al., 2004).

De modo geral, a cultura da banana no País apresenta baixo rendimento, devido à maioria dos plantios utilizarem mudas convencionais, favorecendo a disseminação de doenças e pragas (Pereira et al., 2001).

O progresso da biotecnologia tem proporcionado a produção de mudas a partir de cultura de tecidos, também conhecida como cultivo *in vitro* ou micropropagação (Costa et al., 2007). O uso desta técnica possibilita muitas vantagens em relação à produção de mudas convencionais como: elevadas taxas de multiplicação do material, garantia genética e fitossanitária das mudas, reduzido espaço físico para a produção, além de constituir uma importante ferramenta para o melhoramento genético vegetal no sentido de acelerar a multiplicação e disponibilidade de novas cultivares comercialmente (Braga et al., 2001).

Dentre as fases da micropropagação, a aclimatização é uma das mais críticas, por ser um processo em que as plantas passam do ambiente controlado *in vitro* para um ambiente natural, podendo ocasionar a morte das plantas em razão da mudança abrupta do ambiente. Neste sentido, um eficiente enraizamento *in vitro* das mudas antes destas serem aclimatizadas, é condição fundamental para a redução destes possíveis problemas.

Rotineiramente, para a produção de mudas de bananeira em laboratório, é comum o uso do meio de MS (Murashige & Skoog, 1962), normalmente com a redução dos sais do meio de cultura. Outro fator importante, mas relativamente pouco estudado, refere-se a divisão ou não da brotação no momento da sua inoculação no meio de enraizamento, uma vez que na prática pode duplicar o número de mudas e, conseqüentemente, tornar mais eficiente o processo de produção de mudas micropropagadas.

O trabalho objetivou avaliar características nutricionais do meio de cultura e a influência da divisão longitudinal do explante no enraizamento de bananeira, cvs. Maravilha e Preciosa.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular - LABMOL da Embrapa Acre, em Rio Branco-AC. Brotações das cultivares Preciosa (AAAB) e Maravilha (AAAB) foram obtidos de explantes já estabelecido *in vitro*, após seis subcultivos em meio de multiplicação. Os brotos foram transferidos

para meio MS contendo diferentes concentrações de sais: MS pleno (100% da concentração) e MS ½ (50% da concentração), com e sem carvão ativado (1,0 g.L<sup>-1</sup>).

O trabalho também avaliou a influência de se dividir longitudinalmente a brotação no momento de sua inoculação no meio de enraizamento. Os tratamentos foram dispostos conforme segue: T1 - Divisão Longitudinal (DL) + MS pleno + Carvão ativado; T2 - Sem Divisão (SD) + MS pleno + Carvão ativado; T3 - DL + MS pleno + ausência de carvão ativado; T4 - SD + MS pleno + Ausência de carvão ativado; T5 - DL + MS ½ + Carvão ativado; T6 - SD + MS ½ + Carvão ativado; T7 - DL + MS ½ + Ausência de carvão ativado; T8 - SD + MS ½ + Ausência de carvão ativado.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e seis repetições, sendo cada parcela formada por dez explantes. Após um período de 30 dias foram realizadas avaliações referentes ao desenvolvimento do material vegetativo, por meio de determinações do vigor, comprimento de raiz e parte aérea, números de raízes e taxa de sobrevivência do material. Para a variável vigor foi atribuída uma escala de notas significando: 1- plantas pouco vigorosas, 2- medianamente vigorosas, 3- altamente vigorosas. Os dados foram analisados estatisticamente, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultivar Preciosa diferiu significativamente quanto ao vigor, número de raízes e taxa de sobrevivência *in vitro*, sendo que os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos T2, T4, T6 e T8 (Tabela 1). Os tratamentos não influenciaram significativamente as variáveis comprimento da raiz e parte aérea, apresentando média geral de 7,0 e 5,7 respectivamente. Independentemente das concentrações de MS utilizadas e do carvão ativado, a não divisão das mudas formadas influenciou positivamente o vigor, número de raízes e taxa de sobrevivência, quando comparadas às que sofreram divisão longitudinal.

De modo geral, o carvão ativado não influenciou significativamente as variáveis analisadas, sendo, portanto dispensável nesta fase do cultivo *in vitro*. Este resultado está contrastante com os obtidos por Costa et al. (2006), que trabalhando com a cultivar 'Grand Naine', observou influência positiva da adição do carvão ao meio de cultura na formação das raízes desta cultivar. As hipóteses levantadas para explicar este fato são que possivelmente isto tenha ocorrido devido a concentração de carvão utilizada neste experimento ser de apenas 1g.L<sup>-1</sup>, enquanto que a usada no trabalho citado foi de 3 g.L<sup>-1</sup>. A divisão do explante também pode ter afetado o efeito do carvão ativado no enraizamento das brotações, já que os tratamentos onde foi efetuada a divisão da brotação, foram os que apresentaram o pior desempenho, independente das concentrações de sais testadas. Além disso, pode haver ainda uma resposta genética diferenciada das cultivares estudadas.

**TABELA 1.** Influência das características nutricionais do meio e divisão de explante sobre o vigor, comprimento da raiz e parte aérea, número de raízes e taxa de sobrevivência em bananeira, cv. Preciosa.

Tratamento*	Vigor	Comprimento da raiz (cm)	Comprimento da parte aérea (cm)	Nº. de raízes	Taxa de sobrevivência <i>in vitro</i> (%)
T1	1,8b	8,1a	5,8a	2,5b	70b
T2	3,0a	5,7a	6,8a	3,8a	100a
T3	1,3b	7,4a	5,2a	2,0b	75b
T4	2,3a	5,8a	6,2a	3,2a	83a
T5	1,4b	7,5a	5,4a	3,9a	53b
T6	2,0a	4,9a	6,0a	4,1a	90a
T7	1,3b	8,0a	4,5a	3,8a	70b
T8	2,0a	8,9a	5,5a	4,5a	83a

Médias seguidas da mesma letra, não diferem significativamente pelo teste Scott – Knott a 5% de probabilidade.

\* T1- Divisão Longitudinal (DL) + MS pleno + Carvão ativado; T2- Sem Divisão (SD) + MS pleno + Carvão ativado; T3- DL + MS pleno + ausência de carvão ativado; T4- SD + MS pleno + Ausência de carvão ativado; T5- DL + MS ½ + Carvão ativado; T6- SD + MS ½ + Carvão ativado; T7- DL + MS ½ + Ausência de carvão ativado; T8- SD + MS ½ + Ausência de carvão ativado.

Para a cultivar Maravilha, observou-se que, de modo geral, a adição do carvão ativado ao meio não melhorou o enraizamento das brotações. No entanto, para esta cultivar a concentração mais adequada de sais do meio foi de 100%, já que as variáveis vigor, comprimento da parte aérea e taxa de sobrevivência *in vitro* foram influenciadas negativamente quando as concentrações dos sais foram reduzidas à metade (Tabela 2). Na cultivar Maravilha foi observado que para as variáveis vigor e altura da parte aérea a concentração plena do MS proporcionou os melhores resultados, quando comparados à concentração reduzida do meio. Na concentração ½ de MS, verificou-se menor altura da parte aérea. Para a variável comprimento da raiz não se observou diferença significativa entre os tratamentos. De modo geral, a concentração ½ do meio MS foi a que proporcionou a formação de um maior número de raízes, assim como observado na cv. Preciosa.

**TABELA 2.** Influência das características nutricionais do meio e divisão de explante sobre o vigor, comprimento da raiz e parte aérea, número de raízes e taxa de sobrevivência em bananeira, cv. Preciosa.

Tratamento*	Vigor	Comprimento da raiz (cm)	Comprimento da parte aérea (cm)	Nº. de raízes	Taxa de sobrevivência <i>in vitro</i> (%)
T1	2,2a	7,1a	6,8a	2,9b	60b
T2	2,2a	5,9a	6,3a	3,1b	76a
T3	2,3a	5,9a	6,3a	3,0b	62b
T4	3,0a	5,8a	6,2a	5,0a	97a
T5	1,0b	6,4a	4,8b	4,6a	53b
T6	2,0a	6,3a	5,1b	5,6a	88a
T7	1,0b	7,2a	4,3b	5,2a	58b
T8	1,5b	7,9a	4,8b	5,2a	85a

Médias seguidas da mesma letra, não diferem significativamente pelo teste Scott – Knott a 5% de probabilidade.

\* T1 - Divisão Longitudinal (DL) + MS pleno + Carvão ativado; T2 - Sem Divisão (SD) + MS pleno + Carvão ativado; T3 - DL + MS pleno + ausência de carvão ativado; T4 - SD + MS pleno + Ausência de carvão ativado; T5 - DL + MS ½ + Carvão ativado; T6 - SD + MS ½ + Carvão ativado; T7 - DL + MS ½ + Ausência de carvão ativado; T8 - SD + MS ½ + Ausência de carvão ativado.

## CONCLUSÕES

A adição de carvão ativado ao meio de cultura não melhora o desenvolvimento das brotações durante a etapa de enraizamento *in vitro* de bananeira, cvs. Preciosa e Maravilha. Para o enraizamento de bananeiras, Cvs. Preciosa e Maravilha a realização de corte longitudinal nos explantes não é recomendada por influenciar negativamente o desenvolvimento das brotações *in vitro*. Para as duas cultivares a concentração ½ de MS foi a que promoveu a formação de um maior número de raízes. As concentrações de sais podem ser reduzidas à ½ de MS, durante a fase de

enraizamento *in vitro* das mudas micropropagadas. Brotações mais vigorosas, número de raízes e taxa de sobrevivência *in vitro* são obtidos sem a divisão das mudas. A cultivar Preciosa apresenta maior altura da parte aérea, utilizando a concentração ½ de MS.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, W. F. ; RODRIGUES, B. I. ; CASSIERE NETO, P. ; ANDO, A.; TULMANN NETO, A. ; CERAVOLO, L. C. ; MONTES, S. M. N. M. Micropropagação de baixo custo em bananeira cv. Maçã em meios com diferentes fontes de carbono e avaliação da performance em campo das mudas produzidas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.3, p.503-506, 2004.

BRAGA, M. F.; SA, M. E. L. ; SÁ, M. E. L. ; MUSTAFA, P. C. . Avaliação de protocolo para multiplicação 'in vitro'da bananeira (*Musa* sp.) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n. 02, p. 215-219, 2001.

COSTA, F. H. S. ; PEREIRA, M. A. A. ; OLIVEIRA, J. P. ; PEREIRA, J. E. S. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo *in vitro* de abacaxizeiro e bananeira. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.41-46, 2007.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado Mundial da Banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações econômicas**, v.33, n.10, out. 2003.

MOURA, J. F. L. ; VASCONCELOS, L. F. L. ; VELOSO, M. E. C. ; SOARES, E. B. ; ARAÚJO, E. C. E. Perfilamento e crescimento de perfilhos de dez cultivares de bananeira.. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém.. **Anais**. Belém: : Embrapa Amazônia Oriental/SBF, 2002. v. CD-ROM.

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

PEREIRA, L. V. ; SILVA, C.R. de R. e ; ALVARENGA, A. A. Influência do tipo de muda no comportamento vegetativo e produtivo da bananeira cv. Prata Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n.1, p.164-167, 2001.

PALAVRAS-CHAVE: *Musa* sp.; micropropagação; enraizamento; meio de cultura.

## Eficiência da cinetina na propagação *in vitro* de *Rosa* sp.<sup>1</sup>

Guedes, Rodrigo da Silva<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>3</sup>; Maciel, Simone de Alencar<sup>4</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

<sup>2</sup>Mestrando em Agronomia - Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC. E-mail: rodrigo78br@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Doutorando do Curso de Fitotecnia - UFLA, Bolsista CNPq, 37200-000 Lavras - MG; <sup>4</sup>Bolsista PIBIC/CNPq do LABMOL Embrapa Acre; <sup>5</sup>Pesquisador, Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL, C.P. 321, 69.908-970 Rio Branco, AC. e-mail: jonny@cpafac.embrapa.br

### INTRODUÇÃO

Conhecidas popularmente como as mais belas e populares representantes dentre as flores, as rosas são pertencentes à família Rosaceae Juss, compreendem o principal grupo de plantas hortícolas no mundo em termos de valor total de mercado (ESTABROOKS et al., 2007).

Rosas são geralmente multiplicadas vegetativamente por estaquia e gemas apicais. Porém este método de propagação convencional é muito lento, sendo um dos principais fatores limitantes, não assegurando plantas saudáveis e livres de doenças (ROY et al., 2004; PATI et al., 2006).

Os métodos de propagação *in vitro* são componentes essenciais para o manejo de recursos genéticos e estão se tornando cada vez mais importantes na conservação de espécies raras (BHATIA et al., 2002).

Diante disso, diversos estudos a respeito dos diferentes aspectos que envolvem a micropropagação de *Rosa hybrida* pela proliferação de gemas axilares têm sido abordados nos experimentos realizados por HORN, 1992; YAN et al. (1996), bem como na propagação e regeneração de plantas *in vitro* via calogênese e embriogênese somática (ROUT et al., 1999). A utilização de segmentos nodais como explante para a micropropagação é uma das maneiras de viabilizar a produção *in vitro* (OLIVEIRA, 1994).

Este trabalho objetivou avaliar a influência de diferentes concentrações de BAP e KIN conjugados com ANA nas taxas de multiplicação *in vitro* de *Rosa* sp. em épocas distintas de cultivo.

### METODOLOGIA

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular - LABMOL da Embrapa Acre.

Como material vegetal utilizaram-se segmentos nodais com uma gema, de brotações de mini rosas já estabelecidas *in vitro*. O meio de cultivo foi constituído pelos sais e vitaminas de MS acrescidos de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg.L<sup>-1</sup> de inositol, 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar e 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de ANA, com pH ajustado para ± 5,8 e autoclavado a 121 °C por 15 minutos em 1,3 atm de pressão. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por diferentes concentrações de N<sup>6</sup>-benzilaminopurina (BAP) e Cinetina (KIN) (0; 4,5; 9,0; 13,5 e 18 µM) e 2 duas épocas de avaliação (40 e 90 dias). O experimento foi constituído por 4 repetições e cinco segmentos nodais por parcela, inoculados em frascos com capacidade de 250 mL, contendo 30 mL de meio de cultura MS. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, radiação luminosa de 30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e temperatura de 25 ± 2°C. Decorridos 40 e 90 dias da inoculação dos explantes, avaliaram-se os seguintes fatores: altura, taxa de multiplicação e número de folhas das brotações.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa SISVAR 5.0, sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução de brotações *in vitro* ocorre pelo equilíbrio hormonal da planta ou induzido por uma concentração balanceada de reguladores de crescimento adicionada ao meio de cultura (CHAGAS et al. 2004). Neste trabalho, observaram-se diferenças significativas quando se comparou a influência das concentrações de BAP e KIN sobre a altura, taxa de multiplicação e número de folhas, sendo que a KIN proporcionou os melhores resultados (Tabela 1). De modo geral, independentemente da concentração de KIN utilizada (T5, T6, T7 e T8), constatou-se que os resultados, em média, foram significativamente superiores quando comparados às concentrações de BAP (T1, T2, T3 e T4) utilizadas, sendo o tratamento T5 foi o que proporcionou os melhores resultados.

Verificou-se que com o aumento das concentrações de BAP, houve diminuição da taxa de multiplicação e número de folhas. Porém, segundo Carelli & Echeverrigaray (2002), o número de brotações aumentou com o aumento da concentração de BAP no meio de cultura e foi mais significativo quando comparado ao uso de KIN.

Quando se avaliou o fator época, diferenças significativas foram encontradas na taxa de multiplicação e número de folhas, com 4,5 gemas e 2,6 folhas aos 40 dias e 6,2 gemas e 2,9 folhas aos 90 dias, respectivamente (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Chu et al., (1993) que verificaram a melhoria nas taxas de multiplicação em meio líquido com longos períodos de cultivo.

Verificou-se que além da baixa taxa de desenvolvimento dos segmentos nodais, nos tratamentos suplementados com BAP as brotações apresentaram um aspecto de hiperhidricidade, indicando, possivelmente superdosagens desta citocinina, como nos resultados alcançados por Dzazio et al. (2002), que observou sintomas de hiperhidricidade com o uso de altas concentrações de BAP em brotações do porta-enxerto de videira 420-A. Tal observação, só foi verificada nos tratamentos com BAP, provavelmente por esta citocinina ser mais ativa do que a KIN (GRAY and BENTON, 1991). A taxa de multiplicação das brotações de mini rosas em meio líquido entre 3 e 6 semanas foi maior quando se utilizou BAP nas concentrações de 17.8 e 26.6  $\mu\text{M}$ . Porém, verificou-se intensa clorose nas brotações após a sexta semana de cultivo (CHU et al. 1993).

Resultados contrários foram obtidos por Hasegawa (1980) e Wulster & Sacalis (1980), onde o BAP foi essencial na multiplicação de gemas de cultivares de *Rosa hybrida*. Já nos estudos de Singh et al. (2003), uma média de 18 brotos foi obtida em meio MS contendo 1  $\text{mg.L}^{-1}$  de BAP aos 23 dias de cultivo. Resultados divergentes foram obtidos por Kumar et al. (2001) que verificaram maior proliferação de brotações na presença de TDZ, quando comparado ao BAP.

## CONCLUSÕES

A Cinetina proporciona resultados superiores na multiplicação *in vitro* de mini rosa, quando comparada ao BAP.

O cultivo prolongado de mini rosa até os 90 dias permite resultados superiores para taxa de multiplicação das gemas e no número de folhas.

Sintomas de hiperhidricidade são observados em mini rosa quando o BAP é utilizado como citocinina.

Meio de cultura desprovido de reguladores de crescimento são os mais indicados para a obtenção de plantas de mini rosa com maior altura e vigor.

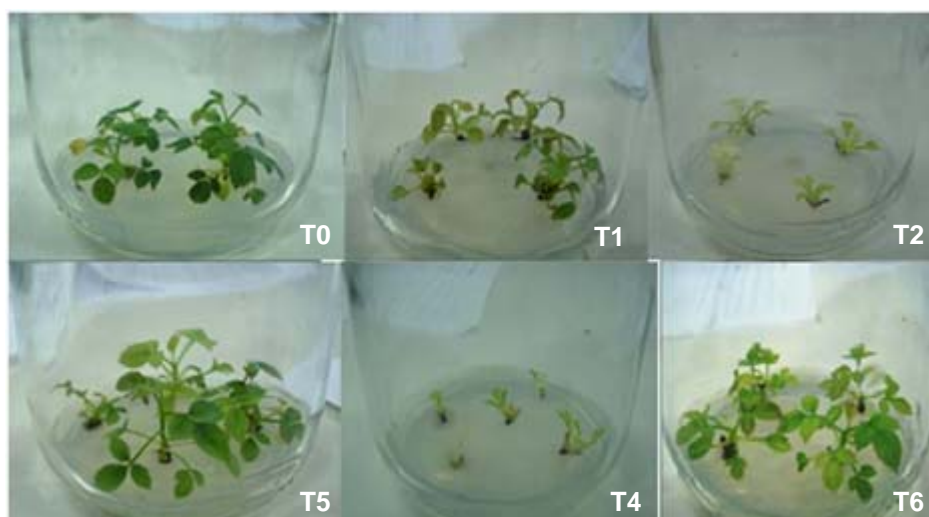


**TABELA 1.** Influência dos reguladores de crescimento BAP e KIN sobre a altura (cm), taxa de multiplicação e número de folhas após 40 e 90 dias de cultivo.

Tratamentos*	Altura (cm)			Taxa de multiplicação			Nº de folhas		
			Médias			Médias			Médias
	40 dias	90 dias		40 dias	90 dias		40 dias	90 dias	
T0	1.0	1.4	1.2a	4.2	5.4	4.8b	2.6	2.9	2.8b
T1	0.8	1.0	0.9b	4.5	5.8	5.1b	2.7	3.2	2.9a
T2	0.7	0.9	0.8b	3.7	4.5	4.1b	2.5	2.7	2.6b
T3	1.9	0.7	1.3a	2.5	3.5	3.0c	2.0	2.4	2.2c
T4	0.5	0.6	0.5b	1.6	2.9	2.2c	1.7	2.0	1.9d
T5	1.3	1.6	1.5a	6.6	8.6	7.6a	3.1	3.2	3.2a
T6	1.3	1.7	1.5a	5.9	8.6	7.2a	3.1	3.1	3.1a
T7	1.2	1.7	1.4a	6.1	8.9	7.5a	3.1	2.8	3.0a
T8	0.9	1.4	1.1a	5.2	7.8	6.3a	2.8	2.7	2.7b
Média	1.1 A	1.2 A	1.1	4.5 B	6.2 A	5.3	2.6 B	2.9 A	2.7

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (0,05).

\* T0: sem regulador; T1: 4,5 µM BAP + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T2: 9,0 µM BAP + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T3: 13,5 µM BAP + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T4: 18,0 µM BAP + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T5: 4,5 µM KIN + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T6: 9,0 µM KIN + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T7: 13,5 µM KIN + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA; T8: 18,0 µM KIN + 0,05 mg.L<sup>-1</sup> ANA.



**FIGURA 1.** Aspecto geral da propagação *in vitro* de segmentos nodais de *Rosa* sp. Segmentos nodais cultivados sem regulador de crescimento (T0); Característica do desenvolvimento dos segmentos nodais cultivados em meio contendo 4,5, 9,0 e 18 µM de BAP (T1, T2 e T4) e KIN (T5 e T6).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHATIA, P.; BHATIA, N. P. and ASHWATH, N. *In vitro* propagation of *Stackhousia tryonii* Bailey (Stackhousiaceae): a rare and serpentine-endemic species of central Queensland, Australia. **Biodiversity and Conservation**. 11: 1469-1477. 2002.
- CARELLI, B. P.; ECHEVERRIGARAY, S. An improved system for the *in vitro* propagation of rose cultivars. **Scientia Horticulturae** 92. 69-74, 2002.
- CHAGAS, E. A.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, E. F.; PASQUAL, M.; MENDONÇA, V. Multiplicação *in vitro* de crisântemo cv. White Polaris. **Revista Brasileira Agrociência**. V. 10, n. 1, p. 123-126, 2004.
- CHU, C. Y.; KNIGHT, S. L.; SMITH, M. A. L. Effect of liquid culture on the growth and development of miniature rose (*Rosa chinensis* Jacq. 'Minima'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. V. 32, n.3. 329-334, 1993.
- DZAZIO, P. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira 420-A. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 759-764, 2002.

- ESTABROOKS, T.; BROWNE, R. and DONG, Z. 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid promotes somatic embryogenesis in the rose cultivar 'Livin Easy' (*Rosa* sp.) **Plant Cell Report**. 26: 153-160. 2007.
- GRAY, D.J.; BENTON, C. M. 1991. *In vitro* micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 27(1):7-14.
- HASEGAWA, P. M. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. **J. Am. Soc. Hort. Sci.** 105, 216-220. 1980.
- HORN, W. A. H.; SCHLEGEL, G.; LERSTUHL, K. J. Micropropagation of roses (*Rosa hybrida*) **Acta Horticulturae**. 226, 623-627. 1992.
- KUMAR, A.; SOOD, A.; PALNI, U. T.; GUPTA, A. K.; PALNI, L. M. S. Micropropagation of *Rosa damascena* Mill. From mature bushes using thidiazuron. **Then Journal of Horticultural Science and Biotechnology**. Volume 76, number 1. pp. 30-34(5). 2001.
- OLIVEIRA, P.D. **Propagação "in vitro" de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzelev) cv. Orange Reagen**. Lavras, 1994. 116p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras.
- PATI, P. K.; RATH, S. P.; SHARMA, M.; SOOD, A.; AHUJA, P. S. In vitro propagation of rose – a review. **Biotechnology Advances**. 24, 94-114. 2006.
- ROUT, G. R.; SAMANTARAY, S. MOTTLEY, J. and DAS, P. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. **Scientia Horticulturae**, v.81, 201-228. 1999.
- ROY, K. R.; MAMUM, A. N. K. and AHMED, G. *In vitro* plantlets regeneration of rose. **Plant Tissue Culture** v.14, n. 2, 149-154, 2004.
- SINGH, A. K. and DUBEY, A. K. *In vitro* regeneration of miniature rose (*Rosa chinensis*) **Journal of Ornamental Horticulture (New Series)**, v.6., n.3., p.234-238, 2003.
- WULSTER, G. and SACALIS, L. Effects of auxins and cytokinins on ethylene evolution and growth of rose callus tissue in sealed vessels. **Horticulturae Science**, v.15, 736-737 1980.
- YAN, M.; BYRNE, D. H.; JING, C. Propagation of rose species in vitro. **In Vitro cellular and Developmental Biology – Plant**, v.32, n.2, 103-108. 1996.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Rosa* sp.; citocininas; propagação clonal; hiperhidricidade.

## Efeito de substratos na formação de mudas de curauá (*Ananas comosus* var. *erectifolius* L. B. Smith)

Lameira, Osmar Alves<sup>1</sup>; Monfort, Lucila Elizabeth Fragoso<sup>2</sup>; Saldanha, Andréia Luciana Martins<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 137, CEP 66095-100, Belém, Pará, fone (91) 3204-1167, email: [osmar@cpatu.embrapa.br](mailto:osmar@cpatu.embrapa.br); <sup>2</sup>Bolsista do CNPq/PIBIC da Embrapa Amazônia Oriental, emails: [lucilaagro@yahoo.com.br](mailto:lucilaagro@yahoo.com.br); [almsaldanha@yahoo.com.br](mailto:almsaldanha@yahoo.com.br)

### INTRODUÇÃO

O curauá (*Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & Leal, pertencente à família das Bromeliáceas, distribuída na região amazônica. Estudos recentes têm demonstrado o grande potencial desta planta como produtora de fibra de excelente qualidade, sendo utilizada na indústria automobilística e têxtil devido sua resistência, maciez e peso reduzido, podendo ainda ser utilizada como celulose e ração animal. Há uma crescente demanda de fibras do curauá por grupos empresariais preocupados principalmente na utilização de produtos naturais biodegradáveis, o que torna essa espécie estratégica para o estado e cria uma perspectiva de melhoria da qualidade de vida dos pequenos produtores. Atualmente a demanda por fibras de curauá a partir da indústria automobilística e têxtil gira em torno de 500 ton/mês. No momento o estado consegue produzir até 8 ton/mês, o que torna a cultura do curauá como uma das mais promissoras em termos de alternativas em curto prazo (Lameira, et al, 2003).

Após obtenção da planta completa (parte aérea + raiz) ocorre o transplântio (embora para algumas espécies seja mais viável a emissão de raízes "ex vitro") que envolve a transferência da planta da condição "in vitro" para casa de vegetação, onde é submetida a uma fase de aclimatização e endurecimento adaptando-se às condições ambientais de cultivo, com o uso de substratos mineral-orgânicos apropriados (Usberti Filho et al., 1995; Albin, 2004).

Quatro funções básicas são atribuídas aos substratos: propiciar suporte ou ancoragem para a planta; proporcionar suficiente porosidade de modo a permitir o ingresso de oxigênio e o escape de gás carbônico e etileno produzido durante a respiração das raízes; propiciar alguma reserva de água para as plantas e suprir a planta com nutrientes (Taveira, 1996).

A alta taxa de sobrevivência obtida em plantas aclimatizadas "ex vitro", depende do correto tratamento providenciado durante o processo de transição "in vitro" para "in vivo" (Calvete et al, 2002).

Os substratos são utilizados isoladamente ou em diversas combinações, como demonstram as pesquisas desenvolvidas por Guerra et al (1999) para aclimatização de plantas de abacaxizeiro obtidas "in vitro". Processo completo de micropropagação de curauá envolvendo desde a fase inicial até a aclimatização de plantas e cultivo no campo em escala comercial foi obtido por Lameira et al (2003). O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes substratos na formação de mudas de curauá provenientes da cultura in vitro.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Laboratório da Bionorte, localizado no município de Benevides, PA. Foram utilizadas 96 plantas, enraizadas, provenientes de meio de cultura MS de Murashige e Skoog (1962). As plantas apresentando raízes, depois de retiradas dos frascos, foram abundantemente e cuidadosamente lavadas com água corrente para retirar os resíduos do meio MS e tiveram as pontas das raízes cortadas. Em seguida foram transplantadas para bandejas com os respectivos substratos predeterminados e postas de forma a ficarem suspensas do solo por aproximadamente 50,0 cm em ambiente de telado, sendo as plantas hidratadas diariamente.

Para cada tratamento foram utilizados os seguintes substratos: composto orgânico Polifertil<sup>®</sup>, fibra de coco, Polifertil<sup>®</sup> e fibra de coco na proporção volumétrica de 1:5 e Polifertil<sup>®</sup> e fibra de coco na proporção volumétrica de 1:7. As plantas foram colocadas em 4 bandejas

plásticas de 36 cm x 27 cm constituídas por 24 células cada, distribuídas em 6 fileiras verticais com quatro células. Em cada célula foi inserida uma planta, totalizando 24 por tratamento. Cada bandeja correspondeu a um tratamento de substrato.

A avaliação foi feita semanalmente, medindo o comprimento da planta a partir da porção basal em contato com o substrato até o ápice da folha de maior comprimento ao longo de 90 dias e o número de folhas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos e quatro repetições por tratamento, sendo seis plantas por repetição, tendo uma planta por célula, totalizando 96 plantas. A análise de variância foi feita pelo programa estatístico Sisvar e a comparação de média pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de comprimento e número de folhas são mostrados na Tabela 1. Para o comprimento de folhas os substratos mais eficientes foram os que utilizaram fibra de coco, Polifertil<sup>®</sup> e fibra de coco na proporção volumétrica de 1:5 e Polifertil<sup>®</sup> e fibra de coco na proporção volumétrica de 1:7, não diferenciando entre si. O tratamento que apresentou o menor comprimento de folhas foi o que utilizou o substrato de Polifertil<sup>®</sup>.

Para o número de folhas o tratamento mais eficiente foi Polifertil<sup>®</sup> e fibra de coco na proporção de 1:7. O tratamento que apresentou o menor número de folhas foi o substrato de Polifertil<sup>®</sup>. Os tratamentos com fibra de coco e Polifertil e fibra de coco na proporção de 1:5 não diferenciaram entre si.

Tabela 1 – Média de comprimento e número de folhas de Curauá.

Substrato	Comprimento de folhas (cm)	Número de folhas
Polifertil <sup>®</sup>	6,97b	2,56c
Fibra de coco	10,15a	3,75b
1:7 (PF:FC)	10,49a	4,15a
1:5 (PF:FC)	10,77a	3,94b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de SNK ao nível de 5% de probabilidade. PF- Polifertil<sup>®</sup>; FC- Fibra de coco

Em estudos feitos por Albin (2004), observou-se que o substrato pó de coco + fibra de coco na proporção volumétrica de 1:1 foi o mais eficiente na aclimatização de plantas de curauá obtidas “*in vitro*”, e o tempo adequado para o crescimento das plantas em bandeja foi estaticamente previsto para 65 dias de cultivo para formação de mudas.

Guerra et al. (1999) obtiveram taxa de 95,5% de mudas de abacaxizeiro sobreviventes após aclimatização em substrato, composto de casca de arroz carbonizada e solo arenoso. Enquanto que Fauth et al. (1994) obtiveram 80,34% de plantas de abacaxizeiro sobreviventes à aclimatização aos 57 dias em diferentes combinações dos substratos: solo, xaxim, turfa, vermiculita, esterco bovino, areia e húmus.

A Figura 1 mostra respectivamente, o desenvolvimento de plantas de curauá nos substratos Polifertil e fibra de coco na proporção volumétrica de 1:7; Polifertil e fibra de coco na proporção volumétrica de 1:5; fibra de coco (FC) e Polifertil (PF).



Figura 1. Mudanças de curauá aos 90 dias de idade nos substratos Polifertil® e fibra de coco na proporção de 1:7; Polifertil® e fibra de coco na proporção de 1:5 e PF= Polifertil®, FC= fibra de coco.

## CONCLUSÕES

No processo de aclimação de mudas de curauá provenientes da cultura *in vitro* o substrato orgânico Polifertil® e fibra de coco na proporção de 1:7, proporcionou o melhor desenvolvimento na formação das mudas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBIN, E.M.S. **Propagação “in vitro” de curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith)**. Dissertação de mestrado pela Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém, 2004.

CALVETE, E. O., KAMPF, A. N. e SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento “*in vitro*” de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n.2, p. 186-191, 2002.

FAUTH, A. et al. Aclimatização de mudas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill) resistentes à fusariose, cultivadas “*in vitro*”. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas, v. 16, n.2, p.7-12. 1994.

GUERRA, M. P.; et al. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 34, n.9, p.1557-1563. 1999.

LAMEIRA, O.A.; REIS, I.N.R.; CORDEIRO, I.M.C.C. Otimização da propagação “*in vitro*” de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith). **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, jan/jun, p.78-81, 2003.

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

TAVEIRA, J. A. **Boletim Ibraflor Informativo**. n. 13. Plântula Consultoria. 1996.

USBERTI FILHO, J. A.; et al. Inheritance of leaf spiness and segregation of leaf color in pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill). **Braslian Journal of Genetics**. v.18, n. 4. p. 547-552. 1995.

## PALAVRAS-CHAVES

*Ananas comosus* var. *erectifolius*; fibra de coco; Polifertil®, aclimação.



## **Desinfestação de sementes de teca (*Tectona grandis* Linn. f.) para germinação sob condições *in vitro*.**

Lameira, Osmar Alves<sup>1</sup>; Reis, Iulla Naiff Rabelo de Souza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 137, CEP 66095-100, Belém, Pará, fone (91) 3204-1167, email: [osmar@cpatu.embrapa.br](mailto:osmar@cpatu.embrapa.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Curso de Fitotecnia da UFV, Viçosa, MG, email: [naiffagro@yahoo.com.br](mailto:naiffagro@yahoo.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

A teca (*Tectona grandis* Linn. f.) é uma espécie florestal da família Verbenaceae, originária das florestas tropicais do sudeste asiático e desenvolve-se bem em regiões de climas quente, com temperaturas médias anuais acima de 24°C. A espécie tem como principais características a rusticidade, o rápido crescimento, a facilidade de cultivo, a resistência ao fogo, pragas e doenças e seus primeiros frutos surgem aos cinco anos de idade (Almeida et. al, 2002).

Atualmente, a demanda pela indústria madeireira por teca é muito grande face o valor comercial dessa espécie, havendo a necessidade de produção em larga escala e de linhagens de boa qualidade. O tradicional método de propagação é por semente, no entanto, o número de sementes produzido por árvore é limitado e a capacidade germinativa é baixa, além do fato de que algumas sementes podem germinar mais e melhor que outras, dependendo da origem, condições de armazenamento e tratamento prévio das sementes (Kaosa-Ard & Apavatjirut, 1988; White, 1991).

Uma das alternativas para amenizar tais problemas é a utilização da cultura de tecidos, principalmente na forma de propagação clonal *in vitro*. Teoricamente, a propagação vegetativa leva em conta a ilimitada reprodução de alguns indivíduos, embora preservando seus genótipos, bem como todas suas características. Condições de cultivo *in vitro* podem ser muito úteis para o rápido crescimento do número de indivíduos oriundos de sementes de alto valor genético, mas disponíveis somente em restrito número ou de baixa capacidade germinativa.

Entretanto, no caso específico de plantas lenhosas, alguns fatores, como contaminação, liberação de substâncias oxidantes no meio, bem como a grande variabilidade genética existente, dificultam os estudos de propagação *in vitro* (Bonilla, 2002). O trabalho teve como objetivo obter um método de assepsia para que as sementes mantenham a viabilidade de germinação do embrião *in vitro*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho de assepsia das sementes de teca foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental. Os frutos, oriundos da Empresa de madeira, AIMEX, foram imersos em água corrente por um período de 48 horas com o objetivo de absorção de umidade e amolecimento da casca, facilitando assim, o desprendimento da mesma. Após esse período, procedeu-se a retirada do excesso da casca. Os frutos foram submetidos ao processo de termoterapia a 50°C, em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% durante 2 horas, e posteriormente, as sementes foram extraídas com o auxílio de uma prensa totalizando 105 sementes.

Assepsia das sementes: Inicialmente, em câmara de fluxo laminar horizontal, as sementes foram desinfetadas com álcool 70% por 2 minutos, em seguida 2/3 das sementes foi imersa em solução de NaOCl a 0,5% e o restante a 1% por 15 minutos. Após, as mesmas foram lavadas por quatro vezes em água destilada e autoclavada. Posteriormente, metade das sementes tratadas em solução a 0,5% de NaOCl foram imersas em Cefalexina 500ppm por 10 e a outra metade por 20 minutos. Após esses processos, todas as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo apenas água e Agar (Sigma) a 0,7% com pH ajustado para 5,8, tampados com tampa plástica e vedados com parafilme. As sementes foram mantidas numa câmara escura a 26 °C até a emissão da radícula e dos cotilédones. O experimento utilizado

foi em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 3 tratamentos e 7 repetições, cada repetição com 5 tubos de ensaio, sendo uma semente por tubo, totalizando 35 sementes por tratamento. A avaliação do grau de germinação e de contaminação foi realizada 20 dias após a inoculação. Os dados de percentagem foram transformados para  $\text{ArcSen}\sqrt{x}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os valores obtidos, correspondentes aos graus de contaminação e germinação de sementes de teca (*Tectona grandis*), a partir de diferentes métodos de assepsia e a Figura 1, plântula de Teca obtida a partir da germinação *in vitro*.

**Tabela 1-** Métodos de assepsia de sementes de teca (*Tectona grandis*).

Tratamentos	Contaminação	Germinação
NaOCl 1%	15% a	45% b
NaOCl 0,5% + Cefalexina 10'	10% a	60% a
NaOCl 0,5% + Cefalexina 20'	27% b	47% b

Médias seguidas da mesma letra não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

O tratamento contendo NaOCl 0,5% e Cefalexina por dez minutos foi o que apresentou menor taxa de contaminação (10%) não diferindo estatisticamente do tratamento contendo 1% de NaOCl. Entretanto foi o que apresentou a maior taxa de germinação (60%), quando comparado com os demais tratamentos.

Em relação à menor taxa de contaminação (10%) obtida neste trabalho, o resultado indica que houve eficiência do tratamento utilizado, uma vez que nos estudos de Monteuis et al. (1998), os autores obtiveram à taxa média de 26% dependendo da origem geográfica da semente e 21% dependendo da progênie.

Lopes et al. (2003) reduziram em até 100% o índice de contaminação por fungos em explantes de mogno (*Swietenia macrophylla*) quando utilizaram uma associação de NaOCl com o antibiótico Kanamicina. Porém a percentagem de contaminação por bactéria foi de 100%, demonstrando que o efeito positivo da associação do NaOCl com um antibiótico vai depender da espécie e do explante.

Quanto a percentagem de germinação os resultados obtidos demonstraram que quanto menor a concentração de NaOCl e menor tempo de imersão das sementes na Cefalexina, maiores taxas de germinação foram obtidas (Tabela 1). Esses resultados foram superiores aos 30% obtidos por Monteuis et al. (1998) e 50% obtidos por Sousa (2002), ambos trabalhando com sementes de teca.



Figura 1- Plântula de teca (*Tectona grandis*), obtida a partir de sementes germinadas sob condições *in vitro*.

## CONCLUSÃO

Dentre os tratamentos utilizados a imersão das sementes na solução contendo NaOCl 0,5% + 500 ppm de Cefalexina por dez minutos é a mais indicada como método de assepsia para descontaminação de sementes de teca.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. N. D.; GONÇALVES, A. N.; MORI, E. S. Micropropagação in vitro de explantes de teca (*Tectona grandis*) In: **IX REUNIÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS DO LAGEADO**, Botucatu: UNESP, 2002.

BONILLA, M. G. O. **Propagação in vitro, indução, curva de crescimento de calos e arborização fitoquímica em *Rudgea viburnoides* (Cham.)**. Lavras: UFLA, 2002. 162p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia).

KAOSA-ARD A.; APAVATJRUT, P. **Teak (*Tectona grandis* Linn. f.) tissue culture: rooting and transplanting techniques**. Paper presented at: "PSTC Conference on Biotechnology for Health and Agriculture", Washington DC, USA, 12p. 1988.

LOPES, S.C.; LAMEIRA, O.A.; FORTES, G.R.L. Comparação de procedimentos para descontaminação de explantes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). *Revista Ciências Agrárias*, n.40, p.63-71, jul/dez. 2003.

MONTEUUIS, O.; BON, M.C.; GOH, D.K.S. Teak propagation by in vitro culture. **Bois et Foret des Tropiques**. n.256, v.2, p. 43-53, 1998.

SOUSA, D. B. **Tectona grandis**: características gerais da espécie. Belém: AIMEX, 2002. 4p.

WHITE, K. J. **Teak: some aspects of research and development**. FAO Regional Office for Asia and the Pacific (RAPA), publication. 53p. 1991.

## PALAVRAS-CHAVES

*Tectona grandis*; Cefalexina; contaminação; cultura de tecidos.



## **Produção *in vitro* de *Baccharis myriocephala* DC: Efeitos de auxinas e citocininas.**

Alice Sato<sup>1</sup>, Simone da Silva<sup>2</sup>; Claudio Barbosa Moreira<sup>2</sup>; Sharon Santos de Lima<sup>3</sup>; Maria Aparecida Esquibel<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professora da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, Departamento de Botânica, CCBS, Avenida Pasteur 458, 22290-040, Rio de Janeiro - RJ, (21) 2244-5760. E-mail: [alicesato@unirio.br](mailto:alicesato@unirio.br), <sup>2</sup>Doutorando (a) do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal (UFRJ). Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, Bloco G, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, CEP 21952-590, Rio de Janeiro - RJ, Fone (21) 2562-6643. E-mail: [mony@biof.ufrj.br](mailto:mony@biof.ufrj.br) e [cmoreira@biof.ufrj.br](mailto:cmoreira@biof.ufrj.br); <sup>3</sup>Doutora pelo Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal (UFRJ). Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CCS, Bloco G, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, CEP 21952-590, Rio de Janeiro - RJ, Fone (21) 2562-6643. E-mail: [sharonsl@biof.ufrj.br](mailto:sharonsl@biof.ufrj.br); <sup>4</sup>Professor (a) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, Bloco G, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, CEP 21952-590, Rio de Janeiro - RJ, (21) 2562-6643. E-mail [esquibel@biof.ufrj.br](mailto:esquibel@biof.ufrj.br).

### **INTRODUÇÃO**

*Baccharis myriocephala* DC., pertencente a seção *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae) é um subarbusto ramificado com caule triado (Nurnberg, 1997). Esta característica é comum entre as outras espécies desta seção e por serem morfológica e anatomicamente semelhantes, são todas conhecidas popularmente como carqueja (Gianello *et al.*, 2000). As carquejas apresentam como característica marcante a presença de cladódios que fazem o papel de folha, uma vez que estas estão totalmente ausentes ou mostram-se reduzidas, com função fisiológica restrita para a planta (Budel *et al.*, 2005). No Brasil, as carquejas estão entre as dez plantas mais comercializadas (Budel *et al.*, 2004), sendo amplamente utilizadas na medicina popular no combate a problemas de estômago, diabetes, reumatismo e feridas de pele (Simões-Pires *et al.*, 2005) Uma das técnicas mais utilizadas na cultura de tecidos vegetais é a propagação *in vitro* ou micropropagação. Trata-se de um método rápido e eficiente para a produção em massa de plantas livres de patógenos, geneticamente uniformes e com independência da sazonalidade. A micropropagação viabiliza a produção vegetal quando há dificuldades nos mecanismos naturais de reprodução, bem como a preservação de espécies ameaçadas de extinção e a manutenção de coleções ativas ou de base de germoplasma vegetal, sendo o único recurso da cultura de tecidos vegetais que tem documentado de forma efetiva a possibilidade de se produzir espécies de interesse em larga escala [George, 1996; Honda *et al.*, 2001; Giri *et al.*, 2004]. Além de melhoramento de linhagem, métodos de seleção de linhagens de alta produção e otimização do meio podem levar a um incremento na produção de princípios ativos (Dornenburg & Knorr, 1995; Silva *et al.*, 2005).

Assim sendo, o desenvolvimento de um cultivo sistemático de plantas medicinais através da cultura de tecidos vegetais é fundamental tanto para promover o uso da própria planta como medicamento, como para permitir a conservação da biodiversidade química e a obtenção controlada de material para estudos biológicos e fitoquímicos, assegurando a sobrevivência e a disponibilidade do material genético para pesquisas científicas.

Devido à importância desta planta para múltiplos propósitos, justifica-se a aplicação de metodologia que forneça grande número de plantas de *B. myriocephala* clonadas, visando selecionar linhagens de alta qualidade para plantio extensivo e extração de fitofármacos.

### **METODOLOGIA**

Segmentos nodais obtidos de sementes germinadas *in vitro* em meio de composição básica segundo Murashige & Skoog (MS0) (Murashige & Skoog, 1962) foram subcultivados em meio básico (MS0) ou enriquecido com reguladores de crescimento em diferentes concentrações (n = 60 para cada tratamento): 0,01; 0,1; 0,5 e 1,0 mg/L de Cinetina (CIN);

Benziladenina (BA) e Ácido Indolacético (AIA). As culturas foram mantidas a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , iluminadas com lâmpadas fluorescentes (Sylvania, Phillips/luz do dia) com intensidade de  $23,0 \mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{s}$ , e 16 horas de fotoperíodo, durante 60 dias. O efeito de diferentes reguladores de crescimento sobre o desenvolvimento da planta quanto ao número de brotos e de gemas, a altura das plantas, o comprimento e o número de raízes por explante foi avaliado por análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, ao nível de significância 5%. Estas análises foram efetuadas utilizando-se o *Graph Pad in Stat*, versão 3,01. Na análise das porcentagens de enraizamento conforme o meio utilizado, foi usado o teste de diferença entre porcentagens ( $p_1$  e  $p_2$ ) ao nível de 5% de significância utilizando-se o Software Statistica for Windows<sup>TM</sup>, versão 5.0.

A biomassa seca foi determinada através de pesagem individual de 30 plantas provenientes de cada tratamento em balança analítica e seca em estufa a  $50^{\circ}\text{C}$ , até peso constante, a fim de se determinar a quantidade de água presente e a relação entre peso fresco e peso seco de todas as amostras. Os resultados foram analisados da seguinte maneira: Peso seco dividido pelo peso fresco e multiplicado por 100 ( $P_s/P_f \times 100$ ). Cada determinação foi realizada em duplicata para cada tratamento e os resultados são apresentados em termos de porcentagem (%) de biomassa seca.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à organogênese de brotos, os melhores resultados foram os obtidos com 1 mg/L de CIN e com 1,0 mg/L de AIA (Figura 1 A e B), que deram origem, em média, a 7,2 e 6,7 novos brotos por explante, respectivamente, em 60 dias de cultivo (Tabela 1).

Os resultados obtidos em meios de composição básica (MS0) e o suplementado com 0,01 mg/L de AIA foram considerados os melhores e estatisticamente semelhantes em relação à produção de segmentos nodais por broto, obtendo-se em média 7 e 6 novos segmentos nodais por broto, respectivamente, após 60 dias de cultivo (Tabela 1).

Levando-se em conta que o objetivo principal deste trabalho é a produção clonal selecionando plantas para serem utilizadas em indústrias de fitomedicina, é importante que o método apresente uma taxa de multiplicação alta. Neste trabalho, o melhor tratamento usado foi o MS + 1,0 mg/L de 0,5 IAA (Figura 1A) e 0,5 mg/L de CIN (Figura 1B), pois os mesmos produziram as melhores taxas de multiplicação (1:22,9; 1:18,7 e 1:15, respectivamente) em 60 dias de cultura (Tabela 1).

Foi observado que, os melhores resultados relacionados ao alongamento das plantas foram observados em plantas provenientes do meio suplementado com AIA, nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/L, pois foram produzidas plantas com altura média de 6 cm. (Tabela 1).

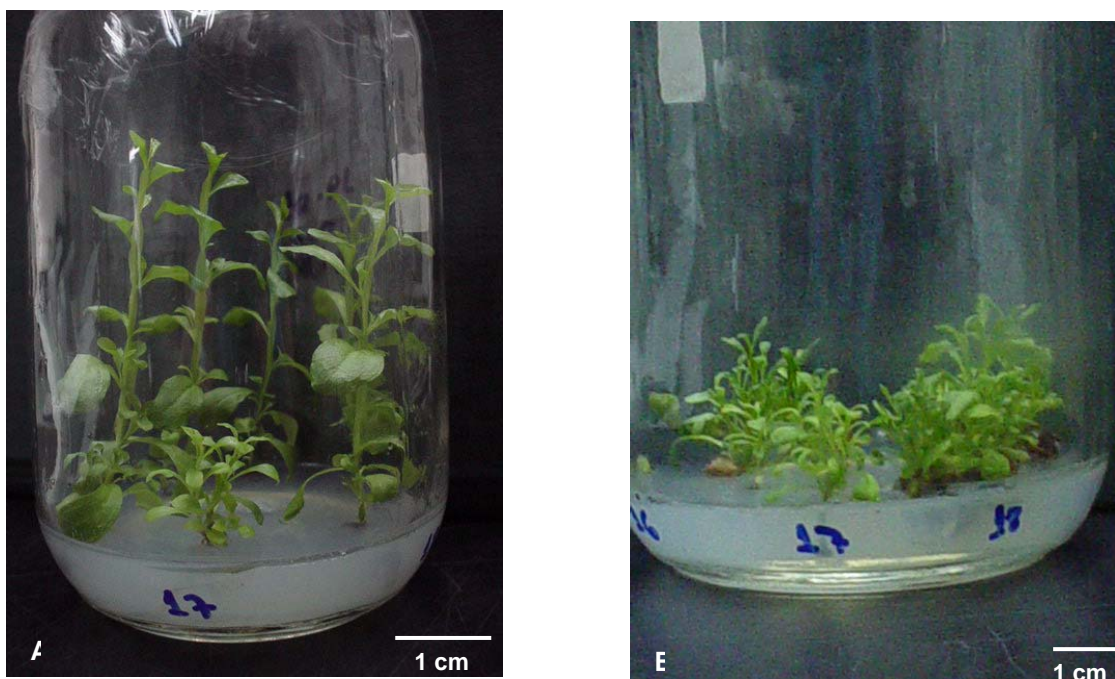
Dos meios testados, os suplementados com BAP (0,01; 0,5 e 1,0 mg/L) e com 1,0 mg/L de CIN não promoveram enraizamento. A taxa máxima de enraizamento foi obtida em meio MS acrescido de AIA, havendo uma taxa de 100% quando se utilizou 0,1 e 0,5 mg/L e 96,7% utilizando 1,0 mg/L. Já o meio enriquecido com 0,01 mg/L de AIA e o MS0 foram considerados estatisticamente semelhantes, pois promoveram a produção de 82,6 e 82,0% de enraizamento, respectivamente (Tabela 1). Um dos efeitos das auxinas em cultura de tecidos é a indução de raízes e os resultados obtidos confirmaram esse efeito.

Foi observado que de todos os meios de cultivo testados, as plantas cultivadas em meio MS acrescido de 0,01 BA e 0,1 de CIN, apresentaram as maiores taxas de massa seca, pois produziram cerca de 17,9 e 17,0% de material seco, respectivamente, em 60 dias de cultivo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeitos dos tipos e concentrações de reguladores de crescimento no desenvolvimento de *Baccharis myrioccephala* cultivada *in vitro*, por 60 dias: MS0 (controle), MS + 0,01; 0,1; 0,5; 1,0 mg/L de AIA; MS + 0,01; 0,1; 0,5; 1,0 mg/L de BA e MS + 0,01; 0,1; 0,5; 1,0 mg/L CIN.

Meios de cultura (mg/L)	Número de brotos por explante $x \pm dp^*$	Número de segmentos nodais por explante	Taxa de multiplicação	Altura das plantas (cm) $x \pm dp^*$	Enraizamento (%)	Biomassa seca (%)
MS0	1.4±0,6 <sup>f</sup>	7.0 <sup>a</sup>	9.9 <sup>b</sup>	2.9±2,4 <sup>d</sup>	82.0 <sup>c</sup>	14.3 <sup>d</sup>
0,01 AIA	1.6±0,9 <sup>f</sup>	6.0 <sup>b</sup>	4.5 <sup>c</sup>	4.8±2,6 <sup>b</sup>	82.6 <sup>c</sup>	16.0 <sup>b</sup>
0,1 AIA	1.6±0,6 <sup>f</sup>	5.7 <sup>b</sup>	8.4 <sup>b</sup>	3.6±1,5 <sup>c</sup>	100.0 <sup>a</sup>	13.9 <sup>d</sup>
0,5 AIA	3.9±1,9 <sup>d</sup>	5.3 <sup>c</sup>	18.7 <sup>a</sup>	6.0±1,8 <sup>a</sup>	100.0 <sup>a</sup>	13.4 <sup>e</sup>
1,0 AIA	6.7±3,4 <sup>b</sup>	3.7 <sup>d</sup>	22.9 <sup>a</sup>	6.0±2,4 <sup>a</sup>	96.7 <sup>b</sup>	15.5 <sup>b</sup>
0,01 BA	1.6±0,7 <sup>f</sup>	5.9 <sup>b</sup>	8.6 <sup>b</sup>	2.0±1,0 <sup>e</sup>	66.0 <sup>d</sup>	17.9 <sup>a</sup>
0,1 BA	1.2±0,4 <sup>f</sup>	1.8 <sup>e</sup>	2.1 <sup>d</sup>	1.0±0,3 <sup>f</sup>	0	7.2 <sup>g</sup>
0,5 BA	**	**	**	**	0	14.4 <sup>c</sup>
1,0 BA	**	**	**	**	0	8.5 <sup>f</sup>
0,01 CIN	1.4±0,7 <sup>f</sup>	4.8 <sup>c</sup>	6.1 <sup>c</sup>	2.3±1,6 <sup>e</sup>	34.5 <sup>e</sup>	15.5 <sup>b</sup>
0,1 CIN	2.3±1,4 <sup>e</sup>	5.0 <sup>c</sup>	9.3 <sup>b</sup>	1.7±0,7 <sup>e</sup>	18.2 <sup>f</sup>	17.0 <sup>a</sup>
0,5 CIN	4.8±2,5 <sup>c</sup>	3.6 <sup>d</sup>	15 <sup>a</sup>	1.3±0,4 <sup>f</sup>	6.0 <sup>g</sup>	15.3 <sup>c</sup>
1,0 CIN	7.2±3,0 <sup>a</sup>	1.1 <sup>e</sup>	6.8 <sup>c</sup>	1.6±0,4 <sup>e</sup>	0	14.5 <sup>c</sup>

\*Média (x) ± desvio padrão (dp), n = 60 por tratamento. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ao nível de p = 0.05. \*\* brotações múltiplas sem alongamento.



**Figura 1.** Aspecto da *Baccharis myrioccephala*, cultivada *in vitro* por 60 dias em 1,0 mg/L de AIA (A) e em 1,0 mg/L de CIN (B).

## CONCLUSÃO

O presente trabalho avaliou o efeito de auxinas e citocininas na produção *in vitro* de *Baccharis myrioccephala*. Dos tratamentos aplicados, observou-se que o meio de cultura mais eficiente para aumento da produção de mudas, alongamento e enraizamento é o suplementado com 0,5 e 1,0 mg/L de AIA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUDEL, J.M.; DUARTE, M.R.; SANTOS, C.A.M. Parâmetros para análise de carqueja: comparação entre quatro espécies de *Baccharis* spp. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 14, n. 1, p. 41-48. 2004.

BUDEL, J.M.; DUARTE, M.R.; SANTOS, C.A.M.; FARAGO, P.V.; MATZENBACHER, N.I. O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I – Estudos botânicos. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 15, n. 3, p. 268-271. 2005.

DORNENBURG, H.; KNORR, D. Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, n. 8, p. 674-684. 1995.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 2: in practice. Edington, England: Exegetics Limited, v. 2. 1996.

GIANELLO, J.C.; CEÑAL, J.P.; GIORDANO, O.S.; TONN, C.E.; PETENATTI, M.E.; PETENATTI, E.M.; DEL VITTO, L.A. Medicamentos herbários en el centro-oeste Argentino. II. "Carquejas": control de calidad de las drogas oficiales y sustituyentes. **Acta Fam. Bonaerense**, v. 19: 99-103. 2000.

GIRI, C.C.; SHYAMKUMAR, B.; ANJANEYULU, C. Progresses in tissue culture, genetic transformation and applications of biotechnology to trees and overview. **Tree**, v. 18, n. 2, p. 115-135. 2004.

HONDA, H.; LIU, C.; KOBAYASHI, T. Large-scale plant micropropagation. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.**, v. 49, n. 1, p. 41-45. 2001.

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

NURNBERG, V.. Estudo fitoquímico de *Baccharis myriocephala* e uso de  $\beta$ -pineno para obtenção de orto-mentanos. Dissertação de Mestrado da Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Brasil. p. 21. 1997.

SILVA, S.; SATO, A.; LAGE, C.L.S.; SAN GIL, R.A.S.; AZEVEDO, D.A.; ESQUIBEL, M.A. Essential oil Composition of *Melissa officinalis* L. in vitro Produced under the Influence of Growth Regulators. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1387-1390. 2005.

SIMÕES-PIRES, C.A.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; MENTZ, L.A.; MATZENBACHER, N.I.; LIMBERGER, R.P.; HENRIQUES, A.T. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. **Pl. Syst. Evol.**, v. 253, p. 23-32. 2005.

## PALAVRAS-CHAVES

*Baccharis myriocephala*; Asteraceae; carqueja; cultivo *in vitro*; reguladores de crescimento.\*

---

\* Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq e CAPES.

## Efeito de ANA e TDZ na calogênese *in vitro* de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith).

Machado, Isaac Stringueta<sup>1</sup>; Soriano, Leonardo<sup>2</sup>; Gomes, Allan Correia<sup>2</sup>; Bertozzo, Fernanda<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Professor Doutor (UNESP-FCA), Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [isaac@fca.unesp.br](mailto:isaac@fca.unesp.br);

<sup>2</sup>Graduando (UNESP-FCA), Curso de Engenharia Florestal, Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (19) 9141-8231, email: [soriano@fca.unesp.br](mailto:soriano@fca.unesp.br) e [acgomes@fca.unesp.br](mailto:acgomes@fca.unesp.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agricultura (UNESP-FCA), Programa de Pós-Graduação em Agricultura, Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 9712-4640, email: [bertozzo@fca.unesp.br](mailto:bertozzo@fca.unesp.br).

O curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith) é uma bromélia originária do Complexo Amazônico cujas fibras naturais (biomassa renovável e biodegradável) substituem as de origem sintética na indústria, especialmente a automobilística, onde são empregadas na composição de novos materiais (“composites”). A calogênese e a produção de células não diferenciadas representa importante contribuição para o melhoramento genético da espécie, pois através da organogênese indireta pode-se obter variantes somaclonais, com valores agronômicos agregados, ou mesmo, facilitar a obtenção de protoplastos para o emprego da tecnologia molecular do DNA-recombinante. A indução da calogênese está relacionada ao “pool” de hormônios vegetais endógenos, sendo também influenciada pela suplementação exógena de reguladores vegetais; dentre estes, destacam-se o Thidiazuron (TDZ), por ser a mais potente das difeniluréias avaliadas na cultura de tecidos, e o ácido naftalenoacético (ANA), auxina bastante empregada na obtenção de calos. Este trabalho teve como finalidade desenvolver protocolo laboratorial para a indução da calogênese, manutenção e cultivo *in vitro* de células não diferenciadas provenientes de plantas de curauá. Foram selecionadas matrizes do banco de germoplasma do Departamento de Recursos Naturais (FCA-UNESP) e delas coletados rebentos jovens, que passaram por tratamentos prévios de desinfestação com benomyl, etanol (70%), hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) e proteção antioxidante com ácido ascórbico. Em condições assépticas, procedeu-se desfolhamento segundo a filotaxia original e a extração de gemas epicórmicas apicais e axilares. Os meristemas assim obtidos foram inoculados e estabelecidos *in vitro* em meio nutritivo basal de Murashige & Skoog (1962), consistência sólida, por um período de 20 dias, no escuro e temperatura ambiente de 27 ±3 C°. As gemas “habitadas” foram transferidas para meio MS sólido suplementado com diferentes concentrações de ANA e TDZ: T1-ausência de reguladores; T2 – 0,0 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 0,25 mg. L<sup>-1</sup> de TDZ; T3 - 0,0 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 0,5 mg. L<sup>-1</sup> de TDZ; T4 – 0,0 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 1,0 mg. L<sup>-1</sup> de TDZ; T5 – 1,0 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 0,0 mg. L<sup>-1</sup> de TDZ; T6 - 2,0 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 0,0 mg. L<sup>-1</sup> de TDZ; T7 - 3,0 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 0,0 mg. L<sup>-1</sup> de TDZ. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado e o número de repetições 10, sendo 1 gema por frasco. Os resultados fisiológicos de massa fresca, massa seca e teor protéico total foram comparados estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05%). A calogênese e cultivo dos aglomerados mostraram-se viáveis na ausência de regulador de crescimento e nos tratamentos com TDZ, onde a produção de calos foi proporcional à elevação da concentração. O mesmo não ocorreu na presença de ANA e os meristemas, em poucos dias, entraram em senescência e posterior necrose. Como conclusões para a espécie e condições empregadas: o TDZ aplicado de maneira isolada pode ser um poderoso indutor da calogênese, especialmente na concentração de 1,00 mg.L<sup>-1</sup>; é possível a calogênese espontânea *in vitro*, em meio nutritivo basal MS, sem a presença de regulador vegetal; o ANA reprime a resposta promotora da calogênese.

### PALAVRAS-CHAVES:

*Ananas erectifolius* L.B.Smith; calogênese *in vitro*; ANA; TDZ; regulador vegetal.



## Calogênese em diferentes tipos de explantes de paricá na presença de 2,4-D.

Lulla Naiff Rabelo de Souza Reis<sup>1</sup>; Osmar Alves Lameira<sup>2</sup>; Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro<sup>3</sup>; Allan Guerreiro Carneiro<sup>4</sup>; Carla Vanessa Borges Castro<sup>5</sup>; Silvaney Fonseca Ferreira<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFV) Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa-MG, CEP 36570-000. e-mail: [naiff\\_agro@yahoo.com.br](mailto:naiff_agro@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. Trav. Dr. Enéas Pinheiro sn, CP 48, Belém-PA, CEP 66095-100, e-mail: [osmar@cpatu.embrapa.br](mailto:osmar@cpatu.embrapa.br); <sup>3</sup>Doutoranda do curso de Ciências Florestais (UFRA). Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530, e-mail: [mgti@amazon.com.br](mailto:mgti@amazon.com.br); <sup>4</sup>Cientista da Computação (CESUPA). Av. Governador José Malcher, 1963, Belém-PA, CEP: 66060-230, e-mail: [allanquerreiro@yahoo.com.br](mailto:allanquerreiro@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestre em Agronomia (UFRA), e-mail: [carlinhaufra@hotmail.com](mailto:carlinhaufra@hotmail.com); <sup>6</sup>MSc em Ciência Animal (UFPA). Rua Augusto Côrrea, 01, Guamá, Belém-PA. CEP 66075-110 - CP 479, e-mail: [silvaney8@yahoo.com.br](mailto:silvaney8@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

O paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby) é uma espécie florestal, cuja madeira é leve, com coloração branco-amarelado-claro, de processamento fácil e com bom acabamento (Sousa et al., 2005), sendo que um dos principais usos é a produção de lâminas para compensados. Algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando definir metodologia de micropropagação do paricá com vista ao melhoramento dos plantios, contudo, ainda não foi possível o estabelecimento de um processo clonal da espécie. Tendo em vista a necessidade de estudos referentes à aplicação da cultura de tecidos no paricá, faz-se necessária a busca por técnicas alternativas que possibilitem a definição de um protocolo de clonagem dessa espécie. Assim, a regeneração das plantas *in vitro*, diretamente a partir do explante ou através do cultivo de calos, pode ser uma alternativa para propagação deste material de qualidade.

Calos são tecidos que podem apresentar diferenciação parcial, constituídos por uma massa de células irregulares, que se multiplicam desordenadamente, em resposta a injúrias químicas ou físicas e que possuem a capacidade de se diferenciar em tecidos órgãos e até embriões, podendo regenerar plantas inteiras (Torres & Caldas, 1990; Paiva & Paiva, 2001).

De uma maneira geral, concentrações equivalentes de auxina e de citocininas no meio promovem a calogênese, entretanto, isso varia em função do tipo e idade do explante utilizado, genótipo da planta doadora e do balanço hormonal da espécie, sendo que para algumas espécies apenas a adição de auxina ao meio de cultura pode ser suficiente para indução de calos, e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) é a auxina sintética mais relatada para induzir o processo de calogênese.

O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de indução de calos *in vitro* a partir do cultivo de diferentes explantes de paricá em meio de cultura MS adicionado de 2,4-D.

### MATERIAL E MÉTODOS

Como fontes de explante foram utilizadas plântulas germinadas *in vitro* com 20 dias de cultivo. Os tratamentos testados foram constituídos de de diferentes combinações de 2,4-D (0, 2 e 3 mg.L<sup>-1</sup>) com BAP (0, 2 e 3 mg.L<sup>-1</sup>) e 5 fontes de explante (segmento apical – SA; segmento nodal – SN; segmento intercotiledonar – SI; segmento foliar – SF e segmento cotiledonar – SC). Os segmentos apical e nodal, ambos medindo em torno de 0,5 cm e segmento intercotiledonar de aproximadamente 1,0 cm foram inoculados na posição horizontal, enquanto que segmentos foliares e cotiledonares de 0,5 cm<sup>2</sup> foram inoculados com a superfície abaxial voltada para o meio de cultivo. Todos os explantes foram inoculados em frascos contendo 40 mL de meio de cultura básico MS com as concentrações de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e Fe-EDTA reduzidas a metade (demais componentes em suas concentrações normais), sacarose 3%, ágar 0,6%, pH 5,8, e suplementado com o antioxidante ácido cítrico 0,1%, na presença ou ausência de 2,4-D e BAP, e mantidos no escuro em sala de crescimento sob temperatura de 24 ± 1°C.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 x 5 (5 combinações de 2,4-D com BAP e 5 fontes de explante), com 5 repetições, totalizando 125 unidades experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por um frasco contendo 3 explantes. A avaliação do experimento foi realizada 20 dias após a inoculação, onde se avaliou o percentual de explantes com calos; área dos explantes cobertas por calos, levando em consideração as seguintes notas: 1, 2, 3 e 4 para os explantes que apresentavam, respectivamente, 25, 50, 75 e 100% da área coberta com calos; a textura; coloração e oxidação. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando houve efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de percentual de explantes com calos foram transformados para  $\arcsen (X/100)^{1/2}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo análise de variância, houve efeito significativo, para indução de calos e área coberta por estes, entre os explantes de paricá e entre as concentrações de 2,4-D, ao nível de 1% de probabilidade, enquanto que a interação entre esses dois fatores só foi significativa para o percentual de explantes com calos.

A formação de calos iniciou-se a partir de quinto dia de cultivo nos segmentos intercotiledonares e a partir do décimo dia nos demais explantes. Conforme a Tabela 1, não houve indução de calos em segmentos foliares e cotiledonares na ausência de reguladores de crescimento. Por outro lado, 56,3% dos segmentos apicais formaram calos sob essa mesma condição, não diferindo estatisticamente daqueles submetidos às concentrações de 2 e 4 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D, sendo que a concentração de 6 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D proporcionou o maior percentual de explantes apicais com calos (100%). Da mesma forma, segmentos nodais e intercotiledonares formaram calos em meio MS sem adição de 2,4-D, com 90,3 e 87,5%, respectivamente, os quais também não diferiram dos demais tratamentos contendo esse regulador de crescimento (Tabela 1). Essa diferença de resposta entre explantes extraídos da mesma planta na ausência de reguladores, é justificável, uma vez que segmentos apicais, nodais e intercotiledonares apresentam maior atividade meristemática em relação às folhas e cotilédones, que contêm maior número de células diferenciadas.

Com relação aos segmentos foliares, a concentração de 2 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D foi a mais eficiente, com 100% de calogênese, enquanto que para segmentos cotiledonares, não houve diferença significativa entre as três concentrações de 2,4-D estudadas (Tabela 1).

Tabela 1. Percentual de explantes de paricá que formaram calos na presença de diferentes concentrações de 2,4-D. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007.

2,4-D (mg.L <sup>-1</sup> )	SA	SN	SIC	SF	SC
	%				
0	56,3 bA	90,3 aA	87,5 aA	0,0 cB	0,0 bB
2	68,8 bB	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA	91,7 aAB
4	66,7 bB	100,0 aA	100,0 aA	66,7 bB	75,0 aAB
6	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA	75,0 bA	100,0 aA

Médias seguidas por letras distintas entre si comparam: minúsculas, as concentrações de 2,4-D; e maiúsculas, as fontes de explante (SA – segmento apical; SN – segmento nodal; SIC – segmento intercotiledonar; SF – segmento foliar e SC – segmento cotiledonar), ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

De uma forma geral, segmentos nodais e intercotiledonares apresentaram as melhores respostas para formação de calos, independente da concentração de 2,4-D utilizada. Segundo Watt (1999), a indução de calos de *Eucalyptus* foi obtida em meio MS com concentrações de 1 a 5 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D, na ausência de luz. Mesquita (1999) e Lima (2004) observaram que a concentração de 4 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D foi a mais eficiente para a indução de calos em lechieira (*Litchi chinensis* Sonn.) e sangra d'água (*Croton urucurana* Baill), respectivamente. Já Sahoo et al. (1997) verificaram que concentrações entre 0,5 a 4 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D não foram eficientes para a formação de calos em explantes foliares de amoreira (*Morus indica*). Rodrigues (2000) induziu calos em diversos tipos de explantes (segmentos nodais, ápices, discos foliares, epicólitos e cotilédones) de cupuaçu (*Theobroma*

*grandiflorum* Wildenow wx. Sprengel) e verificou que os cotilédones foram os mais responsivos à formação de calos na presença de 2,4-D.

De acordo com a Figura 1, segmentos intercotiledonares apresentaram maior área coberta por calos (62%), porém não diferiu significativamente de segmentos nodais (50%). Segmentos apicais, cotiledonares e foliares foram menos eficientes, com 30, 27 e 24% de cobertura por calos, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si.

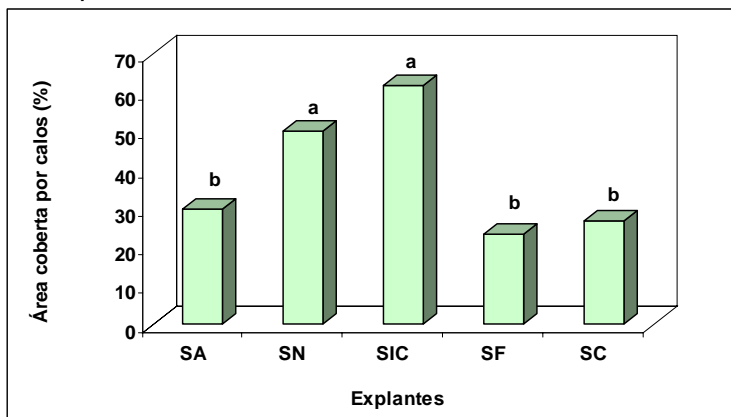


Figura 1. Média de área coberta por calos em diferentes explantes de paricá inoculados em meio MS adicionado de 2,4-D. Letras distintas entre si comparam as médias de área coberta por calos, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Em relação ao 2,4-D, a concentração de 6 mg.L<sup>-1</sup> proporcionou a maior área coberta em todos os explantes utilizados (segmentos apical, nodal, intercotiledonar, foliar e cotiledonar), com 58% em média de cobertura por calos (Figura 2). Resultado semelhante foi obtido por Mesquita (1999), o qual constatou que a concentração de 6 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D proporcionou um grande volume de calos em lechieira (*Litchi chinensis*).

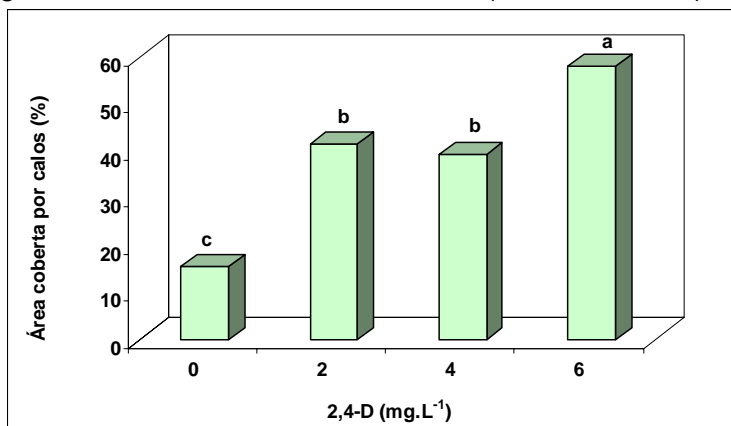


Figura 2. Média de área coberta por calos em explantes de paricá inoculados em meio MS na presença de diferentes concentrações de 2,4-D. Letras distintas entre si comparam as médias de área coberta por calos, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

As concentrações de 2 e 4 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D não apresentaram diferença significativa entre si, com respectivamente, 41 e 39%. E quando não foi adicionado 2,4-D ao meio de cultivo, a área dos explantes coberta por calos foi relativamente pequena (15%), conforme mostra a Figura 2. Os calos formados em explantes de paricá, iniciados a partir do quinto dia de cultivo (Figura 3A) apresentaram-se translúcidos até o décimo quinto dia (Figura 3B), assumindo no momento da avaliação coloração bege (Figura 3C), e a partir daí cores mais escuras até a total oxidação após 35 dias de inoculação (Figuras 3D, 3E e 3F). Este fato pode ter ocorrido em função da exaustão de nutrientes ou liberação de substâncias fenólicas no meio de cultivo, sendo que a transferência para novo meio de cultura deve ser feita em torno de 20 dias após a inoculação. Quanto à textura, os calos foram predominantemente friáveis.



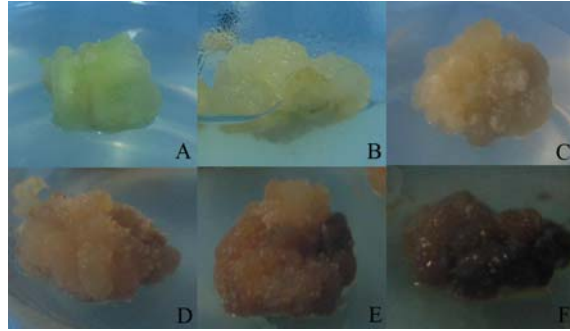


Figura 3. Formação de calos em segmentos intercotiledonares de paricá cultivados em meio MS suplementados com 2 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D, com 5 (A), 15 (B), 20 (C), 25 (D), 30 (E) e 35 (F) dias de cultivo. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007.

### CONCLUSÕES

Na ausência de regulador de crescimento não há calogênese em segmentos foliares e cotiledonares; e na presença de 2,4-D, a formação de calos independe do explante e da concentração utilizada, sendo que segmentos intercotiledonares foram os mais eficientes para indução de calos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LIMA, E.C. **Micropropagação, calogênese e anatomia foliar de sangra d'água (*Croton urucurana* Baill)**. Lavras: UFLA, 2004. 105p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

MESQUITA, A.C. **Estabelecimento *in vitro* de lechieira (*Litchi chinensis* Sonn) através do cultivo de segmentos foliares e nodais e análise bioquímica de calos**. Lavras: UFLA, 1999. 67p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

PAIVA, R.; PAIVA, P.D. O. **Textos acadêmicos: cultura de tecidos**. Lavras: FAEPE/UFLA. 2001. 97p.

RODRIGUES, E.F. **Desenvolvimento de eixo embrionário *in vitro* e calogênese de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willdenow wx. Sprengel) e estabelecimento do ápice caulinar de bacuri (*Platonia insignis* Martius)**. Jaboticabal: UNESP, 2000. 60p. Tese (Doutorado em Agronomia).

SAHOO, Y.; PATTNAIK, S.K.; CHAND, P.K. Plant regeneration from callus cultures of *Morus indica* L. derived from seedlings and mature plants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.69, n.1/2, p.85-98, mar. 1997.

SOUSA, D.B.de; CARVALHO, G.S.; RAMOS, E.J.A. **Paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke)**. Manaus: INPA. n.13, 2005. 2p. (Informativo Técnico Rede Sementes da Amazônia).

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações de cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA, 1990. 433p.

WATT, M.P.; BLAKEWAY, R.; TERMIGNONI, R.; JAIN, S.M. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus grandis* and *E. dunnii*. In: JAIN, S.M.; GUPTA, P.K.; NEWTON, R.J. (Ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants**. Boston: USA, v.5, 1999, p.63-78.

### PALAVRAS-CHAVE

*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, calos, 2,4-D, explantes.

## ORGANOGENESE INDIRETA E MICROPROPAGAÇÃO DE *Eucalyptus camaldulensis*

Quisen, Regina<sup>1</sup>; Lima; Yohana de Oliveira Ugarelli Lima<sup>2</sup>; Pillegi, Marcos<sup>3</sup>; Bespalhok Filho, João Carlos<sup>4</sup>; Cuquel, Francine Lorena<sup>4</sup>; Quoirin, Marguerite<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Amazônia Ocidental, pesquisadora, Caixa Postal 319, CEP 69011-970, Manaus, Amazonas, fone (92) 36210300, e-mail: rquisen@cpaa.embrapa.br; <sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná (UFPR), Pós-Graduação em Agronomia, mestrandia, Curitiba, Paraná; <sup>3</sup>Universidade Estadual de Ponta Grossa, professor, Ponta Grossa, Paraná; <sup>4</sup>UFPR, professor(a), Curitiba, Paraná.

Até o momento, os resultados de organogênese adventícia indireta com espécies lenhosas tem sido limitantes para a utilização destas espécies nos sistemas de transformação e obtenção de plantas transgênicas. Neste sentido, em função dos comportamentos apresentados pelas diversas espécies do gênero *Eucalyptus* e, diante da potencialidade da utilização do *Eucalyptus camaldulensis* nos programas de transformação genética, os objetivos deste trabalho foram comparar a resposta organogênica de explantes cotiledonares e foliares em diferentes meios de cultura e estabelecer as condições para a otimização da organogênese indireta da espécie. Foram realizados experimentos com meios de cultura JADS, MS, MS N/2, com metade da concentração de nitratos de amônio e potássio, WPM e B5 contendo 2% de sacarose, além dos fitorreguladores BAP, TDZ, CIN, ANA, 2,4-D e picloram, combinados nos diferentes ensaios. Os resultados obtidos demonstraram que os explantes cotiledonares e foliares respondem de maneira diferente quanto à capacidade regenerativa quando cultivados nos mesmos meios de cultura, sendo a regeneração foliar pouco satisfatória. O meio de cultura MS N/2 suplementado com 2% de sacarose, 0,6% de ágar, 10% de água de coco, 4,4 µM de BAP e 2,7 µM de ANA proporcionou melhor condição para a organogênese indireta a partir de explantes cotiledonares. A multiplicação das brotações regeneradas foi superior em meio contendo os sais do MS com 2,64 µM de BAP, 0,5 µM de ANA, 3% de sacarose, 0,7% de ágar, 1,0 mg L<sup>-1</sup> de tiamina, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de piridoxina e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ácido nicotínico. Plântulas com aproximadamente 1,5 cm de altura foram enraizadas em meio MS/2 com 3% de sacarose, 0,7% de ágar e 0,2% de carvão ativado. Em seguida foram aclimatizadas em tubete contendo vermiculita de granulometria fina e terra (1:1) em casa-de-vegetação com nebulização intermitente proporcionando 87% de sobrevivência.

### PALAVRAS-CHAVE

eucalipto, regeneração *in vitro*, espécies lenhosas, cultura de tecidos.

## Indução de calos *in vitro* em diferentes explantes de paricá.

Lulla Naiff Rabelo de Souza Reis<sup>1</sup>; Osmar Alves Lameira<sup>2</sup>; Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro<sup>3</sup>; Allan Guerreiro Carneiro<sup>4</sup>; Carla Vanessa Borges Castro<sup>5</sup>; Silvaney Fonseca Ferreira<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFV) Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa-MG, CEP 36570-000. e-mail: [naiff\\_agro@yahoo.com.br](mailto:naiff_agro@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. Trav. Dr. Enéas Pinheiro sn, CP 48, Belém-PA, CEP 66095-100, e-mail: [osmar@cpatu.embrapa.br](mailto:osmar@cpatu.embrapa.br); <sup>3</sup>Doutoranda do curso de Ciências Florestais (UFRA). Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530, e-mail: [mgti@amazon.com.br](mailto:mgti@amazon.com.br); <sup>4</sup>Cientista da Computação (CESUPA). Av. Governador José Malcher, 1963, Belém-PA, CEP: 66060-230, e-mail: [allanguerreiro@yahoo.com.br](mailto:allanguerreiro@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestre em Agronomia (UFRA), e-mail: [carlinhaufra@hotmail.com](mailto:carlinhaufra@hotmail.com); <sup>6</sup>MSc em Ciência Animal (UFPA). Rua Augusto Côrrea, 01, Guamá, Belém-PA. CEP 66075-110 - CP 479, e-mail: [silvaney8@yahoo.com.br](mailto:silvaney8@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

O *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (paricá) ocorre na Amazônia brasileira, venezuelana, colombiana, peruana e boliviana. No Brasil, é encontrado nos estados do Amazonas, Pará, Mato Grosso e Rondônia, em solos argilosos de florestas primárias e secundárias, tanto em terra firme quanto em várzea alta (Sousa et al., 2005), é uma espécie de grande interesse econômico, principalmente em relação à produção de lâminas para compensados.

Na literatura, há poucas informações a respeito da aplicação da cultura de tecidos no paricá, e nos estudos da micropropagação *in vitro* da espécie, tem-se esbarado na dificuldade de estabelecimento de um protocolo dessa cultura, em função de ainda não ter sido possível obter uma taxa de enraizamento satisfatório. Porém, observa-se a presença constante de calos, o que sugere estudos acerca dos mesmos, de forma a aproveitar a potencialidade de regeneração dessas estruturas.

Uma das respostas mais comuns induzida em um tecido cultivado *in vitro* é a formação de calo, que é caracterizado por uma massa de células não diferenciada, de proliferação contínua e desordenada (Handro & Floh, 1990), que se desenvolve como resposta a alguma lesão química ou física (Paiva Neto, 1996).

A produção de calos depende de um balanço adequado de reguladores de crescimento (geralmente auxinas e citocininas) no meio de cultura. Porém este balanço varia grandemente com relação ao tipo de explante, tais como folhas, anteras, segmentos nodais, raízes, rizomas, etc., e à espécie com a qual se está trabalhando (Santos, 1998). Tisserat (1985) verificou que a produção de calos pode ser induzida apenas pela adição de auxina, contudo ocorreu o aumento da proliferação destes quando se adicionou citocinina ao meio nutritivo.

A escolha do explante é um dos fatores mais importantes para a indução de calos sendo que praticamente qualquer parte da planta, pode ser utilizada como explante, mas Pierik (1990) recomenda utilizar aqueles que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que apresentem maior capacidade de expressar a totipotência. O objetivo do trabalho foi estudar o processo de indução de calos *in vitro* em diferentes explantes de paricá, a partir da interação entre 2,4-D e BAP.

## MATERIAL E MÉTODOS

Como fontes de explante foram utilizadas plântulas germinadas *in vitro* com 20 dias de cultivo. Os tratamentos testados foram constituídos de 3 combinações de 2,4-D e BAP (0, 1 e 2 mg.L<sup>-1</sup>) e 4 fontes de explante (segmento apical – SA; segmento nodal – SN; segmento intercotiledonar – SI e segmento cotiledonar – SC) .

Os segmentos apical e nodal, ambos medindo em torno de 0,5 cm e segmento intercotiledonar de aproximadamente 1,0 cm foram inoculados na posição horizontal, enquanto que segmentos cotiledonares de 0,5 cm<sup>2</sup> foram inoculados com a superfície

abaxial voltada para o meio de cultivo. Todos os explantes foram inoculados em frascos contendo 40 mL de meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962) com as concentrações de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e Fe-EDTA reduzidas a metade (demais componentes em suas concentrações normais), sacarose 3%, ágar 0,6%, pH 5,8, e suplementado com o antioxidante ácido cítrico 0,1%, na presença ou ausência de 2,4-D e BAP, e mantidos no escuro em sala de crescimento sob temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ .

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 x 5 (5 combinações de 2,4-D com BAP e 5 fontes de explante), com 5 repetições, totalizando 125 unidades experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por um frasco contendo 3 explantes. A avaliação do experimento foi realizada 20 dias após a inoculação, onde se avaliou o percentual de explantes com calos; cobertura dos explantes por calos, levando em consideração as seguintes notas: 1, 2, 3 e 4 para os explantes que apresentavam, respectivamente, 25, 50, 75 e 100% da área coberta com calos; a textura; coloração e oxidação.

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando houve efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de percentual de explantes com calos e oxidação foram transformados para  $\arcsen(X/100)^{1/2}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra que na ausência de reguladores de crescimento, não houve resposta calogênica em segmentos cotiledonares de paricá, mostrando que esses explantes não possuem concentrações suficientes de fitormônios endógenos para indução de calos, e também pelo fato de conter maior número de células já diferenciadas, em relação aos demais explantes que contêm maior atividade meristemática.

Observou-se que quando não houve suplementação com 2,4-D e BAP, segmentos apicais e nodais apresentaram maior percentual de explantes com calos, com 83,4 e 91,1%, respectivamente, em relação aos tratamentos em que houve adição desses reguladores de crescimento ao meio de cultivo. Tal fato demonstra que as concentrações de 2,4-D e BAP estudadas neste trabalho ocasionaram um desbalanço hormonal nesses explantes, reduzindo a resposta calogênica. Ao contrário do observado neste estudo, Rahim et al. (2003) observaram que na ausência de reguladores de crescimento, não houve formação de calos segmentos nodais de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*).

Para segmentos intercotiledonares, não foi verificada diferença significativa entre as interações de 2,4-D e BAP e a ausência destes, enquanto que para segmentos cotiledonares, só houve calogênese na presença de reguladores de crescimento. Em relação às diferenças entre os explantes, foi observado que segmentos apicais, nodais e intercotiledonares, não diferiram estatisticamente entre si na ausência de reguladores de crescimento, enquanto que nos demais tratamentos, segmentos intercotiledonares e cotiledonares apresentaram maior percentual de explantes com calos em relação aos segmentos apicais e nodais (Tabela 1).

Tabela 1. Calogênese em diferentes fontes de explante de paricá em presença de 2,4-D e BAP.

2,4-D + BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	SA	SN	SIC	SC
	%			
0 + 0	83,4 aA	91,1 aA	91,7 aA	0,0 bB
2 + 1	13,4 cB	38,2 bB	100,0 aA	100,0 aA
1 + 2	23,6 bB	33,8 bB	100,0 aA	91,7 aA

Médias seguidas por letras distintas entre si comparam: minúsculas, as combinações de 2,4-D e BAP; e maiúsculas, as fontes de explante (SA – segmento apical; SN – segmento nodal; SIC – segmento intercotiledonar; SF – segmento foliar e SC – segmento cotiledonar), ao nível de 5% pelo Teste SNK.

Trabalhando com a mesma espécie, Cordeiro et al. (2003) verificaram que o melhor comportamento dos explantes caulinares de paricá foi observado na presença de 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP com 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB e 1 mg.L<sup>-1</sup> de KIN com 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, apresentando 90 % e 75 % de formação de calos, respectivamente.

Na ausência de reguladores de crescimento, o percentual de cobertura por calos em segmentos apicais, nodais e intercotiledonares não apresentou diferença significativa entre si, enquanto que em segmentos cotiledonares não houve formação de calos, conforme é apresentado na Tabela 2.

Em segmentos apicais, a maior cobertura por calos ocorreu na ausência de 2,4-D e BAP, enquanto que para segmentos nodais, não houve diferença estatística entre os tratamentos empregados. Verificou-se ainda que, mesmo não tendo ocorrido diferença significativa entre os segmentos intercotiledonares cultivados nos diferentes meios de cultivo, conforme foi mostrado na Tabela 1, o maior percentual de cobertura por calos ocorreu na presença de 2,4-D e BAP, sendo que esse explante apresentou maior percentual de cobertura por calos em relação aos demais explantes (Tabela 2).

Tabela 2. Percentual de cobertura por calos em diferentes fontes de explantes de paricá na presença de 2,4-D e BAP.

2,4-D + BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	SA	SN	SIC	SC
	%			
0 + 0	30,0 aA	33,8 aA	36,9 bA	0,0 bB
2 + 1	7,60 bC	19,1 aBC	65,0 aA	40,1 aB
1 + 2	13,4 bC	19,7 aC	73,2 aA	33,1 aB

Médias seguidas por letras distintas entre si comparam: minúsculas, as combinações de 2,4-D e BAP; e maiúsculas, as fontes de explante (SA – segmento apical; SN – segmento nodal; SIC – segmento intercotiledonar; SF – segmento foliar e SC – segmento cotiledonar), ao nível de 5% pelo Teste SNK.

Na pesquisa realizada por Azevedo (2003) com explantes foliares de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), a máxima produção de calos foi obtida utilizando-se 2 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Nos trabalhos de Rady e Nazif (1997), verificou-se que o uso de 2 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP foi significativo na produção de calos em sene (*Cassia acutifolia*), e Goleniowski et al. (1992) observaram uma influência positiva do BAP associado ao 2,4-D na produção de calos em *Ambrosia tenuifolia*. Bhau e Wakhlu (2001) constataram que segmentos foliares foram os melhores tipos de explantes usados para indução de calos em amoreira (*Morus alba*), e que a melhor resposta calogênica foi obtida na presença de 1 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, com 95 a 100% de formação de calos.

De acordo com análise visual, os calos formados apresentaram coloração bege e textura friável (Figura 1A) e branco com aspecto compacto (Figura 1B).

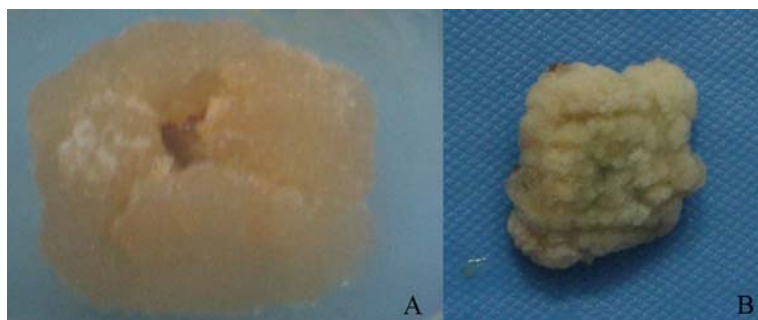


Figura 1. Formação de calos em segmentos cotiledonares de paricá cultivados em meio MS adicionados de 2,4-D e BAP, de coloração bege e aspecto friável (A) e brancos de textura compacta (B).

Observou-se que houve mais oxidação nos explantes inoculados em meio MS sem adição de reguladores de crescimento, apesar de ter sido bastante freqüente nos demais tratamentos, dificultando o subcultivo dos mesmos. Por sua vez, Cordeiro et al. (2003) verificaram que os tratamentos sem regulador de crescimento apresentaram o menor percentual de oxidação em explantes de paricá, e à medida que aumentava a concentração do regulador, maior era a oxidação.

## CONCLUSÕES

Na ausência de regulador de crescimento não há calogênese em segmentos cotiledonares; e na presença de 2,4-D e BAP há maior cobertura por calos, sendo que segmentos intercotiledonares são os explantes mais eficientes para obtenção de calos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, K. de S. **Indução e análises bioquímicas de calos e aspecto da anatomia foliar de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.)**. Lavras: UFLA, 2003. 86p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

BHAU, B.S.; WAKHLU, A.K. Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.66, n.1, p.25-29, July, 2001. Disponível em <<http://www.springerlink.com/content/g3k47nkp47122485/?p=0ab81a6b172047df941786c319673d33&pi=3>>. Acesso em 10 out. 2006.

CORDEIRO, I.M.C.C., LAMEIRA, O. A., OHASHI, S.T., Indução de calos in vitro de a partir de explantes caulinares de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá), In: 4 ENCONTRO DE GENÉTICA DO AMAZONAS, 1 ENCONTRO DE GENÉTICA DA REGIÃO NORTE. **Resumos**, Manaus (AM), ago. 2003, p.134.

GOLENIOWSKI, M.E.; SILVA, G.L.; TRIPPI, V.S. Effect of phytohormones on sesquiterpene lactone production in callus culture of *Ambrosia tenuifolia*. **Phytochemistry**, Oxford, v.31, n.7, p.2359-2361, July 1992.

HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. Aspectos básicos do controle da morfogênese *in vitro*. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA, CNPH, 1990, p.203-212.

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

PAIVA NETO, V.B. **Comportamento in vitro de tecido foliar e segmento nodal de moreira (*Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudichaud)**. Lavras: UFLA, 1996. 39p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

PIERIK, R.L.M. **Cultivo in vitro de las plantas superiores**. Martins Nijoff, 1990. 326p.

RADY, M.R.; NAZIF, N.M. Response of explant type to proliferation and anthraquinones accumulation in *Cassia acutifolia*. **Fitoterapia**, Roma, v.68, n.4, p.349-354, 1997.

RAHIM, F.; JABEEN, M.; ILAHI, I. Mass Propagation in *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. **Asian Journal of Plant Sciences**, v.2, n.2, p.184-187, 2003. Disponível em: <<http://www.ansinet.org/fulltext/ajps/ajps22184-187.pdf>>. Acesso em: 22 mai. 2006.

SANTOS, M.R.A. dos. **Germinação, calogênese e caracterização de saponinas em *Smilax japecanga* Grisebach**. Lavras: UFLA, 1998, 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

SOUSA, D.B.de; CARVALHO, G.S.; RAMOS, E.J.A. **Paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke)**. Manaus: INPA. n.13, 2005. 2p. (Informativo Técnico Rede Sementes da Amazônia). Disponível em: <<http://www.rsa.ufam.edu.br/8080sementesespeciespdfdoc13.pdf>>. Acesso em 22 mai. 2006.

TISSERAT, B. Embryogenesis, organogenesis on plant regeneration. In: DIXON, R.A. (Ed.). **Plant cell culture: a practical approach**. Oxford: IRL Press, 1985. p. 9-105.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, calogênese, 2,4-D, BAP.



## Indução de brotações *in vitro* de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*.

Lulla Naiff Rabelo de Souza Reis<sup>1</sup>; Osmar Alves Lameira<sup>2</sup>; Allan Guerreiro Carneiro<sup>3</sup>; Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro<sup>4</sup>; Silvaney Fonseca Ferreira<sup>5</sup>; Carla Vanessa Borges Castro<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFV) Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa-MG, CEP 36570-000. e-mail: [naiff\\_agro@yahoo.com.br](mailto:naiff_agro@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. Trav. Dr. Enéas Pinheiro sn, CP 48, Belém-PA, CEP 66095-100, e-mail: [osmar@cpatu.embrapa.br](mailto:osmar@cpatu.embrapa.br); <sup>3</sup>Cientista da Computação (CESUPA). Av. Governador José Malcher, 1963, Belém-PA, CEP: 66060-230, e-mail: [allanguerreiro@yahoo.com.br](mailto:allanguerreiro@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutoranda do curso de Ciências Florestais (UFRA). Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530, e-mail: [mgti@amazon.com.br](mailto:mgti@amazon.com.br); <sup>5</sup>MSc em Ciência Animal (UFPA). Rua Augusto Côrrea, 01, Guamá, Belém-PA. CEP 66075-110 - CP 479, e-mail: [silvaney8@yahoo.com.br](mailto:silvaney8@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Mestre em Agronomia (UFRA), e-mail: [carlinhaufra@hotmail.com](mailto:carlinhaufra@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

O *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (paricá) é uma espécie que tem despertado interesse entre produtores rurais e madeireiros, devido ao valor comercial da madeira para a produção de laminados de excelente qualidade, como também pelo crescimento rápido da espécie, principalmente nos primeiros anos. Apesar da facilidade de se obter muda pelo método convencional, os plantios com o paricá precisam ser formados com plantas que tenham características de interesse, como fuste reto e crescimento uniforme, para melhorar seu rendimento. No entanto, no Estado do Pará, os plantios de paricá apresentam grande variação de crescimento e de produtividade, principalmente, devido a ausência de material genético melhorado. Assim, o desenvolvimento de metodologias de micropropagação *in vitro* tem sido apontado como alternativa potencial para produção de mudas de paricá, pela possibilidade de multiplicar fragmentos vegetais e se obter milhares de mudas geneticamente iguais à planta mãe e uniformização dos plantios.

As técnicas *in vitro* têm mostrado vantagens sobre os métodos da propagação tradicional, pois as culturas são iniciadas com fragmentos de plantas (explantes), requerem pequeno espaço para manter ou para aumentar o número de plantas e podem produzir plantas livres de patógenos (George, 1993).

As citocininas são os reguladores de crescimento mais utilizados na multiplicação *in vitro*, sendo a 6-benzilaminopurina (BAP) bastante empregado para esta finalidade, enquanto que as giberelinas incrementam tanto a divisão celular quanto o alongamento das células formadas (Taiz & Zeiger, 1991), mas têm como principal efeito estimular o crescimento de órgãos já formados, no entanto, podem inibir a iniciação de outros processos de formação de órgãos (George & Sherrington, 1984). De acordo com Guerra et al. (1998), um dos principais efeitos e aplicações das giberelinas em cultura de tecidos é o alongamento das brotações durante a multiplicação.

O objetivo do trabalho foi induzir brotações *in vitro* em três tipos de explante de paricá inoculados em meio MS contendo 6-benzilaminopurina (BAP), suplementados ou não de sacarose e ácido giberélico (AG<sub>3</sub>).

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental (Belém/PA). As sementes de paricá procedentes do município de Ji-Paraná, no Estado de Rondônia, foram obtidas através da Associação das Indústrias Exportadoras de Madeiras do Estado do Pará (AIMEX).

Como fontes de explante, foram utilizadas plântulas germinadas *in vitro* com 20 dias de cultivo. Os tratamentos testados foram constituídos de 3 concentrações de sacarose (0, 30 e 60 g.L<sup>-1</sup>), 2 concentrações de AG<sub>3</sub> (0 e 0,5 mg.L<sup>-1</sup>) e 3 tipos de explante (segmento apical – SA; segmento nodal – SN e segmento intercotiledonar – SIC).

Os explantes cortados com tamanho de aproximadamente 1,0 cm, foram inoculados na posição vertical em frascos contendo 40 mL de meio de cultura básico MS com as



concentrações de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e Fe-EDTA reduzidas a metade (demais componentes em suas concentrações normais), sacarose 3%, ágar 0,6%, e suplementado com BAP ( $3 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e 0,1% de ácido cítrico, pH 5,8, autoclavados a  $120^\circ\text{C}$  e 1,2 atm durante 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria e irradiância de  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial  $3 \times 3 \times 2$  (3 concentrações de sacarose, 3 tipos de explante e 2 concentrações de  $\text{AG}_3$ ), com 4 repetições, totalizando 72 unidades experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por um frasco contendo 3 explantes. As avaliações foram realizadas após 20 dias de cultivo, avaliando-se o número e comprimento dos brotos. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando houve efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico Sisvar. Os dados de número de brotos foram transformados para  $(X + 0,5)^{1/2}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância somente ocorreu diferença significativa entre as fontes de variação na ausência de  $\text{AG}_3$ . Tal fato demonstra que a presença desse regulador de crescimento, associado ao BAP, não influenciou na formação de brotos e nem no alongamento dos mesmos. Não houve formação de brotações quando o meio MS foi suplementado com  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP, mas na ausência de sacarose, , indicando que mesmo na presença de citocinina, há necessidade de adição de carboidrato ao meio de cultivo para multiplicação *in vitro* de paricá, independente do explante utilizado (Figura 1).

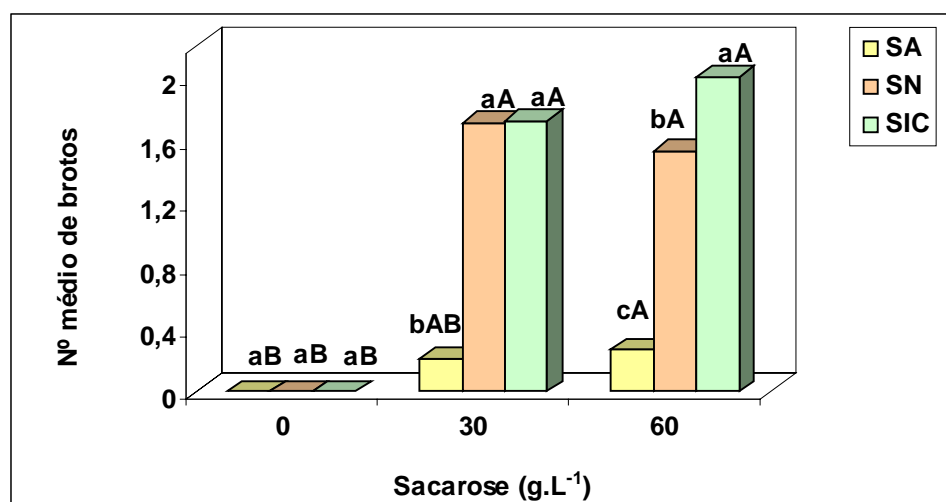


Figura 1. Número médio de brotos de paricá a partir de segmentos apical (SA), nodal (SN) e intercotiledonar (SIC), submetidos a diferentes concentrações de sacarose, em meio MS com  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam: minúsculas, os explantes dentro de cada concentração de sacarose; e maiúsculas, as concentrações de sacarose dentro de cada explante, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Quando foi usado  $30 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose, segmentos nodais e intercotiledonares não diferiram estatisticamente entre si, com respectivamente 1,71 e 1,72 brotações por explante, sendo superiores ao segmento apical, que apresentou em média 0,21 brotações por explante. Por outro lado, na concentração de  $60 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose, segmentos intercotiledonares foram mais eficientes (2 brotações/explante) que segmentos nodais, que formaram em média 1,53 brotos, e segmentos apicais, que apresentaram 0,27 brotos por explante. Nota-se ainda que não houve diferença significativa entre as concentrações de 30 e  $60 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose para cada explante avaliado (Figura 1).

Da mesma forma, Pinto et al. (1994) observaram que segmentos nodais de pausante (*Kielmeyra coriacea* Mart. Zucc) apresentaram maior capacidade de produção de brotos em relação aos segmentos apicais. Rodrigues et al. (2006) verificaram que as

concentrações de 30, 45 e 60 g L<sup>-1</sup> de sacarose apresentaram melhores resultados em macieira (*Malus domestica*), sendo a maior taxa de multiplicação obtida com os explantes de ápices caulinares.

O baixo número de brotos obtido neste trabalho já foi relatado por Cordeiro (2004) que estudou o efeito do BAP na proliferação *in vitro* de paricá, e obteve em média 2,14 brotos por explante, usando a concentração de 3 mg.L<sup>-1</sup> desse regulador de crescimento, e justificou que essa baixa multiplicação de brotos está relacionada com as características da própria planta.

Quanto ao comprimento dos brotos, foi verificado que no meio de cultivo contendo 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, segmentos nodais (0,32 cm) e intercotiledonares (0,46 cm) não diferiram significativamente entre si, e foram mais eficientes que segmentos apicais, os quais obtiveram brotos medindo em média 0,14 cm, conforme mostra a Figura 2.

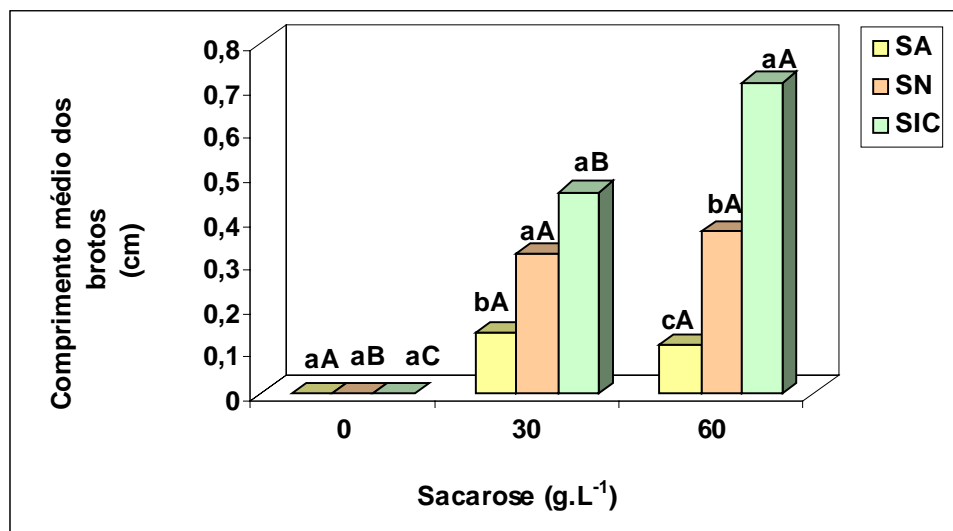


Figura 2. Comprimento médio de brotos de paricá a partir de segmentos apical (SA), nodal (SN) e intercotiledonar (SIC), submetidos a diferentes concentrações de sacarose, em meio MS com 3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam: minúsculas, os explantes dentro de cada concentração de sacarose; e maiúsculas, as concentrações de sacarose dentro de cada explante, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

No meio de cultura básico MS contendo 60 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, os segmentos intercotiledonares apresentaram resultados mais satisfatórios, com comprimento médio dos brotos de 0,71cm, diferindo estatisticamente de segmentos nodais (0,37cm) e apicais (0,11cm). Com relação a diferença entre concentrações de sacarose dentro de cada explante, só houve diferença significativa para segmentos intercotiledonares, os quais tiveram brotações mais alongadas na presença de 60 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Figura 2).

Ao contrário do verificado neste estudo, Sabá et al. (2002) observaram que segmento apical foi mais eficiente que segmento nodal na formação e comprimento de brotações de jaborandi (*Pilocarpus jaborandi*). Por sua vez, Andrade et al. (2000) verificaram que não houve diferença significativa entre segmentos apicais e nodais em relação ao comprimento das brotações de aroreira (*Myracrodruom urundeuva* Fr. All).

A Figura 3 ilustra brotações formadas a partir de segmento apical (3A), nodal (3B) e intercotiledonar (3C), evidenciando o aparecimento de lenticelas nos últimos dois explantes, as quais estão frequentemente presentes no cultivo *in vitro* de paricá. Notou-se então que diferentes explantes respondem de forma diferenciada, mesmo quando submetidos às mesmas condições de cultivo. Este fato está relacionado com as respostas de células, tecidos e órgãos cultivados *in vitro* que podem variar de acordo com as condições da cultura, do tipo de explante e do genótipo. Similarmente ao verificado por Cordeiro (2004) trabalhando com paricá, foi observada a presença de calos em todos os tratamentos contendo sacarose. Essas estruturas iniciaram-se na base do explante, apresentando

inicialmente coloração bege e textura friável. A oxidação também se fez presente, tornando-se mais expressiva a partir dos 20 dias de cultivo.

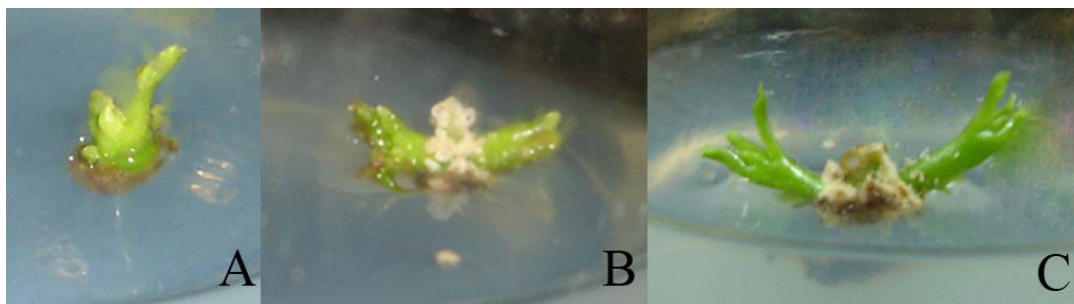


Figura 3. Brotações de paricá a partir de segmentos apicais (A), nodais (B) e intercotiledonares (C), inoculados em meio MS com 60 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 3 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007.

### CONCLUSÕES

O AG<sub>3</sub> não exerceu influência sobre a indução e comprimento de brotações de paricá, e a sacarose mostrou ser essencial para a multiplicação *in vitro* dessa espécie a partir de segmentos nodais e intercotiledonares.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M.W.de; LUZ, J.M.Q.; LACERDA, A.S.; MELO, P.R.A.de. Micropropagação de aroreira (*Myracrodruom urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.174-180. jan./mar. 2000.

CORDEIRO, I.M.C.C.; LAMEIRA, O.A.; OHASHI, S.T.; ROSAL, L.F. Efeito de BAP sobre a proliferação *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá). **Cerne**, Lavras, v.10, n.1, p.118-124, jan./jun. 2004.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. (Ed.). *Plant propagation by tissue culture*. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 2: The practice**. Exegetics Ltd., England, 1996. 574 p.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA/CBAB, 1998. p.533-568.

PINTO, J.E.B.P.; ARELLO, E.F.; PINTO, C.A.B.P.; BARBOSA, M.H.P. Uso de diferentes explantes e concentrações de benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de brotos de *Kielmeyera coriacea*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.6, p.867-873, jun. 1994.

RODRIGUES, M.de M.; MELO, M.das D.; ALOUFA, M.A.I. Propagação vegetativa *in vitro* e análise estrutural de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.171-173, jan. 2006. Disponível em: <<http://atlas.sct.embrapa.br/pdf/pab2006/01/41n01a24.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2007.

SABÁ, R.T.; LAMEIRA, O.A.; LUZ, J.M.Q.; GOMES, A.P.R.; INNECCO, R. Micropropagação do jaborandi. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, mar. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v20n1/14428.pdf>>. Acesso em: 03 jan. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Redwood City: The Benjamin Cummings, 1991. 559 p.

PALAVRAS-CHAVE

*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, multiplicação *in vitro*, sacarose, AG<sub>3</sub>, explantes.

## Influência das vitaminas na propagação *in vitro* de *Cattleya* (Orchidaceae)

Vieira, José Geraldo Zaparolli<sup>1</sup>; Yamakami, Jorge Kaoro<sup>1</sup>; Faria, Ricardo Tadeu<sup>2</sup>; Aguiar, Ricardo Sfeir<sup>1</sup>; Assis, Adriane Marinho<sup>3</sup>; Unemoto, Lilian Keiko<sup>3</sup>; Rovaris, Sara Regina Silvestrin<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina (UEL), PR. C.P. 6001. CEP 86051-990 Londrina, PR; <sup>2</sup>Engº Agrº. Prof. Adjunto. Depto. Agronomia. UEL PR. C.P. 6001. CEP 86051-990 Londrina PR. email: faria@uel.br ; <sup>3</sup>Doutoranda em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, PR.. C.P. 6001. CEP 86051-990 Londrina, PR; <sup>4</sup>Acadêmica do curso de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, PR. email: sara\_rsr@yahoo.com.br C.P. 6001. CEP 86051-990 Londrina, PR

### INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos é freqüentemente utilizada para a propagação clonal em massa de híbridos e espécies de orquídeas, possibilitando a obtenção de plantas de alta qualidade fitossanitária em curto período de tempo (Arditti & Ernst, 1993).

A cultura assimiótica ou sementeira *in vitro*, de orquídeas, constitui uma técnica bastante relevante do ponto de vista comercial e também ecológico. As plantas produzidas desta forma são altamente interessantes para programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental. A cultura assimiótica resulta em maiores percentuais de germinação, em comparação com a germinação em condições naturais, a qual é dependente da infecção por fungos micorrízicos simbiotes, muitas vezes espécie-específicos (Willadino et al., 2001).

Os meios para cultura de tecidos podem variar muito, de acordo com a espécie a ser cultivada, fornecendo substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlando em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (George, 1996).

O meio nutritivo MS, formulado por Murashige & Skoog (1962), é usado na cultura de tecidos para grande maioria das espécies e desde os primeiros estudos com cultura de raízes do tomateiro foi definida a mistura básica de vitaminas que é utilizada até hoje. Esta mistura consiste de tiamina (vitamina B<sup>1</sup>), ácido nicotínico (niacina), e piridoxina (vitamina B<sup>6</sup>), à qual normalmente se adiciona o aminoácido glicina. Estes compostos participam ativamente na biossíntese principalmente de aminoácidos e alcalóides (Caldas et al., 1998).

As vitaminas são compostos orgânicos que, em baixas concentrações, desempenham funções reguladoras catalíticas no metabolismo celular. A vitamina mais comumente usada em cultura de tecidos é a tiamina (B<sup>1</sup>). A tiamina é solúvel em água e atua no metabolismo celular devido à função como coenzima na descarboxilação dos cetóácidos, como por exemplo o piruvato e cetoglutamato. O ácido nicotínico (niacina ou vitamina B<sup>3</sup>), é um componente das coenzimas NAD e NADP importantes na transferência de hidrogênio. A piridoxina, piridoxal e piridoxamina (complexo vitamínico B<sup>6</sup>), fazem parte de coenzimas metabólicas de aminoácidos que têm papel importante nas reações de transaminação e descarboxilação (George, 1996).

Os resultados das análises do crescimento *in vitro* em meio de cultura suplementado com diferentes vitaminas é muito particular para cada espécie vegetal, sendo que as suas concentrações podem influenciar no desenvolvimento das mesmas (Caldas et al., 1998).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da adição de diferentes concentrações das vitaminas no desenvolvimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de *Cattleya*.

### MATERIAL E MÉTODOS

As plântulas do cruzamento *Cattleya labiata* x *Cattleya forbesii*, foram obtidas por sementeira *in vitro*, seguindo a metodologia descrita por Faria (1998).

As plântulas com altura média da parte aérea,  $1,0 \pm 0,5$  cm, foram subcultivadas nas seguintes concentrações de vitaminas: T<sup>1</sup> 0 g.L<sup>-1</sup>; T<sup>2</sup> 1 mL.L<sup>-1</sup>; T<sup>3</sup> 3 mL.L<sup>-1</sup>; T<sup>4</sup> 5 mL.L<sup>-1</sup>. As concentrações utilizadas no preparo da solução estoque de vitaminas foram: tiamina (0,10 g.100mL<sup>-1</sup>); ácido nicotínico (0,05 g.100mL<sup>-1</sup>) e a piridoxina (0,05 g.100mL<sup>-1</sup>), conforme formulação descrita por Murashige & Skoog, 1962.

O meio nutritivo utilizado foi o MS, 1962, modificado com metade da concentração dos macronutrientes e suplementado com 1 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado. O meio de cultura foi distribuído em frasco de 250 ml colocando-se 50 ml de meio de cultura por frasco. O meio foi solidificado com 7 g.L<sup>-1</sup> de agar e o pH ajustado para 6 com solução de KOH, antes do processo de autoclavagem a 121° C, 1 atm por 20 minutos.

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento com temperatura média de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas luz e intensidade luminosa  $35 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

A avaliação foi feita após seis meses do início do experimento, dos seguintes parâmetros: altura da parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes, número de brotações e massa fresca total. As mudas tiveram suas raízes lavadas em água corrente para remoção do meio nutritivo e foram aclimatizadas em bandejas de isopor contendo como substrato fibra de coco. As plântulas foram mantidas em casa de vegetação com 50% luminosidade, regadas manualmente diariamente e adubadas semanalmente com 3 g.L<sup>-1</sup> de adubo foliar NPK 06:06:08. A avaliação da porcentagem de sobrevivência das plantas na casa de vegetação foi realizada após seis meses do plantio nas bandejas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com dez repetições contendo oito plantas por repetição.

Os dados foram submetidos à análise de variância, complementados pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da Tabela 1 demonstram que não houve diferenças significativas para todos os parâmetros avaliados, mostrando que a adição de vitaminas ao meio de cultura não foi benéfica para a propagação *in vitro* de *Catleya*.

As vitaminas são comumente utilizadas na formulação no meio Murashige & Skoog (1962), entretanto Linsmaier & Skoog (1965), demonstraram que apenas a tiamina foi essencial no crescimento de calo em fumo, numa concentração de 0,4 mg.L<sup>-1</sup>, sendo que a piridoxina e ácido nicotínico podem ser supridas do meio de cultura.

**Tabela 1.** Valores médios de massa fresca total (MF), altura da parte aérea (APA), comprimento da maior raiz (CR), número de raízes (NR), número de brotações (NB) e taxa sobrevivência (TS), para o cruzamento de *C. labiata* X *C. forbesii*, após seis meses do início do experimento.

Dose de vitamina*	MF (g)	APA (cm)	CR (cm)	NR <sup>1</sup>	NB <sup>1</sup>	TS %
0	0,31 a2	3,29 a	3,83 a	2,27 a	1,25 a	100 a
1 mL.L-1**	0,37 a	3,40 a	2,71 a	2,27 a	1,10 a	100 a
2 mL.L-1**	0,35 a	2,83 a	3,73 a	2,44 a	1,51 a	100 a
3 mL.L-1**	0,34 a	3,27 a	3,63 a	2,40 a	1,17 a	100 a
<b>CV%</b>	<b>20,78</b>	<b>24,42</b>	<b>3,63 a</b>	<b>17,34</b>	<b>31,22</b>	<b>100</b>

<sup>1</sup> dados sob transformação raiz quadrada de y + 0,5.

<sup>2</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey no nível de 5%.

\* Formulação descrita por Murashige e Skoog, 1962.

\*\* Solução estoques de vitaminas.

Segundo (Murashige & Skoog, 1962), para algumas espécies cultivadas *in vitro*, há necessidade de aumentar a concentração das vitaminas ou até mesmo acrescentar

outros tipos de vitaminas à mistura padrão. Na cultura de tecidos de *Citrus* onde foram acrescentadas as vitaminas: ácido fólico, riboflavina, biotina e ácido ascórbico, foi observado resultados significativos nos meios nutritivos (Chaturvedi & Mitra, 1974).

Silva et al. (2005) trabalhando no cultivo *in vitro* de orquídeas dos gêneros *Cattleya*, *Laelia* e *Brassavala*, também não observaram resultados significativos para os parâmetros massa fresca total, altura da parte aérea e número de brotações utilizando vitaminas do meio Murashige & Skoog, 1962.

Steven et al. (1991) estudando a estabilização e utilização das vitaminas do meio MS, concluíram que as vitaminas não foram degradadas após serem autoclavadas, mas sim quando foram colocadas na presença da luz, sendo após 30 dias não mais detectadas. Esses autores relatam que o ácido nicotínico e a piridoxina foram completamente desnaturadas pela autoclavagem enquanto que a tiamina reduziu pela metade, após uma semana de exposição à luz. Esses resultados podem explicar o observado neste trabalho, pois as plantas de orquídeas foram mantidas na presença de luz para estimular o crescimento vegetativo e desta forma as vitaminas foram degradadas, não tendo demonstrado efeito significativo para os parâmetros avaliados, em nenhuma das doses utilizadas. Por outro lado, Caldas et al. (1998) concluíram que os resultados com diferentes vitaminas parecem ser muito particulares para cada espécie e talvez para diferentes cultivares da mesma espécie, dependendo do tipo de explante.

Com relação à porcentagem de sobrevivência durante a etapa de aclimatização todos os tratamentos apresentaram 100% de pegamento (Tabela 1).

## CONCLUSÃO

A suplementação de vitaminas no meio de cultura não demonstrou resultados benéficos na propagação *in vitro* de *Cattleya*, podendo ser suprimida do meio de cultura sem afetar a qualidade das mudas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tiamina, Ácido Nicotínico, Piridoxina, Orquídea.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: J. Wiley, 1993. 682 p.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, Brasília: EMBRAPA - SPI/ CNPH, v.1, 1998. 864p.

CHATURVEDI, H., MITRA, G.C. Clonal propagation of Citrus from somatic callus. **HortScience**, v. 9, p. 118-120, 1974.

FARIA, R. T.; ILLG, R. D. **Orquídea *Dendrobium nobile***. IN: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. Micropropagação de plantas ornamentais. Boletim Técnico, 174 Campinas. Instituto Agrônomo de Campinas, 1998. p. 34-36.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**, Exegetics, Edington X , 1996, p 344 – 419.

LINSMAIER, E. M.; SKOOG, F. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 18, p. 100-127, 1965.

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

SILVA, E.F.; VILLA, F. PASQUAL, M. Polpa de banana e vitaminas do meio MS no cultivo *in vitro* de orquídeas In: Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas, 2., 2005, Fortaleza. **Resumos...**Fortaleza.

STEVEN, R.H.; MUNETA, P.; AUGUSTIN, J.; LETOURNEAU, D. Stability and utilization of picloram, vitamins, and sucrose in a tissue culture medium. **Plant Cell.**, v.25, p. 45-48, 1991.

WILLADINO, L.; ALVES, G. D.;DONATO, V. M. T. S.; MARTINI, P. C. Propagação de orquídea *Gongora quinquenervis* por sementeira *in vitro*. **Pesquisa. Agropecuária. Brasileira.** v.36, n.10, Brasília,. 2001.

---

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação Araucária.



## Uso de diferentes fontes de carboidratos em meio MS na germinação de *Cattleya labiata* (ORCHIDACEAE).

Paulino, Patricia Maria de Souza<sup>1</sup>; Melo, Gemima Manço de<sup>1</sup>; Souto, Nise de Fátima Coutinho<sup>2</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>3</sup>; Willadino, Lilia<sup>4</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Aluna de Licenciatura em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq; Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Bairro de Dois Irmãos, CEP 55296-190 Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6364, email: [patriciaso\\_1@hotmail.com](mailto:patriciaso_1@hotmail.com); [gemimamelo81@yahoo.com.br](mailto:gemimamelo81@yahoo.com.br). <sup>2</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE), email: [nise\\_souto@hotmail.com](mailto:nise_souto@hotmail.com); <sup>3</sup> Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE), Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, Pernambuco, fone (87) 3761-0969, email: [claudia@nlink.com.br](mailto:claudia@nlink.com.br); <sup>4</sup> Professora do Departamento de Biologia – Área de Botânica (UFRPE), email: [lilia@truenet.com.br](mailto:lilia@truenet.com.br); <sup>5</sup> Professora do Departamento de Química – Área de Química Agrícola (UFRPE), email: [tkrcamara@bol.com.br](mailto:tkrcamara@bol.com.br).

### INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é uma das mais numerosas entre as fanerógamas, sendo encontrada em quase todas as regiões do planeta, com exemplares até nas regiões boreais. Atualmente, muitas orquídeas em estado silvestre encontram-se em extinção, tendo-se, portanto, a importância de seu cultivo (Moura, 1979).

O gênero *Cattleya* destaca-se no Brasil na maioria das espécies, tanto pela coloração belíssima, como pelo grande tamanho das flores (Silva, 1986).

As plantas propagadas *in vitro* necessitam de uma fonte de energia externa pois, nesta fase são praticamente heterotróficas não encontrado as condições favoráveis para realizar fotossíntese. Assim, fontes de carboidratos são adicionadas ao meio nutritivo fornecendo energia metabólica e esqueletos carbônicos para a síntese de compostos orgânicos necessários para o crescimento das células (Caldas; Haridasam; Ferreira, 1998).

A sacarose é o carboidrato mais utilizado em meio de cultura, visando a propagação de plantas ornamentais, sendo que no meio Murashige & Skoog (1962) sua concentração é de 30g.L<sup>-1</sup>. Na propagação *in vitro* de orquídeas, outras fontes também têm sido utilizadas com menos frequência como a glicose, frutose, maltose, entre outros (Tombolato; Costa, 1998).

O tipo e a concentração dos açúcares são importantes para promover a germinação e o crescimento das plântulas *in vitro*, assim como a própria manutenção de crescimento radicular (Arditti, 1967; Ernest, 1967; Kraus; Kerbauy, 1992; Collins; Dixon, 1992; Kerbauy 1993).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes fontes de carboidratos na germinação *in vitro* de *Cattleya labiata*.

### MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE. As sementes foram obtidas a partir de cápsula madura de planta adulta de *Cattleya labiata* proveniente do assentamento Mochila situado no município de Garanhuns.

Antes da semeadura, a cápsula foi lavada com detergente e água corrente, em seguida, dentro da câmara de fluxo laminar, foi imersa por 1 minuto em álcool 70%, e em solução de hipoclorito de cálcio a 3% contendo 3 gotas de tween, durante um período de 30 minutos. Posteriormente foram realizadas 3 lavagens com água destilada esterilizada para remover o excesso de desinfetantes. Após abrir a cápsula, as sementes foram retiradas com a ajuda de pinça e bisturi. Uma parte das sementes foi separada para ser feito o teste de poder germinativo das sementes com 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio.

Para realização do teste, as sementes foram embebidas durante 24 horas em água e colocadas na solução de 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio a 1% durante 24 horas a 25°C. Em seguida foram observadas no microscópio estereoscópio (lupa), e as sementes que apresentaram coloração vermelha foram consideradas viáveis (devido a respiração do

embrião). A outra parte das sementes passaram por uma desinfestação gasosa de 1 hora com pastilha de formol em placa de Petri. A semeadura se deu em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), em frascos com capacidade para 250ml contendo 40ml de meio com o pH ajustado para 5,8. Foram testadas três fontes de carboidratos: sacarose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ), glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) e frutose ( $C_6H_{12}O_6$ ). Separados em quatro tratamentos: (F0) com  $30g.L^{-1}$  de sacarose (concentração usual em meio MS utilizada como controle), (F1) com  $30g.L^{-1}$  glicose, (F2) com  $30g.L^{-1}$  frutose e (F3) com uma combinação de  $15g.L^{-1}$  de frutose e  $15g.L^{-1}$  glicose. Em seguida, após a semeadura, os frascos foram levados para a sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2^\circ C$ , com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de  $50\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ .

O experimento foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada tratamento, sendo avaliado a cada 15 dias após a inoculação; constando como unidade experimental um frasco com 8mg de sementes. Os parâmetros avaliados foram: percentagem de contaminação, germinação e formação de plântulas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste realizado com 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio mostrou que nem todas as sementes presentes no interior da cápsula são viáveis, ou seja, não contém o embrião dentro de sua rede ou testa. Portanto, a percentagem de germinação foi realizada dentro da unidade experimental utilizada de 8mg por frasco, sabendo que nesta unidade contém sementes com e sem embrião. Quando comparadas as concentrações, aos 15 dias após a semeadura, foi observado que não houve efeito significativo no meio suplementado com  $30g.L^{-1}$  glicose (F1), nem na interação frutose + glicose (F3), pois apresentaram apresentando baixa intensidade de coloração verde, demonstrando lentidão no processo inicial da germinação, porém, mostrando o intumescimento dos embriões (Figura 1B e 1C). Contudo, o tratamento com  $30g.L^{-1}$  de sacarose (F0), a maioria das sementes apresentou coloração verde intenso, revelando o início da germinação de uma forma mais eficaz com o intumescimento dos embriões no estágio de esférula, estando ainda o embrião dentro de uma testa reticulada (Figura 1D). Resultado semelhante apresentou os tratamentos com  $30g.L^{-1}$  de frutose (F2) (Figura 1E). Arditti (1992) relata que o desenvolvimento dos cloroplastos em embriões de *Cattleya aurantiaca*, cultivados *in vitro*, tornou-se claramente visível após os 14-20 dias.

Aos 30 dias de inoculação observou-se que os tratamentos F0, F2 e F3 apresentavam melhor índice de germinação (Figura 2). Porém os tratamentos F2 e F3 mesmo tendo melhor índice de germinação, apresentavam oxidação em alguns dos embriões, estando muitos ainda dentro da testa (Figura 3A e 3B). O contrário ocorreu no tratamento F0, que não mostrou nenhum sinal de oxidação e os embriões apresentavam-se mais desenvolvidos já formando corpos de protocormos (Figura 3C). O tratamento F1 apresentou menor índice de germinação com um baixo desenvolvimento dos embriões, estando muitos oxidados e não passando do estágio de esférula, permanecendo dentro da testa (Figura 3D).

A necessidade de adição de sacarose no meio para o cultivo de embriões tem sido observada por vários autores, em distintas espécies de plantas (Rietsema et al., 1953; Raghavan; Torrey, 1963; Hu e Ferreira, 1998), principalmente em cultura de embriões em estádios iniciais de desenvolvimento (pró-embriões). Nas células, carboidratos são necessários como fonte de energia nos processos biossintéticos (Gösslová et al., 2001) e servindo também, como agentes osmóticos (Tremblay; Tremblay, 1991).

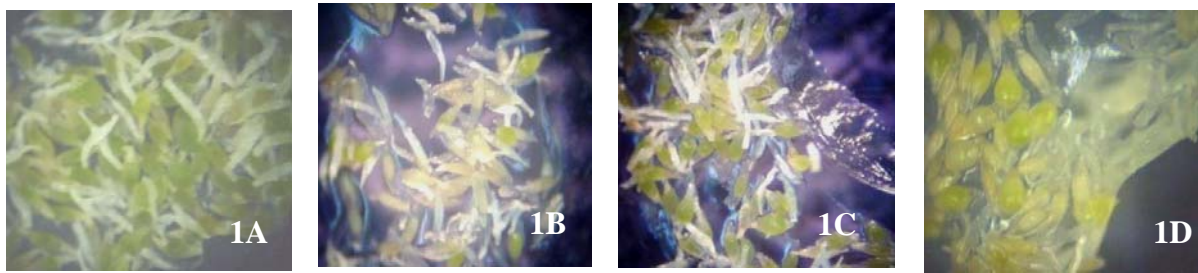
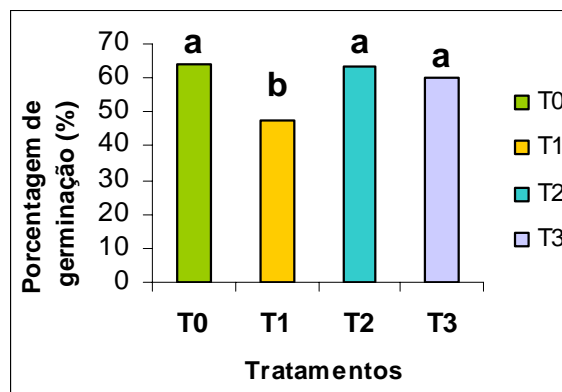


Figura 1: Sementes de *Cattleya labiata* aos 15 dias de cultivo: Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose (F0) (1A); Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de glicose (F1) (1B); Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de frutose (F2) (1C); Meio MS com 15g.L<sup>-1</sup> de frutose + 15g.L<sup>-1</sup> de glicose (F3) (1D). (Aumento de 45X).



As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 2: Percentagem de germinação das sementes de *Cattleya labiata* aos 30 dias após a inoculação nos tratamentos: Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose (F0), Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de glicose (F1), Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de frutose (F2) e Meio MS com 15g.L<sup>-1</sup> de frutose + 15g.L<sup>-1</sup> de glicose (F3).

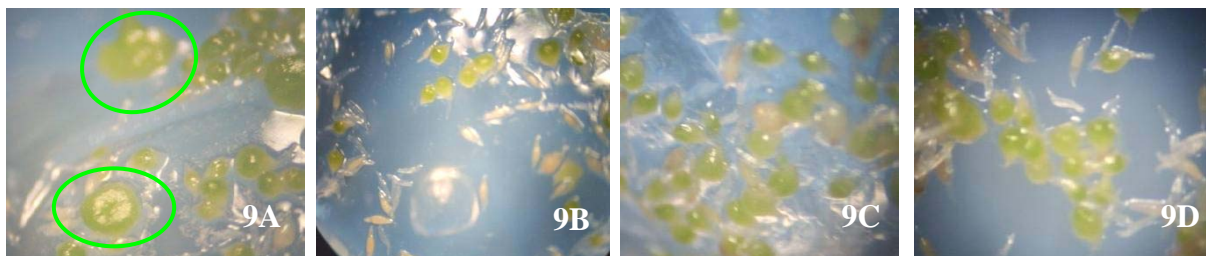


Figura 3: Sementes de *Cattleya labiata* aos 30 dias de cultivo: Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose (F0) (3A), destacando em verde a formação dos protocormos; Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de glicose (F1) (3B); Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de frutose (F2) (3C); Meio MS com 15g.L<sup>-1</sup> de frutose + 15g.L<sup>-1</sup> de glicose (F3) (3D). (Aumento de 45X).

Aos 45 dias após a inoculação notou-se que o tratamento F0 mostrou melhor germinação e desenvolvimento dos protocormos, estando estes já com os primórdios foliares (Figura 4). E nos tratamentos F1, F2 e F3 podemos notar um estacionamento no desenvolvimento dos protocormos e também uma maior oxidação dos mesmos quando comparados com o tratamento F0, o qual mostrou menor oxidação dos protocormos (Figura 5).

O uso da sacarose como a mais usual fonte de carbono para o cultivo in vitro, visando aos mais variados propósitos, tem sido observado para muitas espécies vegetais. Sul & Korban (1998), testando três fontes de carbono (sacarose, glicose e frutose) na indução de gemas adventícias de embriões de *Pinus sylvestris* L., observaram que os explantes cultivados na meio Gresshoff e Doy contendo sacarose produziram a mais alta frequência de regeneração (81%), bem como ausência de hiperhidricidade das brotações adventícias.

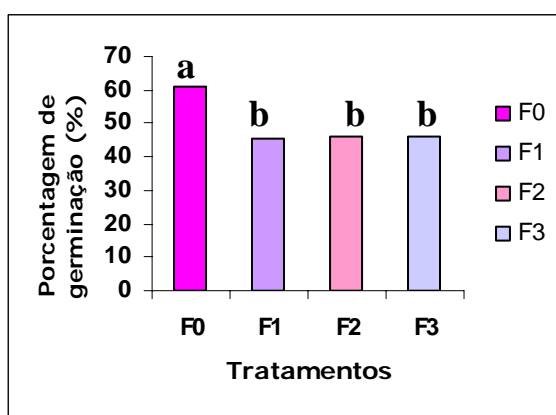


Figura 4: Percentagem de germinação nos tratamentos com diferentes fontes de carboidratos aos 45 dias após a inoculação.

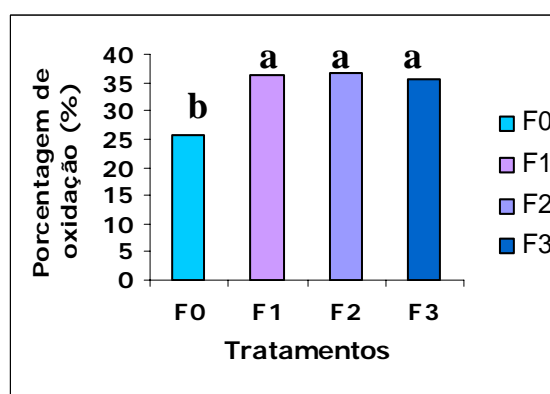


Figura 5: Percentagem de oxidação nos tratamentos com diferentes fontes de carboidratos aos 45 dias após a inoculação.

Aos 60 dias de cultivo ocorreu um aumento da oxidação dos protocormos nos tratamentos F1, F2 e F3, ocorrendo uma maior afirmação da germinação no tratamento F0 (Figura 6).

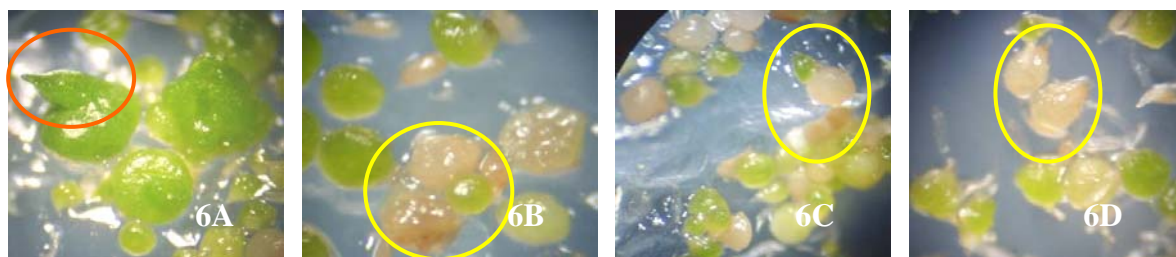


Figura 6: Semente de *Cattleya labiata* aos 60 dias de cultivo: Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose (F0), (6A) destacando em vermelho a formação dos primórdios foliares; Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de glicose (F1) (6B); Meio MS com 30g.L<sup>-1</sup> de frutose (F2) (6C) e Meio MS com 15g.L<sup>-1</sup> de frutose + 15g.L<sup>-1</sup> de glicose (F3) (6D) destacando em amarelo os protocormos oxidados. (Aumento de 45x).

## CONCLUSÃO

A melhor fonte de carbono para germinação *in vitro* das sementes de *Cattleya labiata* é a sacarose na concentração de 30g.L<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDITTI, J. Factors affecting the germination of orchid seeds. *Botanical Review*, Bronx, v.33, p. 1967.

CALDAS, L. S.; HARIDASAM, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa/SPI, 1998. v.1, p.87-132.

COLLINS, M. T.; DIXON, K. W. Micropropagation of an Australian terrestrial orchid *Diuris longifolia* R Br. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Melbourne, v.32, p.131-135, 1992.

GÖSSLOVÁ, M.; SVOBODOVÁ, H.; LIPAVSKÁ, H.; ALBRECHTOVÁ, J.; VREUGDENHIL, D. Comparing carbohydrate status during norway spruce seed development and somatic embryo formation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, v.37, p.24-28, 2001.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. T.; CALDAS, L. S.; BUSO, S. A. (eDS). **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília: Embrapa/SPI, 1998. v.1, p. 371-393.

KERBAUY, G. B. The effects of sucrose and agar on the formation of protocorm-like bodies in recalcitrant root tip meristems of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae). *Lindleyana*, West Palm Beach, v.8, p.149-154, 1993.

MOURA, V. *Natureza violentada: Flora e fauna agredidas*. Porto Alegre: Leal, 1979

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

RAGHAVAN, V.; TORREY, J. G. Growth and morphogenesis of globular and older embryos of *Capsella* in culture. ***American Journal of Botany***, v. 50, n. 6, p. 540-551, 1963.

RIETSEMA, J.; SANTINAS, S.; BLACKESLEE, A. F. The effect of sucrose on the growth of *Datura stramonium* embryos *in vitro*. ***American Journal of Botany***, v. 40; p. 538-545, 1953.

SILVA, W. **Cultivo de orquídeas no Brasil**. São Paulo: Nobel, 1986.

SUL, I.; KORBAN, S. S. Effects of media, carbon sources and cytokinins on shoot organogenesis in the Christmas tree Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). ***Journal of Horticultural Science and Biotechnology***, Ashford, v.73, n.6, p.822-827, 1998.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. *Micropropagação de plantas ornamentais*. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 1998. (Boletim Técnico, n.174).

TREMBLAU, L.; TREMBLAY, F. M. Carbohydrate requirements for the development of black spruce (*Picea marina* (Mill.) B.S.P) and red spruce (*P. rubens* Sarg) somat, embryos. *Plant cell, tissue and Organ Culture*, v.27, p.95-103, 1991.

## Indução de calos em segmentos nodais de barbatimão

Nicioli, Patrícia Matile<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nogueira, Rairys Cravo<sup>3</sup>; Peixoto, Daiane Vargas<sup>4</sup>; Lima, Miller Marani<sup>5</sup>; Castro, Ana Hortência Fonseca<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Fisiologia Vegetal do Programa de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e-mail: [pmnicioli@yahoo.com.br](mailto:pmnicioli@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Pós-doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com); <sup>5</sup>Bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG; <sup>6</sup>Professora, Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

### INTRODUÇÃO

A cultura de calos tem tido grande importância para a propagação *in vitro* em larga escala de diversas espécies vegetais. O calo é uma massa de células que se proliferam desordenadamente, formando um tecido mais ou menos organizado que, geralmente, surge sobre feridas de órgãos e tecidos diferenciados. Os calos se desenvolvem a partir de um pequeno pedaço de órgão de determinada planta e têm a capacidade de se diferenciar em tecidos, órgãos e até embriões, podendo regenerar plantas inteiras (Paiva & Paiva, 2001; Pierik, 1990; Torres & Caldas, 1990).

Vietz & San-José (1996) relatam que o balanço de fitorreguladores provenientes dos níveis de auxinas e citocininas, exógenas e endógenas à planta, é capaz de estimular a proliferação celular. A calogênese depende de fatores importantes, como a seleção do explante, meio de cultura adequado e condições ambientais. O meio nutritivo deve conter sais, fonte de carbono, vitaminas e reguladores de crescimento em concentrações adequadas a calogênese. Quanto às condições da cultura, a temperatura pode ser entre 25°C e 30°C e pode ocorrer na luz, no escuro ou em baixa irradiância. A cultura é geralmente feita em meio sólido e a textura do calo pode variar de compacta a friável. A cultura de calos pode ser utilizada para o isolamento de protoplastos, estudo dos tipos de células, seleção celular, embriogênese somática, organogênese e a produção de metabólitos secundários (Pinto & Lameira, 2001). No caso do barbatimão [(*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville)], esta espécie é considerada medicinal pela produção de tanino, um dos produtos do metabolismo secundário do grupo dos fenóis.

Desta maneira, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de picloram e cinetina na calogênese em segmentos nodais de barbatimão, visando estudos futuros de produção de metabólitos secundários *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando-se plântulas de barbatimão obtidas por meio da germinação *in vitro*.

Segmentos nodais com 1,0 cm de comprimento foram inoculados em tubos de ensaio contendo o meio de cultura MS, suplementado com diferentes concentrações de picloram e cinetina (Tabela 1), além de 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 6,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH foi corrigido para 5,8, antes da autoclavagem. A incubação foi realizada no escuro, à temperatura de 25 ± 2°C.

A avaliação foi realizada 60 dias após a inoculação, verificando-se a matéria fresca dos calos nos diferentes tratamentos.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.



TABELA 1. Tratamentos utilizados para a indução de calos em segmentos nodais de barbatimão, em função da combinação de picloram + cinetina, no meio de cultura MS.

Tratamentos	Picloram (mg L <sup>-1</sup> )	Cinetina (mg L <sup>-1</sup> )
T0	0,0	0,0
T1	0,0	0,1
T2	0,5	0,0
T3	0,5	0,1
T4	1,0	0,0
T5	1,0	0,1
T6	2,0	0,0
T7	2,0	0,1

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A calogênese iniciou-se ao longo da segunda semana de cultivo, em todos os tratamentos utilizados. Os valores referentes à matéria fresca dos calos encontram-se expressos na Tabela 2.

TABELA 2. Matéria fresca de calos de barbatimão obtidos de segmentos nodais na presença de picloram e cinetina.

Tratamentos	Matéria fresca dos calos (g)
Picloram (0,5mg L <sup>-1</sup> )	0,120 a
Picloram (2,0,mg L <sup>-1</sup> )	0,116 a
Picloram (0,5 mg L <sup>-1</sup> ) + cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,095 a
Picloram (1,0 mg L <sup>-1</sup> ) + cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,088 a
Picloram (2,0 mg L <sup>-1</sup> ) + cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,077 b
Picloram (1,0 mg L <sup>-1</sup> )	0,076 b
Cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,055 b
Controle	0,033 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Scott-Knott.

Verifica-se que meios suplementados com picloram nas concentrações de 0,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> e com picloram (0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) associado com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina induziram a formação de calos com maiores valores de matéria fresca, quando comparados aos demais tratamentos testados. Meios contendo alta concentração de picloram (2,0 mg L<sup>-1</sup>), associado com cinetina (0,1 mg L<sup>-1</sup>) ou com concentração intermediária de picloram (1,0 mg L<sup>-1</sup>) e aqueles suplementados apenas com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina, induziram calos com valores de matéria fresca semelhantes àqueles obtidos na ausência dos reguladores testados ( $p < 0,05$ ).

A escolha dos explantes utilizados neste experimento partiu do pressuposto de que os tecidos jovens, não lignificados, geralmente, são mais apropriados para a cultura de tecidos. Conforme envelhece o órgão do qual se retira o explante, o número de divisões celulares e a capacidade de regeneração diminuem (Pierik, 1990). Além disso, um explante com células jovens (meristemáticas) apresenta um grande potencial para iniciar a proliferação celular rapidamente, quando comparado com tecidos em que há presença de células diferenciadas (Soares, 2003). Diante disso, os segmentos nodais jovens de barbatimão mostraram-se eficientes na formação e na proliferação de calos.

Apesar dos tratamentos 0,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de picloram, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de picloram + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de picloram + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina induzirem calos com os mesmos valores de matéria fresca (p<0,05), observou-se que, na prática, o mais viável economicamente, para a produção de calos com maiores valores de matéria fresca (0,120 g) é a utilização de meio de cultivo MS suplementado com a auxina picloram, na concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup>.

Pesquisas realizadas por Hagen et al. (1990) também evidenciaram a eficiência do picloram, na concentração de 2,4 mg L<sup>-1</sup>, na indução de calos em batata.

As auxinas são muito utilizadas em trabalhos de micropropagação, sendo incorporadas ao meio de cultura para promover formação de calos, crescimento de células em suspensão, órgãos e regulação da morfogênese, especialmente quando associada à citocinina. A escolha dos compostos e a concentração necessária dependem do tipo de crescimento ou desenvolvimento necessário, do nível da auxina endógena do explante, da capacidade do tecido cultivado de sintetizar auxina naturalmente e da interação entre a auxina sintética aplicada e da auxina endógena (George, 1993).

Diante do resultado exposto, foi constatado que, para o barbatimão, a quantidade endógena de hormônios proporcionou suporte suficiente para a indução de calo, pois, na ausência dos reguladores, houve formação de calos, mesmo que com menores valores de matéria fresca. Entretanto, é imprescindível a suplementação do meio nutritivo com reguladores de crescimento visando otimizar a produção de matéria fresca do mesmo. Esta constatação é relatada por Vietz & San-José (1996), os quais mencionaram que, em muitos casos, é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a calogênese.

A interação entre auxinas e citocininas também tem sido responsável por bons resultados em relação à indução e à elevação nos valores da matéria fresca dos calos formados. Em *Rudgea jasminoides*, Stella & Braga (2002) verificaram que meios MS, suplementados com 0,48 mg L<sup>-1</sup> de cinetina, associados à mesma concentração de picloram, induziram maior ocorrência de calos. Vários trabalhos têm demonstrado também, que certos grupos de plantas respondem mais facilmente em culturas *in vitro* que outros. Estas diferenças mostram que as condições ideais para o cultivo *in vitro* variam com o genótipo em estudo (Ammirato, 1986).

A partir destes resultados, outros experimentos estão sendo conduzidos para estimular a produção de taninos *in vitro*, uma vez que a formação de calos é etapa crucial para o estabelecimento de suspensões celulares.

## CONCLUSÃO

Meio de cultura MS suplementado com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de picloram induz calos com maiores valores de matéria fresca (0,120 g).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMIRATO, P.V. Control and expression of morphogenesis in culture. In: WITHERS, L.A.; ALDERSON, P.G. **Plant tissue culture and its agricultural applications**. London: Butterwoths, 1986. Cap.2, p.23-45.

GEORGE, E.F. The components of culture media. In: \_\_\_\_\_. **Plant propagation by tissue culture**. 2.ed. Great Britain: Exegetics, 1993. Cap.9, p.273-343.

HAGEN, S.R. et al. Initiation and culture of potato tuber callus tissue with picloram. **Plant Growth Regulation**, v.9, p.341-345, 1990.

PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O. **Textos acadêmicos: cultura de tecidos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 97 p.



PIERIK, R.L.M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores.** Martins Nijoff, 1990. 326p.

PINTO, J. E. B. P.; LAMEIRA, O. A. **Textos acadêmicos:** Micropropagação e metabólitos secundários *in vitro* de plantas medicinais. Lavras: FAEPE/UFLA. 2001. 101 p.

SOARES, G. de A. **Aspectos do cultivo *in vitro* do ingazeiro [*Inga vera* WILLD. Subsp. *Affinis* (DC.) T.D. PENN.]**. 2003. 107p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

STELLA, G.A.; BRAGA, M.R. Callus and cell suspension culture of *Rudgea jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.69, n.3, p.271-276, Mar. 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: EMBRAPA/ CNPH, 1990. 433p.

VIETEZ, A.M.; SAN-JOSÉ, M.C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In vitro Cellular & Developmental Biology**, Columbia, v.32, n.3, p.140-147, July/Sept. 1996.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville; calogênese; picloram; cinetina.

## Assepsia de explantes de moringa (*Moringa oleifera* L.).

Oliveira, Lucas Fonseca Menezes<sup>1</sup>; Freire, Karla Cristina Santos<sup>2</sup>; Araújo Machado, Caroline<sup>3</sup>; Lédo, Ana da Silva<sup>4</sup>; Lédo, Carlos Alberto da Silva<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Estagiário UFS/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: lucas@cpatc.embrapa.br; <sup>2</sup>Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1396, email: karla@cpatc.embrapa.br; <sup>3</sup>Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: carol@cpatc.embrapa.br; <sup>4</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: analedo@cpatc.embrapa.br; <sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, led@cnpmf.embrapa.br.

A moringa (*Moringa oleifera* L.) é uma árvore de importância econômica significativa com diversas utilidades na indústria de cosméticos, farmacêutica, na medicina e no tratamento de água por floculação e sedimentação, podendo também ser utilizada como cerca viva e quebra-vento. Na micropropagação a assepsia tem um papel fundamental que é de eliminar patógenos que estejam localizados externamente aos propágulos. O trabalho teve por objetivo avaliar diferentes tratamentos de assepsia no estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais e foliares de moringa. Brotações jovens, colhidas de plantas adultas da Sede da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, foram previamente lavadas em água corrente com detergente bacteriológico. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em álcool 70% (v/v) por 1 minuto, em seguida, em solução de NaOCl a T1-0,5%; T2-0,75%; T3-1%; T4-1,25% e T5-2%, por 10 minutos sob agitação e lavadas cinco vezes em água destilada e autoclavada. Os segmentos nodais e foliares foram inoculados em frascos contendo meio MS, com 3,0% de sacarose e gelificado com 0,6% de ágar. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 2 (cinco tratamentos de assepsia x dois tipos de explantes) e doze repetições. As médias de percentagem de contaminação foram comparadas pelo teste de Tukey e as médias das notas de oxidação dos explantes foram submetidas à análise não paramétrica pelo teste de Kruskal – Wallis a 5% de significância. A intensidade de oxidação foi analisada por meio de uma escala de notas: 1 (0 %), 2 (1 a 30%), 3 (31 a 70%), 4 (71 a 100%). Houve diferença significativa entre os tratamentos para a percentagem de contaminação. Os segmentos foliares apresentaram menor contaminação (21,7%) quando comparados com os segmentos nodais (68,3%). Os tratamentos T3, T4 e T5 tiveram melhor desempenho na assepsia de segmentos foliares (8,3% de contaminação), em relação aos tratamentos T1 e T2 (66,7% e 16,7%). O valor de H= 53,56 pelo teste de Kruskal – Wallis foi significativo para oxidação. Os segmentos foliares apresentaram menor oxidação (1,13) quando comparados com os segmentos nodais (1,97). Para os segmentos foliares recomenda-se a assepsia com NaOCl a 0,5%; 0,75% ou 1%, já para os segmentos nodais faz-se necessária uma nova avaliação para obtenção de um tratamento de assepsia mais eficiente.

PALAVRAS-CHAVES: Moringaceae; desinfestação; micropropagação; cultivo *in vitro*.

## Efeito de citocininas, ANA e meio de cultura na indução de calos em anteras de Trepadeira-Jade

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Deuner, Sidnei<sup>4</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>4</sup>; Souza, Ana Cristina<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA); <sup>5</sup>Auxiliar administrativo.

### INTRODUÇÃO

Trazida para o Brasil pelo paisagista Burrell Marx, a Trepadeira-Jade (*strongylodon macrobotrys*) é uma espécie originária das Filipinas e possui beleza exótica. Seu principal atrativo são as flores azul-esverdeadas que formam cachos de até 1 m de comprimento. Normalmente, alcança em média de 6 a 8 metros. Suas flores surgem nos cachos florais que a planta emite no período que vai do fim do inverno ao início da primavera. O nome popular foi inspirado justamente pela sua coloração - uma mistura de azul e verde - semelhante à da pedra preciosa chamada jade.

De habitat liana esta espécie apresenta uma grande dificuldade de reprodução; tanto sexual quanto assexual.

No cultivo *in vitro*, um dos métodos que possibilitam a propagação em massa de uma determinada espécie é o cultivo de calos, que pode também ser utilizado para a produção de metabólitos secundários e para o desenvolvimento de um sistema de transformação genética.

Os calos podem ser obtidos por meio de cultivo *in vitro* de vários tipos de explantes, dentre estes as anteras.

Utilizando-se cultura de anteras, o número de plantas necessário para a obtenção de uma nova cultivar é sensivelmente menor, ou seja, é igual à raiz quadrada do número usado em programas convencionais de melhoramento (Dufour *et al.*, 1995).

Este trabalho tem como objetivo a obtenção de calos a partir de anteras de Trepadeira Jade para auxiliar na micropropagação da espécie.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes utilizados foram retirados de flores maduras, mas ainda fechadas, estas passaram por processo de assepsia com álcool 70% por 2 minutos e depois com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos e após foi feita a triplice lavagem com água autoclavada.

As anteras foram extraídas sob por meio de uma incisão em um dos lados dos botões e removidas com auxílio de pinça e bisturi previamente esterilizados.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15ml de meio de cultura.

Utilizou-se os meios MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (McCown & Lloyd, 1981) contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com 6g L<sup>-1</sup> de ágar, suplementado com 21 tratamentos constituído de diferentes combinações de BAP (0; 1; 2mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 1mg L<sup>-1</sup>), TDZ (0; 0,1; 1mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L<sup>-1</sup>) e Cinetina (0; 1; 2mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L<sup>-1</sup>). O pH dos meios foi ajustado para 5,8 e posteriormente autoclavado a uma temperatura de 121° C e a 1 atm de pressão, por 20 minutos. Após a inoculação, os tubos foram para sala de crescimento, onde foram mantidos por 30 dias com um fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25± 1° C e com irradiância de fótons de 36µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. A avaliação foi realizada 30 dias após a inoculação, avaliando-se a porcentagem de calos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 repetições sendo cada repetição formada por um tubo de ensaio com um explante. o teste de probabilidade utilizado foi o de Scott-Knott, considerando significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o uso 0,5 mg L-1 TDZ + 1 mg L-1 ANA (T15), em meio MS, apresentou maior média na calogênese de anteras (Tabela 1). Além disso, somente neste tratamento ocorreu a diferença significativa entre os meios MS e WPM.

Tabela 1. Médias das porcentagens de formação de calos em anteras.

Tratamentos (mg L <sup>-1</sup> )	WPM (%)	MS (%)
T1 (0,0)	0bA	0cA
T2(0, 0,1ANA)	0,62bA	1,87cA
T3(0, 1ANA)	1,25bA	1,87cA
T4(1BAP,0ANA)	0bA	1,25cA
T5(1BAP, 0,1ANA)	0,62bA	5cA
T6(1BAP,1ANA)	10,62aA	16,25bA
T7(2BAP,0ANA)	0,62bA	0,62cA
T8(2BAP,0,1ANA)	0,62bA	5cA
T9(2BAP,1ANA)	14,37aA	16,25bA
T10(0,1TDZ, 0ANA)	0bA	1,25cA
T11(0,1TDZ, 0,1ANA)	1,25bA	5cA
T12(0,1TDZ, 1 ANA)	0bA	3,75cA
T13(0,5TDZ, 0ANA)	0bA	1,87cA
T14(0,5TDZ, 01ANA)	1,87bA	3,75cA
T15(0,5TDZ, 1ANA)	0,62bB	50aA
T16(1CIN,0ANA)	0bA	0cA
T17(1CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T18(1CIN, 1ANA)	0bA	0cA
T19(2CIN, 0ANA)	0bA	0cA
T20(2 CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T21(2CIN, 1ANA)	0bA	0cA

\* Médias com letras maiúsculas iguais na linha e letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si ( $P \geq 0,05$ ).

Segundo Pasqual et al. (2002) a adição de cinetina e ANA ao meio de cultura teve influência negativa na formação de calos a partir de anteras de cafeeiro. À medida que aumenta a dosagem dos reguladores de crescimento decresce a formação de calos. Diferentemente com os resultados obtidos com Trepadeira-jade onde não houve a formação de calos em nenhuma concentração de cinetina

De acordo com Sunderland e Dunwell (1977), citados por Mantell et al. (1994), as espécies podem ser classificadas de acordo com a sua independência ou não de hormônios. O meio de cultura é denominado simples quando não são necessários hormônios e complexo, no caso dos hormônios serem requeridos. Segundo os autores, as espécies que não requerem hormônios no meio de cultura possuem, geralmente, pólen bicelular, enquanto as espécies cujos grãos de pólen desenvolvem-se somente na presença de hormônios produzem tanto pólen bicelular quanto tricelular.

Sendo assim, a Trepadeira-Jade, onde a antera se desenvolve em meio de cultura com reguladores de crescimento.

A utilização de anteras como explantes para obter calos para posterior utilização na micropropagação da trepadeira-jade foi satisfatório para as citocininas BAP e TDZ, sendo o tratamento T15 no meio MS obteve maior media.

## CONCLUSÃO

A utilização de anteras como explantes para obter calos para posterior utilização na micropropagação da trepadeira-jade é satisfatório quando utiliza-se 0,5 mg L<sup>-1</sup> TDZ + 1 mg L<sup>-1</sup> ANA em meio MS.

O uso do regulador de crescimento Cinetina não proporciona desenvolvimento de calos em anteras de Trepadeira-Jade nas concentrações utilizadas.

## REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

DUFOUR; M.; JIMENEZ; M.; DURIS; D. Haplomethods: factors controlling callus obtention on *Coffea Arabica* anthers. In: COLLOQUE DE L'ASIC, 16., 1995, Kyoto. **Annals...** Kyoto, 1995. p.765-770.

LENTINI, Z. et al. **Mejoramiento del arroz con cultivo de anteras: aplicaciones en el desarrollo de germoplasma adaptado a ecosistemas latinoamericanos y el Caribe.** Cali: CIAT, 1994. 79p.

MANTELL, S.H.; MATHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. Principios de biotecnologia em plantas: uma introdução a engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994, 344 p.

McCOWN, B.; LLOYD, G. Woody plant medium (WPM)- a mineral nutrients formulation for microculture of woody plant species. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 453, June 1981

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture.** Eversley: Exegetics, 1984. 709 p.

PASQUAL, M., MACIEL, A.L.deR., CAMPOS, K.P.de, SANTOS, E.C., CAMPOS R.J.C. de. **Indução de calos em anteras de café(*Coffea arabica* L.) cultivadas *in vitro*.** Ciênc. agrotec., Lavras, v.26, n.1, p.71-76, jan./fev., 2002

PETERS, J.A.; BOBROWSKI, V.L.; ROSINHA, G.M.S. Produção de haplóides e duplohaplóides. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 569-612.

ZIMMERMANN, R. H.; BROOME, O. C. Phoroglucinol and *in vitro* rooting of the apple cultivar cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 5, p. 648-652, Sept. 1981.

## PALAVRAS-CHAVE:

*Strongylodon macrobotrys*, calogênese, regulador de crescimento, plantas ornamentais.

## Indução de calos em ovários de Trepadeira-Jade

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Deuner, Sidnei<sup>4</sup>; Rodrigues, Marcelo<sup>5</sup>; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Pós-doutoranda (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br). <sup>5</sup>Graduando em Ciências Biológicas (UFLA); <sup>6</sup>Mestranda em Fisiologia Vegetal (UFLA).

### INTRODUÇÃO

A Trepadeira Jade é uma planta herbácea com as hastes lenhosas grossas com uma polegada ou mais de diâmetro e aproximadamente 21.3 m de comprimento. As folhas são trifoliatas com os três folíolos oblongos, cada um aproximadamente 7-12 cm.

A cor aquamarine das flores da Trepadeira-jade é quase original no reino de planta. A Trepadeira-Jade é cultivada no Havaí, e suas flores são usadas nos colares havaianos.

É uma trepadeira, originária das Filipinas, pertencente à família das Leguminosas. Seu crescimento é vigoroso e, em condições especiais, pode alcançar até 20 metros de comprimento. Normalmente, alcança em média de 6 a 8 metros. Suas flores surgem nos cachos florais que a planta emite no período que vai do fim do inverno ao início da primavera. O nome popular foi inspirado justamente pela sua coloração - uma mistura de azul e verde - semelhante à da pedra preciosa chamada jade.

A cultura de ovários fornece um sistema controlado para o estudo dos aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento de frutos e formação de sementes. Este método também é utilizado para a propagação de plantas, a indução de haplóides partenogênicos e a recuperação de híbridos interespecíficos e intergenéricos

A obtenção de plantas duplo-haplóides é uma ferramenta biotecnológica promissora e sua principal vantagem reside no fato de que em apenas uma geração em laboratório poderão ser obtidas plantas 100% homozigotas, permitindo desta forma, um extraordinário ganho de tempo na fixação de caracteres de interesse e na otimização da seleção de constituições genéticas superiores (LENTINI et al., 1994).

O AIA, ANA e o AIB são as auxinas mais utilizadas no meio (Zimmerman, 1981), sendo adicionadas no meio de cultura normalmente em baixas concentrações (George & Sherrington, 1984).

Este trabalho tem como objetivo a obtenção de calos a partir de anteras de Trepadeira Jade para auxiliar na micropropagação da espécie.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes utilizados foram retirados de flores maduras, mas ainda fechadas, estas passaram por processo de assepsia com álcool 70% por 2 minutos e depois com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos e após foi feito a tríplice lavagem com água autoclavada.

Os ovários foram extraídos por incisão em um dos lados dos botões e removidos com auxílio de pinça e bisturi previamente esterilizados.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15ml de meio de cultura.

Utilizou-se os meios MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (McCown & Lloyd, 1981) contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com 6g L<sup>-1</sup> de ágar, suplementado com 21 tratamentos constituído de diferentes combinações de BAP (0; 1; 2mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 1mg L<sup>-1</sup>), TDZ (0; 0,1; 1mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L<sup>-1</sup>) e Cinetina (0; 1; 2mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0;

0,1; 0,5mg L<sup>-1</sup>). O pH dos meios foi ajustado para 5,8 e posteriormente autoclavado a uma temperatura de 121° C e a 1 atm de pressão, por 20 minutos. Após a inoculação, os tubos foram para sala de crescimento, onde foram mantidos por 30 dias com um fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25± 1° C e com irradiância de fótons de 36µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. A avaliação foi realizada 30 dias após a inoculação, avaliando-se a porcentagem de calos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 repetições sendo cada repetição formada por um tubo de ensaio com um explante. o teste de probabilidade utilizado foi o de Scott-Knott, considerando significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando os tratamentos no meio MS, foi observado que obtiveram maior indução de calor os tratamentos contendo concentrações respectivas de BAP e ANA: 0 e 0 mg L<sup>-1</sup>; 0 e 0,1 mg L<sup>-1</sup>; 0 e 1 mg L<sup>-1</sup>; 1 e 1 mg L<sup>-1</sup>; 2 e 0 mg L<sup>-1</sup>; 2 e 1 mg L<sup>-1</sup>; e de TDZ e ANA nas concentrações de 0,5 e 0 mg L<sup>-1</sup>; 0,5 e 0,1 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Sendo que os outros paramentos não foram significativos.

Tabela 1: Médias das porcentagens de formação de calos em ovários.

Tratamentos (mg L <sup>-1</sup> )	WPM (%)	MS (%)
T1 (0,0)	2,2aB	13,67aA
T2(0, 0,1ANA)	1,43bB	12,09aA
T3(0, 1ANA)	1,56aB	15,87aA
T4(1BAP,0ANA)	0bA	1,25bA
T5(1BAP, 0,1ANA)	0,62bA	5bA
T6(1BAP,1ANA)	1,62aA	1,25bA
T7(2BAP,0ANA)	0,62bB	16,2aA
T8(2BAP,0,1ANA)	0,62bA	5bA
T9(2BAP,1ANA)	1,37aB	16,25aA
T10(0,1TDZ, 0ANA)	0bA	1,25bA
T11(0,1TDZ, 0,1ANA)	1,25bA	5bA
T12(0,1TDZ, 1 ANA)	0bA	3,75bA
T13(0,5TDZ, 0ANA)	0bB	13,87aA
T14(0,5TDZ, 0,1ANA)	1,87bB	14,75aA
T15(0,5TDZ, 1ANA)	0,62bB	5,04bA
T16(1CIN,0ANA)	0bA	0cA
T17(1CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T18(1CIN, 1ANA)	0bA	0cA
T19(2CIN, 0ANA)	0bA	0cA
T20(2 CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T21(2CIN, 1ANA)	0bA	0cA

\* Médias com letras maiúsculas iguais na linha e letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si (P≥ 0,05).

O BAP geralmente é associado com a auxina para a indução de calo. Landa et al. (2000) utilizaram o BAP associado com a auxina ANA para induzir calogênese em explantes foliares de pequi.

O meio de crescimento não foi satisfatório para o desenvolvimento de calos obtendo baixa formação de calos.

A presença do citocinina cinetina mostrou total ineficiência no desenvolvimento de calos de ovários de Trepadeira-Jade, pois não promoveu a formação.

## CONCLUSÃO

A maior formação de calos ocorre em meio MS suplementado com 2 mg L<sup>-1</sup> BAP e 1 mg L<sup>-1</sup> ANA ou 0,5 mg L<sup>-1</sup> de TDZ e 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

O uso do regulador de crescimento Cinetina não proporciona desenvolvimento de calos em ovários de Trepadeira-Jade nas concentrações utilizadas.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories.** Eversley, Exegtics 1984.

LANDA, F. S. L.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O.; BUENO FILHO, J. S. S. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb. ). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 56-63, 2000. Edição Especial.

LENTINI, Z.; REYES, P.; MARTINEZ, C.P.; NÚÑEZ, V.M.; ROCA, W.M. **Mejoramiento del arroz con cultivo de anteras.** Cali: CIAT, 1994. 79p.

MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J. A.; MCKEE, R. A. **Princípios de biotecnologia em plantas:** uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: SBG, 344p. 1994.

McCOWN, B.; LLOYD, G. Woody plant medium (WPM)- a mineral nutrients formulation for microculture of woody plant species. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 453, June 1981

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PASQUAL, G.; MANES, F.; MONACELLI, B.; NATALE, L.; ANSELMINI, S. Effects of the culture medium pH and ion uptake *in vitro* vegetative organogenesis in thin cell layers of tobacco. **Plant Science**, Clare, v. 162, p. 947-955, 2002.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of fruit plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 120, p. 217-222. 1981.

PALAVRAS-CHAVE:

*Strongylodon macrobotrys*, calogênese, regulador de crescimento, plantas ornamentais



## Efeito de reguladores de crescimento e meio de cultura na indução de calos em pedúnculos florais de Trepadeira Jade

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Deuner, Sidnei<sup>4</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>5</sup>; Vargas, Daiane Peixoto<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Doutorandos em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq; <sup>5</sup>Graduando em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG.

### INTRODUÇÃO

A Trepadeira-Jade, *Strongylodon macrobotrys*, uma planta ornamental da família Fabaceae, exótica, originária da Ásia é muito utilizada em paisagismo e jardinagem.

É uma espécie que não produz sementes, se reproduz vegetativamente, porém, com baixos índices de estabelecimento quanto ao uso dos métodos convencionais de propagação tais como alporquia, estaqueamento e mergulhia, sendo assim fica evidenciada a importância da utilização de técnicas alternativas tais como a cultura de tecidos a fim de se obter protocolos de regeneração de plantas a partir de produção de calos organogênicos.

Calos são definidos como tecidos que podem apresentar diferenciação parcial, os quais são constituídos por uma massa de células irregulares que se multiplicam desordenadamente em resposta a injúrias químicas ou físicas e que possuem a capacidade de se diferenciarem em tecidos e órgãos (Torres & Caldas 1990).

Vários fatores podem influenciar a formação de calos em uma espécie, sendo os principais o tipo de explante, a composição do meio de cultura e as condições de luz e temperatura (Santana, 2003).

As auxinas têm sido amplamente utilizadas nos meios de cultivo para a indução de calos e, geralmente, dependendo da concentração, causam alongação celular e expansão ou divisão celular. Em geral, com o uso de baixas concentrações de auxinas, predomina a formação de raízes adventícias, enquanto que altas concentrações induzem a formação de calos. A interação entre auxinas e citocininas também é muito utilizada para a indução de calogênese (Gomes, 1999).

Este trabalho teve como objetivo induzir a formação de calos em pedúnculo Floral de Trepadeira-Jade, auxiliando futuros estudos de melhoramento e propagação desta espécie.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes utilizados foram retirados de flores maduras, mas ainda fechadas, estas passaram por processo de assepsia com álcool 70% por 2 minutos e depois com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos e após foi feita a tríplice lavagem com água autoclavada. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15ml de meio de cultura.

Utilizou-se os meios MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (McCown & Lloyd, 1981) contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com 6g L<sup>-1</sup> de ágar, suplementado com 21 tratamentos constituído de diferentes combinações de BAP (0; 1; 2mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 1mg L<sup>-1</sup>), TDZ (0; 0,1; 1mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L<sup>-1</sup>) e Cinetina (0; 1; 2mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L<sup>-1</sup>). O pH dos meios foi ajustado para 5,8 e posteriormente autoclavado a uma temperatura de 121° C e a 1 atm de pressão, por 20 minutos. Após a inoculação, os tubos foram para sala de crescimento, onde foram mantidos por 30 dias com um fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25± 1° C e com irradiância de fótons de 36µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. A avaliação foi realizada 30 dias após a inoculação, avaliando-se a porcentagem de calos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 repetições sendo cada repetição formada por um tubo de ensaio com um explante. o teste de probabilidade utilizado foi o de Scott-Knott, considerando significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação entre meios, os tratamentos T12 (0,1 mg L<sup>-1</sup> TDZ e 1 mg L<sup>-1</sup> ANA) e T14 (0,5 mg L<sup>-1</sup> TDZ e 0,1 mg L<sup>-1</sup> ANA) do meio MS apresentaram maior média percentual de calogênese (Tabela 1). Os meio de cultura somente diferiram nos tratamentos T12 e T14.

Tabela 1. Médias das porcentagens de calos em pedúnculo floral.

Tratamentos (mg L <sup>-1</sup> )	WPM (%)	MS (%)
T1 (0,0)	0aA	1,87bA
T2(0, 0,1ANA)	4,37aA	13,12bA
T3(0, 1ANA)	8,75aA	10,62bA
T4(1BAP,0ANA)	13,75aA	5,62bA
T5(1BAP, 0,1ANA)	16,87aA	17,5aA
T6(1BAP,1ANA)	16,87aA	20,62aA
T7(2BAP,0ANA)	6,87aA	5,6bA
T8(2BAP,0,1ANA)	6,87aA	18,7aA
T9(2BAP,1ANA)	19,37aA	13,7bA
T10(0,1TDZ, 0ANA)	5aA	5bA
T11(0,1TDZ, 0,1ANA)	13,75aA	1,25bA
T12(0,1TDZ, 1 ANA)	8,75aB	29,37aA
T13(0,5TDZ, 0ANA)	18,12aA	11,25bA
T14(0,5TDZ, 0,1ANA)	6,87aB	26,25aA
T15(0,5TDZ, 1 ANA)	8,75aA	15aA
T16(1CIN,0ANA)	0bA	0cA
T17(1CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T18(1CIN, 1 ANA)	0bA	0cA
T19(2CIN, 0ANA)	0bA	0cA
T20(2 CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T21(2CIN, 1 ANA)	0bA	0cA

\* Médias com letras maiúsculas iguais na linha e letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si (P ≥ 0,05).

Gomes (1999) relata que as auxinas têm sido amplamente utilizadas nos meios de cultivo para a indução de calos e que a interação entre auxinas e citocininas também tem sido amplamente utilizada. Santana (2003) relata que o sinergismo entre auxinas e citocininas é crítico para o controle da morfogênese *in vitro*.

## CONCLUSÃO

A utilização de pedúnculo floral de Trepadeira-jade como explantes para obter calos para posterior utilização na micropropagação foi satisfatório para as citocininas BAP e TDZ, sendo os tratamentos com meio MS obteve maior media.

Recomenda-se a utilização de 0,1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ associado a 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

O uso do regulador de crescimento Cinetina não proporciona desenvolvimento de calos em pedúnculos florais de Trepadeira-Jade nas concentrações utilizadas.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

GOMES, G. A. C. **Propagação *in vitro* de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTANA, J. R. F. **Controle da morfogênese *in vitro* em algumas espécies de *annonaceae***. 2003. p. 237. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990.

### PALAVRAS-CHAVE:

*Strongylodon macrobotrys*, calogênese, citocininas, ANA, plantas ornamentais

## Efeito do número de plantas por frasco e de carvão ativado no desenvolvimento *in vitro* de gérbera.

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Rezende, Rodrigo Kelson Silva<sup>4</sup>; Moreira, Cleilton Vasconcelos<sup>5</sup>; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Doutorando (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [rkelsonsr@yahoo.com.br](mailto:rkelsonsr@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestrandos em Fisiologia Vegetal (UFLA).

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera jamesonii*) é uma espécie ornamental que apresenta flores com boa durabilidade e uma gama de cores que pode satisfazer os mercados mais exigentes. Nesse contexto, estudos vêm sendo realizados buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial desta espécie.

O uso das técnicas de micropropagação permite que se consiga, em um curto espaço de tempo, grande número de plantas com qualidade superior. O emprego da cultura de tecidos tem sido crescente para a gérbera, tornando-se uma alternativa bastante viável para sua propagação assexual.

O cultivo de tecidos vegetais *in vitro* pode minimizar os efeitos da variação de fatores ambientais, assim como se pode conseguir um maior controle sobre as condições de temperatura, luz e nutrientes. Como resultado, a produção de plantas de valor econômico torna-se viável (Seabrook, 1980).

A oxidação fenólica representa um dos mais sérios problemas, especialmente durante a fase de estabelecimento da cultura *in vitro* de explantes de espécies lenhosas. As plantas perenes lenhosas são consideradas ricas em substâncias derivadas do metabolismo secundário como os polifenóis, os quais exercem importante papel no metabolismo destas espécies, bem como na defesa contra predadores e microorganismos (Teixeira, 2004).

Esses compostos fenólicos são oxidados pelas enzimas polifenases, produzindo substâncias tóxicas, inibindo o crescimento dos explantes, além de escurecer o meio de cultura (Grattapaglia & Machado, 1998).

O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência do uso de carvão ativado em plantas de gérbera e observar alterações do desenvolvimento das plantas *in vitro* utilizando diferentes números de plantas por frascos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. "Jaguar Cream" já estabelecidas foram multiplicadas em meio MS sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>), H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido nicotínico 0,5mg L<sup>-1</sup>) com adição de Mio inositol (10mg L<sup>-1</sup>) e tiamina(1mg L<sup>-1</sup>) e com acréscimo de BAP (6-benzilaminopurina) na concentração de 100mg L<sup>-1</sup>, utilizando como explantes brotações com 2 ou 3 folhas sendo cada frasco inoculado com duas brotações, até obter a quantidade necessária para implementar os experimentos.

Os explantes utilizados foram brotações que apresentavam 2 folhas e mediam entre 4 e 6 cm. O meio de cultura utilizado foi o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com diferentes concentrações (0, 1; 2; 3 mg L<sup>-1</sup>) de carvão ativado e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado em 6 g L<sup>-1</sup> de ágar, tendo seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1. Foram inoculados em frasco com 50 mL de meio de cultura. Foi testado também a interferência dos números de plantas por frascos. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente

casualizado, com os tratamentos dispostos em um esquema 4x5, totalizando 20 tratamentos com 5 repetições cada, contendo dois explantes em cada recipiente.

A esterilização do meio de cultura foi feita por autoclave, à temperatura de 121°C e à pressão de 1,05 kg.cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos. As plantas foram inoculadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2 °C, e irradiância de fótons de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

As características avaliadas após 45 dias foram: altura da planta, número de brotação e número de folhas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para número de folhas nenhuma variável foi significativa isoladamente.

No desdobramento da interação os tratamentos com 2 plantas e 3 plantas tiveram queda mas depois um pequeno acréscimo. Já no tratamento com 1 planta houve um crescimento a medida em que se aumenta a concentração de carvão. Todas as curvas tiveram a tendência quadrática (Figura 1).

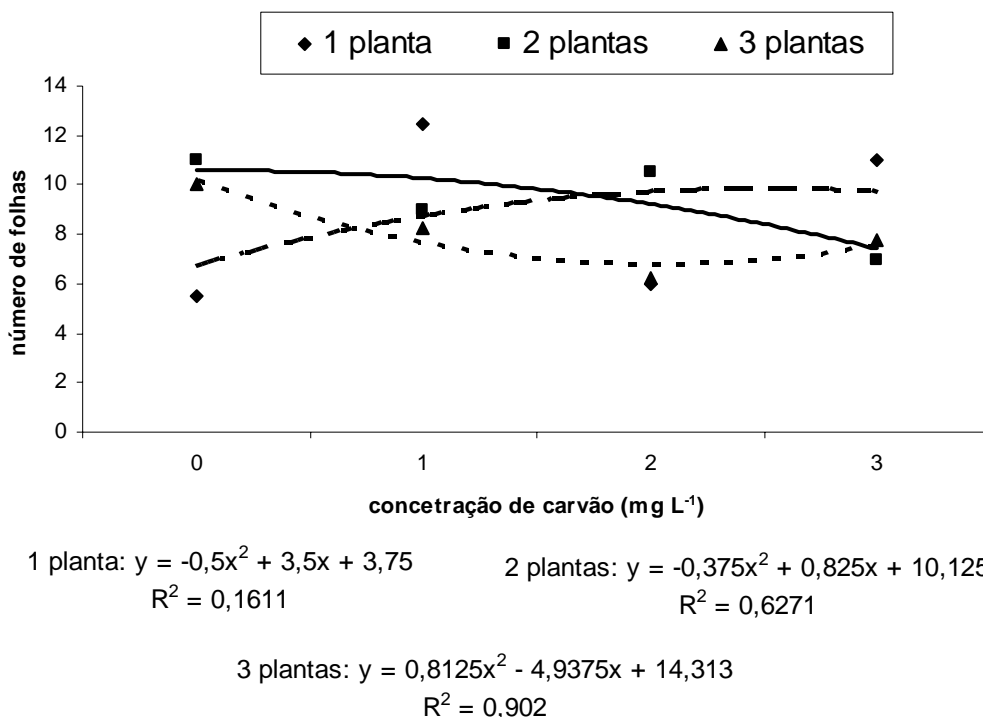


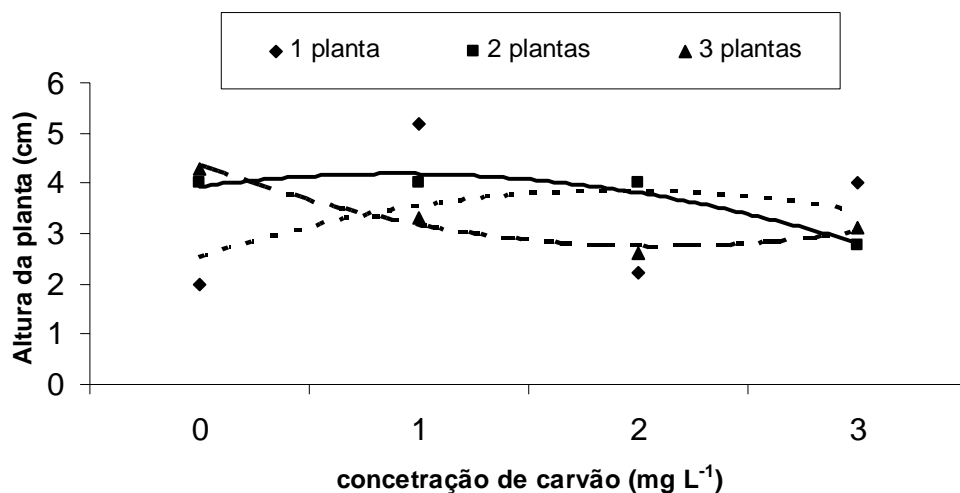
Figura 1. Número de folhas no desdobramento da concentração de carvão e número de plantas.

Na característica altura da planta a variável número de plantas foi significativa isoladamente sendo o melhor resultado obtido no tratamento com 2 plantas com a média de 6,62 cm. Já a variável concentração de carvão ativado não foi significativa isoladamente. O desdobramento da interação entre concentração de carvão ativado e número de plantas não foi significativo.

O maior valor para a altura de brotações (6,6 cm) foi obtido no tratamento contendo 2 brotações iniciais, enquanto que o menor valor foi de 6 cm com 1 brotação inicial.

Para o número de brotos não houve significância ao nível de 5% para número de plantas e concentração de carvão isoladamente.

Para a interação número de plantas e concentração de carvão, o desdobramento mostrou no tratamento com 2 plantas uma tendência de queda, já no tratamento 3 plantas, houve uma queda brusca e depois um pequeno crescimento e no tratamento 1 planta, houve um aumento e depois uma pequena queda (Figura 2).



$$1 \text{ planta: } y = -0,355x^2 + 2,077x + 0,825$$

$$R^2 = 0,1383$$

$$2 \text{ plantas: } y = -0,3125x^2 + 1,1875x + 3,0625$$

$$R^2 = 0,9333$$

$$3 \text{ plantas: } y = 0,3675x^2 - 2,2705x + 6,2525$$

$$R^2 = 0,9679$$

Figura 2. Número de brotos no desdobramento da concentração de carvão e número de plantas.

## CONCLUSÕES

Recomenda-se a utilização de 2 plantas por frascos e em meio de cultura contendo 1 mg L<sup>-1</sup> ou ausência de carvão ativado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações de cultura de tecidos em plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p. 99-169.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

SEABROOK, J. E. A. Laboratory culture. In: STABA, E. J. (Ed.). **Plant tissue culture as a source of biochemicals**. Boca Raton: CRP Press, 1980. p. 1-20.

TEIXEIRA, J. B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. EMBRAPA-DF. Disponível em: <<http://www.redbio.org/porta/encuentros/enc.2001/simposios/s-joao%20batista%20teixeira./palestra%20jo%e30%20batista%teixeira>>. Acesso em: 17 out. 2006.

## PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii*; multiplicação, brotação.

## Multiplicação *in vitro* do maracujá-do-sono<sup>1</sup>

Ferreira Ester Alice<sup>2</sup>, Santos Flávia Carvalho<sup>3</sup>, Pasqual Moacir<sup>4</sup> Elisângela Aparecida da Silva<sup>5</sup>

<sup>2</sup>Pesquisadora - EPAMIG CTT Caixa Postal 351 - CEP: 38001- 970 Uberaba MG E-mail:[ester@epamig.br](mailto:ester@epamig.br)

<sup>3</sup>Doutoranda Agronomia/ Fitotecnia - C.P. 3037 CEP 37200 Lavras MG E-mail: [flavinha3010@yahoo.com.br](mailto:flavinha3010@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Prof Titular Departamento de Agricultura C.P. 3037 CEP 37200 Lavras MG E-mail:[mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br)

<sup>5</sup> Estudante do 4º ano de Agronomia. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) - Rodovia MS 306, km 6,5 - Cassilândia/MS - CEP: 79540-000 -.Bosista PIBIC-UEMS E-mail:[agroelis@yahoo.com.br](mailto:agroelis@yahoo.com.br)

### INTRODUÇÃO

*Passiflora setacea* ou maracujá-do-sono é um maracujá selvagem não viável comercialmente por apresentar baixa produtividade e qualidade de frutos. Entretanto tem sido amplamente usado nos programas de melhoramento genético por ser resistente à virose, bacteriose e fusariose que são os principais problemas que atingem os maracujazeiros doce e azedo usados comercialmente.

Esta espécie tem sido alvo de estudos que envolvem biotecnologia, notadamente engenharia genética (Nascimento, 2007) onde é imprescindível que se tenha um protocolo eficiente para regeneração e micropropagação das plantas obtidas.

A presença de reguladores de crescimento no meio tem garantindo a otimização e o sucesso do processo de cultivo *in vitro*. O tipo e a concentração de citocinina influenciam o processo de multiplicação *in vitro* uma vez que esta atua como promotora da divisão, alongamento e diferenciação celular, retardando a senescência das plantas, promovendo a quebra da dominância apical e induzindo à proliferação de gemas axilares (Taiz & Zeiger,2004)..

As giberelinas têm como principais efeitos o alongamento das brotações durante a multiplicação *in vitro* e varia conforme a interação existente com outros reguladores de crescimento, dependendo da espécie propagada *in vitro* (George, 1996). Há relatos da utilização de GA<sub>3</sub> favorecendo o alongamento de brotações *in vitro* de *Rollinia mucosa* Rol (Figueiredo et al. 2001) de moreira (Gomes, 1999) e figueira (Fraguas et al , 2001)

Objetivou-se neste trabalho verificar o efeito da adição de cinetina e GA<sub>3</sub> ao meio de cultura MS na multiplicação *in vitro* de brotações de maracujá-do-sono.

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de brotações previamente estabelecidas *in vitro* apresentando 1 a 2 cm e duas gemas, foram inoculados em meio de cultura MS na concentração padrão dos sais, vitaminas e inositol e 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, acrescido de ágar (Merk®) 0,6% e pH ajustado para 5,8.

O referido meio foi acrescido de cinetina a 0, 0,5, 1, 2 e 4 mg.L<sup>-1</sup> e GA<sub>3</sub> 0; 2; 4; 6 e 8 mg.L<sup>-1</sup> cuja combinação consistiram os tratamentos que seguiu o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4, com cinco repetições e quatro brotações por parcela.

Após a distribuição em tubos com capacidade para 250 ml estes foram autoclavados e em câmara asséptica procedeu-se a inoculação dos explantes e em seguida, o material foi mantido em sala de crescimento, com irradiância de 35 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> Apoio: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas. Após 90 dias, foram avaliados: o número e comprimento dos brotos, comprimento de raiz e parte aérea.

Os dados foram submetidos à análise de variância e submetidas à regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa computacional – Sistema para Análise de Variância – SISVAR (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito isolado dos reguladores testados no comprimento da parte aérea onde ambos apresentaram comportamento inverso. Ocorreu redução do comprimento das brotações a medida em que aumentaram as doses de  $\text{GA}_3$  e o maior valor para esta variável foi registrado na ausência deste regulador (Figura 1A). Este resultado discorda das afirmações de George (1996) ao relatar que o efeito das giberelinas no alongamento das brotações durante a multiplicação. Entretanto, corrobora com Fráguas et al (2004) que, na multiplicação *in vitro* de figueira, também verificou efeitos negativos deste regulador na mesma variável. Já Costa et al (2002) verificou que a  $1\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  proporcionou aumento no comprimento do caule, sendo um indicativo de que algumas espécies são sensíveis a altas dosagens deste regulador, respondendo com baixo comprimento da parte aérea.

A presença de cinetina promoveu aumento no comprimento da parte aérea a medida em que se aumentaram as doses (Figura 1B). Efeitos benéficos da cinetina no aumento do comprimento da parte aérea foi registrado por Machado et al (2006) e Fráguas et al (2004) confirmando o potencial deste regulador para esta variável.

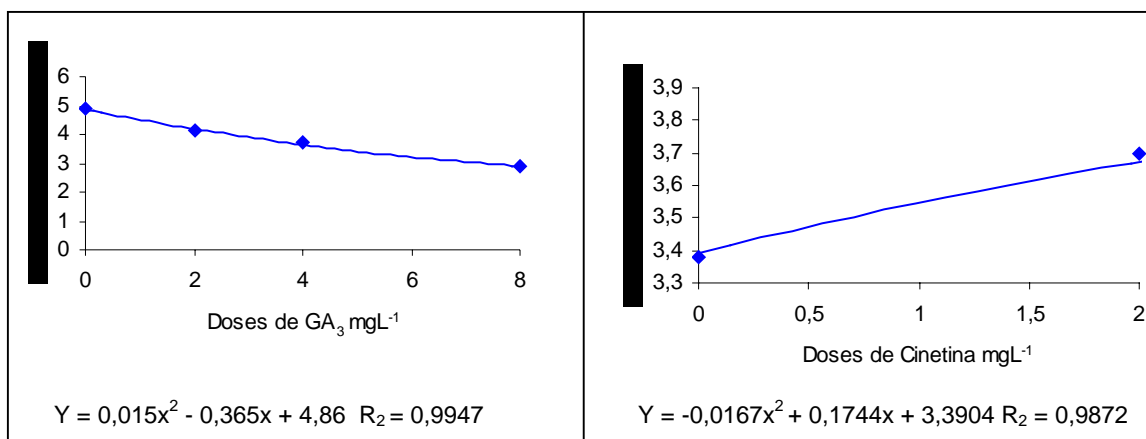


Figura 1- Efeito de diferentes doses de  $\text{GA}_3$  (A) e Cinetina (B) no comprimento da parte aérea de *Passiflora setacea*.

A representação gráfica do efeito interativo dos reguladores testados para as variáveis, comprimento de raiz e número de brotos é apresentada nas Figuras 2A e 2B respectivamente. Observa-se que, em todas as doses de  $\text{GA}_3$  testadas houve redução no comprimento de raiz (Figura 2 A) corroborando com resultados encontrados por Fráguas et al (2004). Já para número de brotos, o maior valor (3) foi obtido quando foi utilizada a combinação dos reguladores testados à  $2\text{mgL}^{-1}$ .



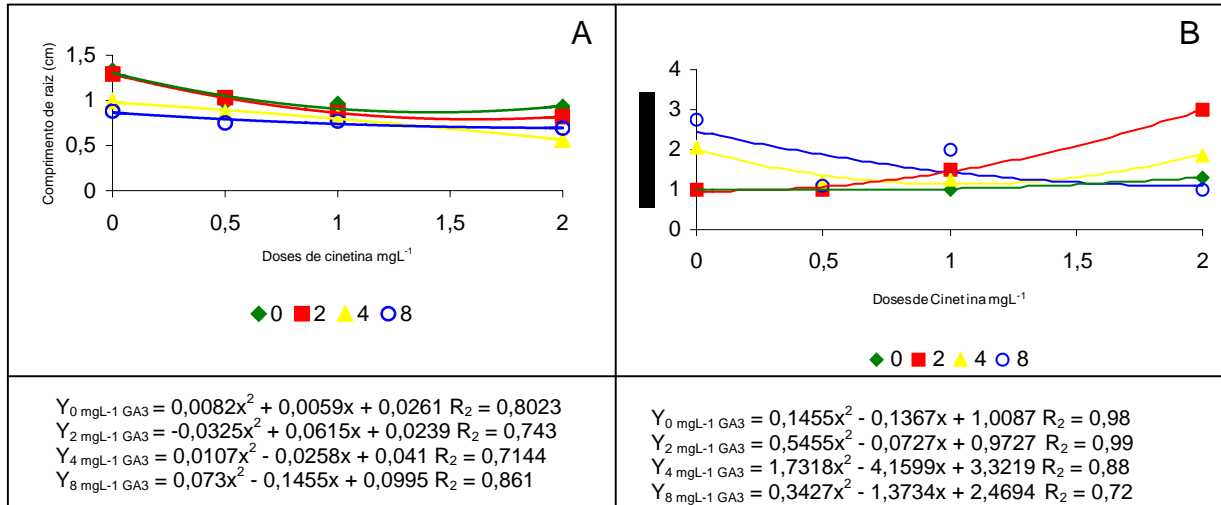


Figura 2- Efeito de GA<sub>3</sub> em diferentes doses de cinetina no peso da massa seca de brotos (A) e no número de brotos (B) de *Passiflora setacea*.

## CONCLUSÃO

Para aumentar o número de brotações *in vitro* do maracujá-do-sono (*Passiflora setacea*) recomenda-se a utilização de 2mgL<sup>-1</sup> cinetina e GA<sub>3</sub>.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA M. A. P.C., CARMO D.O., SOUZA, F. V. D., MAGALHÃES G. L., HANSEN D. S. Efeito de Diferentes Concentrações de GA<sub>3</sub> (Ácido Giberélico) no Alongamento de Brotações *In Vitro* de Jenipapo (*Genipa americana*). In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002, Belem. **Anais XVII CBF - Os Novos Desafios da Fruticultura Brasileira**, 2002.

FIGUEIREDO, S. F. L.; ALBARELLO, N.; VIANA, V. R. C. Micropropagation of *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Wallingford, v. 37, n. 4, p. 471-475, 2001.

FRÁGUAS, C. B., PASQUAL, M., PEREIRA, A. R. Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 49-55, jan./fev., 2004

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1: the technology**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.

GOMES, G. A. C. **Propagação *in vitro* de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

MACHADO M. P, BIASI L.A., RITTER M., RIBAS L. L. F., KOEHLER H. S. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira Vr043-43 (*Vitis vinifera* X *Vitis rotundifolia*) **Ciência. agrotecnologia.**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 648-655, jul./ago., 2006

NASCIMENTO, P. C. Da fina flor de maracujá. Jornal da Unicamp. [http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp\\_hoje/ju/dezembro2006/ju347pag07.html](http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/dezembro2006/ju347pag07.html). Acessado em 21 de maio de 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. California: Cummings, 2004. cap. 17, p. 452-471.

*PALAVRAS-CHAVE:*

*Passiflora setacea*, Cinetina, Ácido giberélico

# Germinação *in vitro* de Pitaya vermelha <sup>1</sup>

Ferreira, Ester Alice<sup>2</sup>, Cavallari, Ludmilla de Lima<sup>3</sup>, Pasqual, Moacir<sup>4</sup>, Costa, Frederico Henrique Silva<sup>5</sup>

<sup>2</sup> Pesquisadora EPAMIG CTTT Caixa Postal 351 - CEP: 38001- 970 Uberaba MG. E-mail: [ester@epamig.br](mailto:ester@epamig.br)

<sup>3</sup> Graduanda em Agronomia – DAG/UFLA C.P. 3037 CEP 37200000 – Bolsista CNPq E-mail: [milla.cavallari@pop.com.br](mailto:milla.cavallari@pop.com.br)

<sup>4</sup> Prof. Titular – DAG/UFLA – C.P. 3037 CEP 37200000 E-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br)

<sup>5</sup> Doutorando- DAG/UFLA C.P. 3037 CEP 37200 000 Lavras- MG E-mail: [frederico\\_acreano@hotmail.com](mailto:frederico_acreano@hotmail.com)

## INTRODUÇÃO

A pitaya é uma cactácea epífita que tem seu centro de origem nas Américas e vem sendo cultivada em vários países do mundo. É também conhecida como “fruta dragão” pelo aspecto escamoso de seu fruto.

O potencial desta frutífera tanto para mercado interno quanto externo, tem despertado o interesse de muitos produtores brasileiros. A pitaya vermelha *Hylocereus undatus* vem se destacando como a preferida do consumidor principalmente pela coloração de seus frutos.

O aumento do seu plantio tem gerado uma grande demanda por produção de mudas e embora os métodos convencionais para propagação cactos sejam satisfatórios as pesquisas têm mostrado que, independentemente da espécie, o suprimento adequado em água, nutrição, temperaturas convenientes, assim como luminosidade, são requisitos fundamentais para a germinação. Quando esta ocorre *in vitro*, a composição do meio nutritivo assim como as substâncias nele adicionadas irão favorecer a germinação e otimizar seu processo. Estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* desta espécie são importantes tanto para maximizar a taxa de germinação, como para obter plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada.

Além dos aspectos que envolvem a germinação, a cultura de tecidos se apresenta como uma ferramenta auxiliar na obtenção de um grande número de plantas saudáveis, de alta qualidade, em pequeno espaço físico e em curto espaço de tempo, atendendo assim a demanda dos produtores para por mudas.

Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a germinação *in vitro* de sementes de pitaya vermelha *Hylocereus undatus*

## MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram obtidas de frutos maduros de Pitaya vermelha *Hylocereus undatus* que, após extração, foram lavadas para retirada da mucilagem e secas à sombra. Os procedimentos para assepsia em laboratório foram: álcool (50%) por 5 minutos, seguido por imersão em hipoclorito de sódio (20%) por 20 minutos e, finalmente tríplice lavagem com água destilada.

Os tratamentos consistiram em diferentes concentrações do meio de cultura MS (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) semi-sólido com 5 g.L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com combinações de GA<sub>3</sub> ( 0; 2,5; 5; 7,5 mg/L<sup>-1</sup>). O meio nutritivo contendo os respectivos tratamentos, foram distribuídos em tubos de ensaio que foram autoclavados a 120°C durante 20 minutos.

Em câmara de fluxo laminar as sementes foram inoculadas nos respectivos tratamentos e após a inoculação, mantidas no escuro por 4 semanas e, posteriormente, transferidas para sala de crescimento por mais 45 dias com ambiente de 50 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de luz fotossinteticamente ativa, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 26 ± 1°C .

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 5x4 com quatro repetições, três tubos de ensaio para cada repetição.

Foi avaliada a porcentagem de germinação que foi calculada de acordo com Labouriau & Valadares (1976):  $G = (N/A).100$  onde: G – germinação, N - número total de sementes germinadas e A - número total de sementes colocadas para germinar.

Foi determinado o índice de velocidade de emergência (IVG) registrando-se semanalmente o número de sementes germinadas até completarem 45 dias e foi calculado

pela fórmula proposta por Maguire (1962):  $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$  onde: IVG - Índice de velocidade de germinação;  $G_1, G_2$  e  $G_n$  - número de plântulas normais computadas nas respectivas semanas de avaliação e  $N_1, N_2$  e  $N_n$  - número de dias após a implantação do teste.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as concentrações de meio MS, GA<sub>3</sub> à regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa computacional – Sistema para Análise de Variância – SISVAR (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise de variância mostrou efeito significativo da interação do meio nutritivo (MS) e doses de GA<sub>3</sub> para o índice de velocidade de germinação. Na Figura 1 observa-se um declínio no índice de velocidade de emergência para todas as concentrações de GA<sub>3</sub> testadas a medida em que se aumentou a concentração de sais do meio MS. O maior índice de velocidade de germinação foi registrado quando utilizou-se 2,5 mgL<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e 50% dos sais de MS comprovando os efeitos benéficos do ácido giberélico acelerando a germinação de sementes e reduzir o tempo gasto para germinar. Outros ensaios verificaram efeito benéfico do ácido giberélico na germinação de sementes de diversas espécies como Kiwi (Ynoue, 1999), jenipabo (Costa et al 2002), maracujá (Ferreira et al 2005).

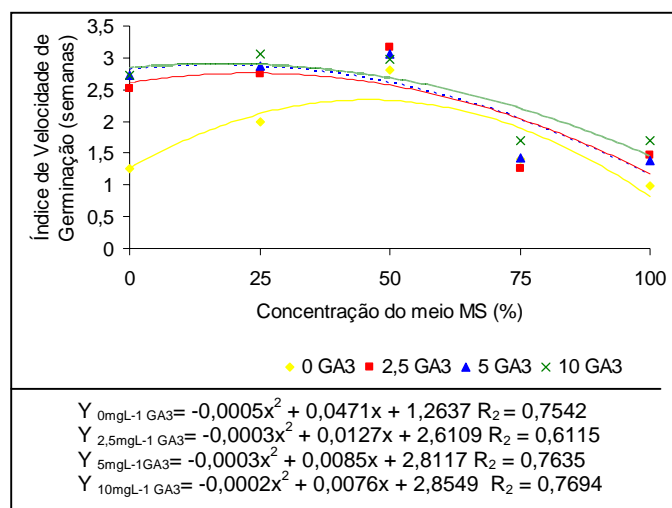


Figura 1- Índice de velocidade de germinação de sementes de pitaya vermelha *Hylocereus undatus* em diferentes concentrações do meio MS na presença de GA<sub>3</sub>

Para porcentagem de germinação houve efeito significativo nas diferentes concentrações do meio MS e semanas de avaliação. Performance superior para porcentagem de germinação foi registrada em meio contendo 25% de sais do meio MS corroborando com resultado relatado por Souza (2003) que, testando diferentes concentrações do meio MS (completo, 50% e 25%) líquido ou sólido na germinação de embriões de arnica (*Lychnophora pinaster*), observou que o MS 25% sólido foi o meio que proporcionou melhor resultado, com aproximadamente 68% de germinação. Na germinação de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) Nogueira et al (2004) observou que o 50% da concentração do meio MS promoveu melhor desempenho.

Já Conceição (2000) registrou efeitos não-significativos nas diferentes concentrações do meio nutritivo MS para a germinação de sementes de timbó (*Derris urucu*). É possível que a redução na concentração dos sais no meio tenha proporcionado um balanço osmótico que, além de favorecer a germinação, pode reduzir os custos da mesma *in vitro*.

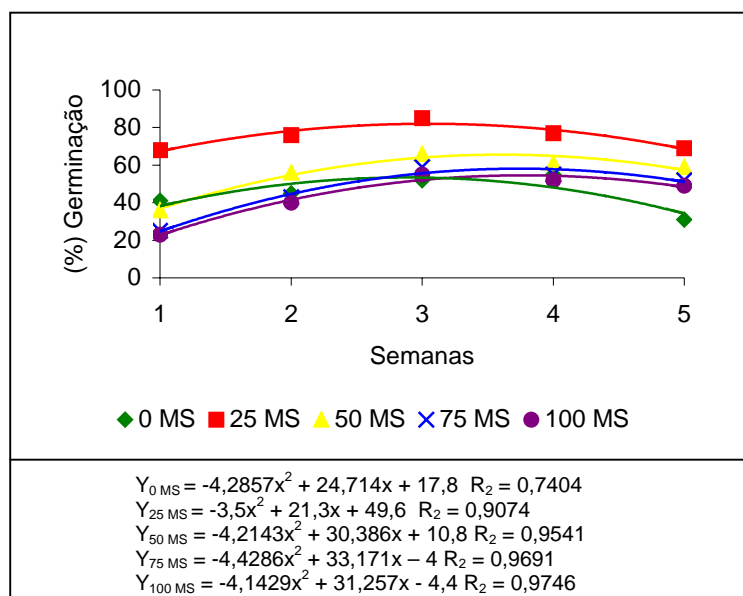


Figura 2 – Porcentagem de sementes de pitaya vermelha *Hylocereus undatus* germinadas em diferentes concentrações do meio MS e semanas de avaliação.

## CONCLUSÕES

Na germinação *in vitro* de pitaya vermelha *Hylocereus undatus*:

- Maior índice de velocidade de germinação ocorreu quando foi adicionado  $10 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  ao meio MS 25% sais.
- Maior porcentagem de germinação ocorreu com 25% da concentração de sais do meio MS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONCEIÇÃO, H. E. O. da. **Cultivo *in vitro*, nutrição mineral e quantificação de rotenóides em timbós (*Derris sp.*)**. 2000. 191 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

COSTA M. A. P.C., CARMO D.O., SOUZA, F. V. D., MAGALHÃES G. L., HANSEN D. S. Efeito de Diferentes Concentrações de  $\text{GA}_3$  (Ácido Giberélico) no Alongamento de Brotações *In Vitro* de Jenipapo (*Genipa americana*). In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002, Belem. **Anais...** Pelotas, 2000. p.35-2002.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

FERREIRA G., OLIVEIRA A. de, RODRIGUES J. D., DIAS G. B., DETONI A. M., TESSER S. M., ANTUNES A. M. Efeito de arilo na germinação de sementes de *Passiflora alata curtis*

em diferentes substratos e submetidas a tratamentos com giberelina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 2, p. 277-280, Agosto 2005

LABORIAL, L. G. & VALADARES, M. B. (1976). On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, São Paulo, 48:174-186.

MAGUIRE, J.D. (1962). Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, 2(2):176-177.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15,n.3, p.473 - 479, 1962.

NOGUEIRA R. C., PAIVA R., CASTRO A.H.DE, VIEIRA C.V., ABBADE L.C., ALVARENGA A.A. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência. & Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1053-1059, set.out., 2004

SOUZA, A. V. de. **Propagação in vitro e aspectos anatômicos de arnica [*Lychnophora pinaster* (Mart.)]**. 2003. 126 p. Dissertação (mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

YNOUE, C. K.; ONO, E. O.; MARCHI, L. O. S. EFEITO DO GA3 NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE KIWI (*Actinidia chinensis* Planch.) **Scientia. agricola.**, Piracicaba, v. 56, n. 1, 1999.

**PALAVRAS-CHAVE:**

*Hylocereus undatus*, ácido giberélico, MS, IVG

## Efeito do silicato de potássio e do meio de cultura MS no desenvolvimento *in vitro* de gérbera

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Rodrigues, Marcelo<sup>4</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>4</sup>; Nogueira, Raírys Cravo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Graduando, bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG; <sup>5</sup>Pós-doutoranda (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas na floricultura, e de uma forma geral na agricultura, é o ataque de pragas e doenças nas plantas. Uma alternativa importante no controle das doenças é a aplicação de silício no solo. Estudos realizados com esse elemento demonstram que sua aplicação proporciona aumento no rendimento de várias plantas. (Ma et al., 2001).

O silício em micropartículas tem sido veiculado junto ao adubo NPK e o seu efeito na resistência da planta tem sido constatado por diversos autores (Menziés et al., 1991; Fosket, 1994). Mas não existem trabalhos sobre a utilização de silício *in vitro*.

A gérbera (*Gerbera jamesonii*) é uma espécie ornamental que apresenta flores com boa durabilidade e uma gama de cores que pode satisfazer os mercados mais exigentes. Nesse contexto, estudos vêm sendo realizados buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial desta espécie.

O uso das técnicas de micropropagação permite que se consiga, em um curto espaço de tempo, grande número de plantas com qualidade superior. O emprego da cultura de tecidos tem sido crescente para a gérbera, tornando-se uma alternativa bastante viável para sua propagação assexual.

O cultivo de tecidos vegetais *in vitro* pode minimizar os efeitos da variação de fatores ambientais, assim como se pode conseguir um maior controle sobre as condições de temperatura, luz e nutrientes. Como resultado, a produção de plantas de valor econômico torna-se viável (Seabrook, 1980).

O objetivo deste trabalho foi testar o efeito de silício nas plantas de gérbera e buscar minimizar o custo da multiplicação *in vitro* com o uso meio nutritivo em concentrações menores.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar cream já estabelecidas foram multiplicadas em meio MS sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>), H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido nicotínico 0,5mg L<sup>-1</sup>), com adição de Mio inositol (10mg L<sup>-1</sup>) e tiamina (1mg L<sup>-1</sup>) e com acréscimo de BAP (6-benzilaminopurina) na concentração de 100mg L<sup>-1</sup>, utilizando como explantes brotações com 2 ou 3 folhas sendo cada frasco inoculado com duas brotações, até obter a quantidade necessária para implementar os experimentos.

Os explantes utilizados foram brotações que apresentavam 2 folhas e mediam entre 4 e 6 cm. O meio de cultura utilizado foi o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com diferentes concentrações (25%, 50%, 75% e 100%) dos seus sais e suplementado com diferentes concentrações (0, 0,25; 0,5; 0,75; 1mg l<sup>-1</sup>) de Silicato de Potássio (K<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado em 6 g L<sup>-1</sup> de agar, tendo seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1. Foram inoculados em frasco com 50 mL de meio de cultura. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com os tratamentos disposto em um esquema 4x5,

totalizando 20 tratamentos com 5 repetições cada, contendo dois explante em cada recipiente.

A esterilização do meio de cultura foi feita por autoclave, à temperatura de 121°C e à pressão de 1,05 kg.cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos. As plantas foram inoculadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2 °C, e irradiância de fótons de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

As características avaliadas após 45 dias foram: altura da planta, número de brotação, número de folhas e número de raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para número de folhas somente a variável doses de silicato de potássio foi significativa isoladamente sendo no tratamento com ausência de silicato de potássio (T1) obteve melhor media.

No desdobramento da interação os meios MS100% e MS 50% tiveram uma pequena queda, mas depois um pequeno acréscimo. Já no meio MS75% houve somente uma queda e no meio MS25% um pequeno crescimento da curva. Todas as curvas tiveram a tendência quadrática (Figura 1).

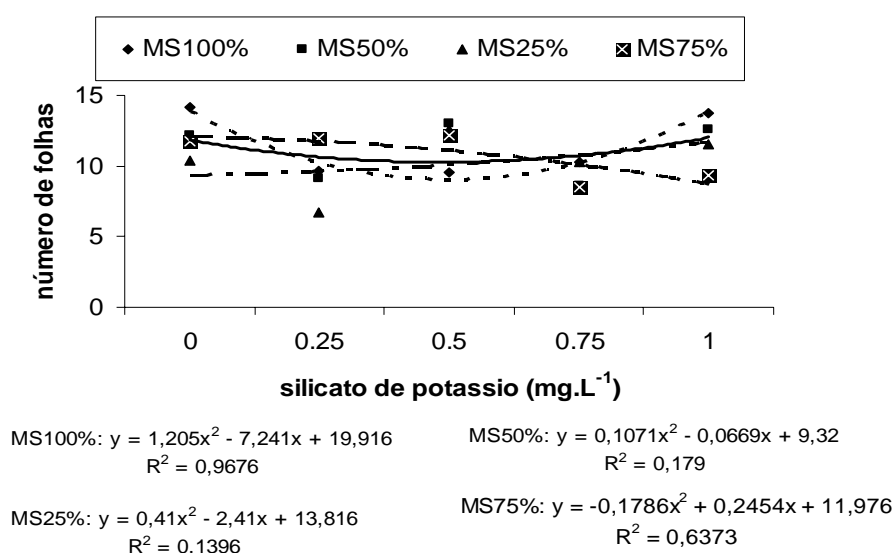


Figura 1. Número de folhas no desdobramento de meio de cultura e silicato de potássio.

Na característica altura da planta os meios de crescimento que tiveram os melhores resultados isoladamente foram os meios MS50% e MS25%. Já na variável dose de silicato de potássio isoladamente o melhor resultado foi com o tratamento T5(1mg L<sup>-1</sup>).

No desdobramento da interação do meio decrescimento e dose de silicato de potássio as curvas dos meios MS100%, MS75%e meio MS50% mostraram-se crescentes, no entanto, a curva do meio MS50% apresentou um maior crescimento. No meio MS25% houve um pequeno crescimento seguido de declínio. Todas as curvas tiveram tendência quadrática (Figura 2).



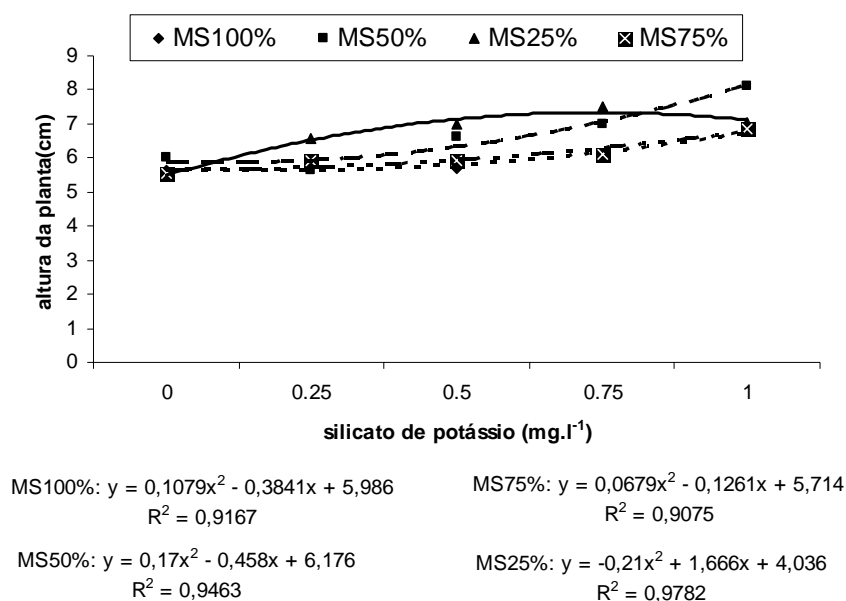


Figura 2. Altura da planta no desdobramento de meio de cultura e silicato de potássio.

Para o número de brotos não houve significância ao nível de 5% para as variáveis meio de crescimento e doses silicato de potássio isoladamente (Figura 3).

Para a interação meio de crescimento e dose de silicato de potássio, o desdobramento mostrou no meio MS100% uma tendência de queda, já os meios MS50% e MS25% mostraram um aumento. O meio MS75% teve um pequeno aumento e declínio em seguida. Todas as curvas tiveram uma tendência quadrática.

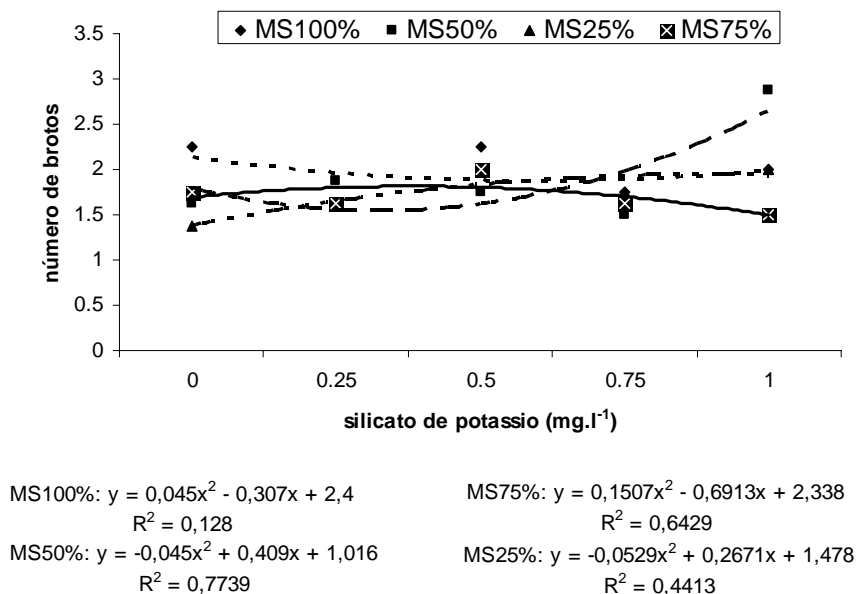


Figura 3. Número de brotos no desdobramento de meio de cultura e silicato de potássio.

Para número de raízes somente meio de cultura foi significativo isoladamente sendo que o meio MS25% obteve o melhor resultado (Figura 4).

Na interação, para o meio MS100% houve um aumento e depois um decréscimo. Todas as curvas apresentaram tendência quadrática.

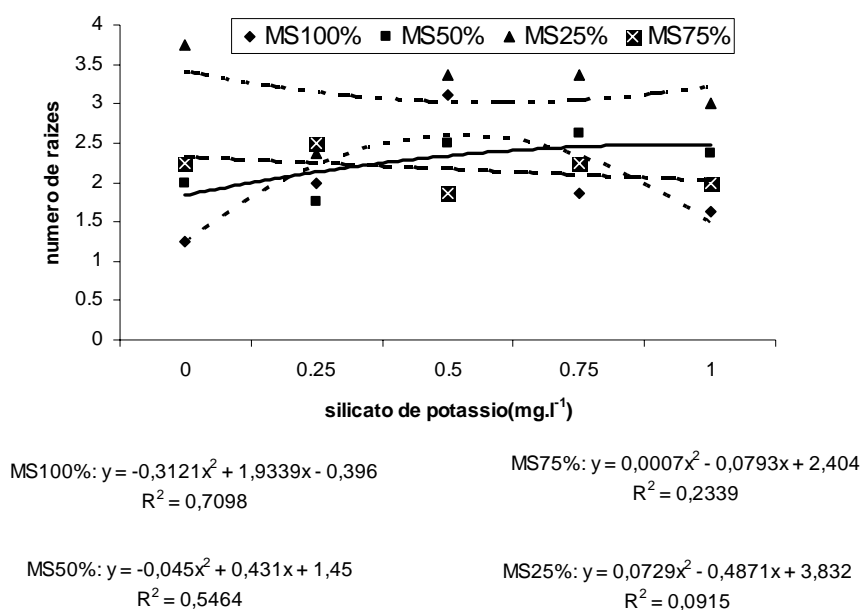


Figura 4. Número de raízes no desdobramento de meio de cultura e silicato de potássio.

## CONCLUSÕES

De uma forma geral o silicato de potássio não apresenta alta eficiência no desenvolvimento de plantas gérbera.

O meio MS50% proporciona um crescimento maior com altas concentrações do silicato de potássio em todas as características, exceto para número de folhas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FOSKET, D. E. **Plant growth and development: a molecular approach**. San Diego: Academic Press, 1994. 580 p.

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L. E. , SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.) **Silicon in agriculture**. Elsevier Science, 2001. p. 17-39.

MENZIES, J. G.; EHRET, D. L.; GLASS, A. D. M.; HELMER, T.; KOCH, C.; SEYWARD, F. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n.2, p. 84-99, Feb. 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

SEABROOK, J. E. A. Laboratory culture. In: STABA, E. J. (Ed.). **Plant tissue culture as a source of biochemicals**. Boca Raton: CRP Press, 1980. p. 1-20.

## PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii* ; cultivo *in vitro*; silício.

## Efeito do silicato de sódio e de diferentes concentrações de MS no desenvolvimento *in vitro* de gérbera

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>, Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Nogueira, Ráirys Cravo<sup>3</sup>; Paiva, Renato<sup>4</sup>; Rodrigues, Marcelo<sup>5</sup>; Vargas, Daiane Peixoto<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia (UFLA), email: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Pós-doutoranda, bolsista FAPEMIG; <sup>4</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>5</sup>Graduando (UFLA); <sup>6</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq.

### INTRODUÇÃO

Gerbera é um gênero de plantas herbáceas ornamentais pertencente à família das Asteraceae, a mesma do girassol e das margaridas, cultivada em grandes quantidades pela sua flor muito apreciada em arranjos ornamentais e como planta decorativa de exteriores nas regiões de clima temperado de ambos os hemisférios. Seu nome foi dado pelo naturalista holandês Jan Frederic Gronovius em homenagem a Traugott Gerber, um médico e naturalista alemão que trabalhou na Rússia. Nesse contexto, estudos vêm sendo realizados buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial desta espécie.

A micropropagação vem sendo aplicada com sucesso para a propagação em larga escala de um grande número de espécies ornamentais.

A cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante (célula, tecido ou um órgão) é isolado e cultivado sob condições assépticas em um meio artificial. O princípio básico da cultura de tecidos é a totipotencialidade das células, ou seja, qualquer célula no organismo vegetal contém toda a informação genética necessária para a regeneração de uma planta completa (Torres et al., 1998).

Forma para buscar uma melhor qualidade fitossanitária vem sendo estudada e com êxito utilizando fontes de silício. O silício é armazenado entre a parede celular da célula tornado assim a planta mais resistente aos fatores edafoclimáticos.

Estudos realizados com esse elemento demonstram que sua aplicação proporciona aumento no rendimento de várias plantas. (Ma et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi estudar a atuação do silício na gérbera com fins de melhor qualidade e resistência na produção desta planta *in vitro* e também a concentração do meio de cultura com fins de aumentar a rentabilidade da produção de Gérberas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar cream já estabelecidas foram multiplicadas em meio MS sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>), H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido nicotínico 0,5mg L<sup>-1</sup>), com adição de Mio inositol (10mg L<sup>-1</sup>) e tiamina (1mg L<sup>-1</sup>) e com acréscimo de BAP (6-benzilaminopurina) na concentração de 100mg L<sup>-1</sup>, utilizando como explantes brotações com 2 ou 3 folhas sendo cada frasco inoculado com duas brotações, até obter a quantidade necessária para implementar os experimentos.

Os explantes utilizados foram brotações que apresentavam 2 folhas e mediam entre 4 e 6 cm. O meio de cultura utilizado foi o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com

diferentes concentrações (25%, 50%, 75% e 100%) dos seus sais e suplementado com diferentes concentrações (0, 0,25; 0,5; 0,75; 1mg L<sup>-1</sup>) o Silicato de Sódio (Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado em 6 g L<sup>-1</sup> de agar, tendo seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1. Foram inoculados em frasco com 50 ml de meio de cultura. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com os tratamentos disposto em um esquema 4x5, totalizando 20 tratamentos com 5 repetições cada, contendo dois explante em cada recipiente (Tabela 1).

TABELA 1. Tratamentos obtidos por meio da interação entre diferentes concentrações de meio de cultura MS e diferentes concentrações de Silicato de Sódio.

<b>Tratamento</b>	<b>Concentração meio de cultura (MS)(%)</b>	<b>Concentração do silicato de Sódio (g L<sup>-1</sup>)</b>
T1	25	0,00
T2	25	0,25
T3	25	0,50
T4	25	0,75
T5	25	1,00
T6	50	0,00
T7	50	0,25
T8	50	0,50
T9	50	0,75
T10	50	1,00
T11	75	0,00
T12	75	0,25
T13	75	0,50
T14	75	0,75
T15	75	1,00
T16	100	0,00
T17	100	0,25
T18	100	0,50
T19	100	0,75
T20	100	1,00

A esterilização dos meios de cultura foi feita por autoclave, à temperatura de 121°C e à pressão de 1,05 kg.cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos. As plantas foram inoculadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C, e irradiância de fótons de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

As características avaliadas após 45 dias foram: altura da maior brotação, número de brotação, número de folhas e presença de raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em relação ao número de folhas não houve diferença significativa em nenhum dos resultados demonstrando, assim, que o Silicato de Sódio não teve efeito sobre a formação de folhas.

Já no tamanho do maior brotação, o Meio de crescimento obteve diferença significativa onde os meios 50%MS e 75%MS obtiveram as melhores médias, mas diferenciando significativamente apenas do meio MS completo de seus sais.

Também houve nível de significância na interação meio x silicato de sódio onde no meio MS completo de seus sais os tratamentos T3 e T4 obtiveram as maiores medias, diferenciando significativamente dos tratamentos T1 e T2, demonstrando a eficiência do silicato de sódio no meio MS completo de seus sais, no alongamento de seus brotos (Tabela 3).

TABELA 3. Médias da interação Meio x silicato de sódio para o meio MS 100% dos seus sais para a característica de altura do maior broto.

<b>Tratamentos</b>	<b>Médias</b>
T1	5,31 b
T2	5,50 b
T3	6,89 a
T4	6,87 a
T5	6,50 ab

Outro meio que mostrou significância na interação meio x silicato de sódio foi no meio 75% dos seus sais onde o meio T3 obteve maior media entre os tratamentos e diferenciado significativamente do tratamento T2 (Tabela 4).

TABELA 4. Médias para interação Meio x silicato de sódio para o meio MS 75% dos seus sais para a característica de altura do maior broto.

<b>Tratamentos</b>	<b>Médias</b>
T1	6,75 ab
T2	6,18 b
T3	7,75 a
T4	7,37 ab
T5	7,12 ab

Isso mostra que a absorção do silicato de sódio se mostrou mais eficientes em meios de cultivo mais concentrados.

Quanto ao número de brotos somente as concentrações salinas dos meios mostraram significância. O meio MS completo de sua solução salina obteve maior media diferenciando dos demais meios de crescimento (Tabela 5).

TABELA 5. Médias para os meios de cultura quanto a número de brotos.

<b>Meios de Crescimento</b>	<b>Médias</b>
MS 25% dos sais	2,15 b
MS 50%	2,37 b
MS 75%	2,15 b
MS completo	2,9 a

A última característica analisado foi o número de raízes onde ocorreu significância no meio de crescimento onde os meio de media concentração obtiveram os melhores resultados, em torno de 3,9 raízes por brotação (MS50% e MS75% dos seus sais).

Também foi encontrada significância na interação Meio x silicato de sódio onde no meio MS com 75% da concentração salinas, onde os tratamentos T3 e T4 obtiveram melhores medias diferenciando significativamente do meio T2.

O uso do silicato de sódio interagindo com o meio de desenvolvimento foi favorável para o desenvolvimento *in vitro* de plantas de Gérbera nas características: altura do maior broto, onde os melhores resultados obtido com a interação foi no meio MS completo e os tratamento T3 e T4 e também no meio 75% dos seus sais e tratamento T3, e número de raízes, sendo os melhores tratamentos obtidos na interação meio MS 75% dos sais nos meio T3 e T4 , não sendo importante para as outras características mas não demonstrando ser prejudicial ao desenvolvimento das plantas.

## CONCLUSÕES

Para a característica número de folhas não houve diferença entre as concentrações do meio de crescimento assim podendo utilizar meio de concentrações mais baixas diminuindo assim os gastos sem perder a característica de número de folhas.

Para a característica altura do maior broto e número de raízes o uso dos meios com concentração mediana (50% e 75% dos seus sais)

Quanto ao número de brotos o meio que apresentou melhor média foi o meio MS completo de seus sais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L. E. , SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.) **Silicon in agriculture**. Elsevier Science, 2001. p. 17-39.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V. DOS R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M. P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. de. **Meio e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas**: formulações de meio de cultura de tecidos de plantas. 19 p. Brasília-DF, 2001. 19 p. (Circular técnica, n. 24).

## PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii*, silício, micropropagação.

## **Indução de calogênese *in vitro* em explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L).**

Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>1</sup>; Santana, Márdina Cristiane dos Santos<sup>2</sup>; Sousa, Joice Alves de<sup>2</sup>; Lédo, Ana da Silva<sup>3</sup>; Melo, Marcelo Britto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador do Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, SE, fone (79) 40091362, e-mail: sarah@cpatc.embrapa.com.br, mbritto@cpatc.embrapa.br; <sup>2</sup>Estagiária Embrapa Tabuleiros Costeiros/ Universidade Tiradentes, e-mail: mcristiane\_06@yahoo.com.br ; e-mail: joicedote@hotmail.com; <sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: analedo@cpatc.embrapa.com.br.

O biodiesel é um combustível alternativo ao diesel, renovável e biodegradável, obtido a partir da reação química de óleos ou gorduras de origem animal ou vegetal com um álcool, na presença de um catalisador. Dentre as espécies potencialmente utilizáveis, o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), planta da família Euphorbiaceae, apresenta excelentes perspectivas para a produção do biodiesel. Análises mostraram que o óleo de pinhão manso tem 83,9% do poder calorífico do óleo diesel. Na calogênese ocorre desdiferenciação celular que é a perda da especialização e reversão da célula a um estado meristemático. Os calos são ideais para algumas formas de propagação rápida, semi-automaizada e em larga escala pois subdivididos podem produzir milhares de propágulos. O objetivo deste trabalho foi induzir a formação de calos em secções caulinares de pinhão manso retiradas de brotações novas de plantas no campo. Na desinfestação fez-se a imersão dos explantes em álcool 70% (v/v) por um minuto, imersão em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo por mais dez minutos, seguida de três lavagens, de dez minutos cada, em água estéril. Para a indução de calos utilizou-se o meio MS suplementado com benzilaminopurina (BAP) e ácido naftaleno acético (ANA) nas concentrações 0,0; 0,5 e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 com quatro repetições. Cada repetição foi constituída de três tubos, com um explante por tubo de ensaio. Os tratamentos onde BAP foi adicionado a 1,0 mg.L<sup>-1</sup> não diferiram significativamente entre si, sendo mais eficientes para a indução de calos quando comparados aos demais tratamentos. A razão explantes inoculados/explantes que formaram calos foi de 2,42/1,0; 2,25/1,0 e 2,66/1,0 em BAP 1,0 mg.L<sup>-1</sup> combinado com ANA 0,0; 0,5 e 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Nesses tratamentos, aos 45 dias de cultivo observou-se o desenvolvimento de brotos em 28,2% dos explantes quando BAP foi combinado ANA a 1,0 mg.L<sup>-1</sup> e 25,3% quando combinado com ANA a 0,5 mg.L<sup>-1</sup>; maior percentual de desenvolvimento de brotos foi observado em presença apenas de BAP (38,3%). Em continuidade a este trabalho, experimentos utilizando diferentes concentrações e tipos de reguladores e explantes estão sendo conduzidos.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Jatropha curcas*; calos; cultivo *in vitro*; biodiesel.

## Efeitos da luz natural e sacarose na perda de água e anatomia foliar de plantas de bananeira, na fase de enraizamento/alongamento *in vitro*.<sup>1</sup>

Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Miyata, Luzia Yuriko<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC.

### INTRODUÇÃO

Apesar da importância das técnicas *in vitro* na produção de mudas com certificação genética e fitossanitária, ainda existem dificuldades em se obter elevadas taxas de sobrevivência em algumas espécies, além do que pouco se entende sobre os fatores associados à capacidade das plantas em superar a abrupta transferência *ex vitro*. Entre os principais fatores comumente reportados por ocasionar elevados índices de mortalidade estão a excessiva transpiração dos órgãos aéreos (Gangopadhyay et al., 2002), principalmente as folhas (Capellades et al., 1990). Em adição, a falta de diferenciação do mesófilo e o deficiente desenvolvimento dos tecidos fotossintetizantes são aspectos que também interferem após a retirada das plantas dos recipientes de cultivo (Romano & Martins-Loução, 2003; Sandoval et al., 1994).

Como consequência, estratégias vêm sendo estudadas e adotadas, entre as quais estão as reduções nos níveis exógenos de carboidratos e da umidade relativa no interior dos frascos (Mohammed & Vidaver, 1990) e o uso da luz natural (Kodym & Zapata-Arias, 1999; Rocha, 2005; Talavera et al., 2005). Destes, a luz é considerada um dos mais importantes, por influenciar decisivamente no desenvolvimento vegetal (Larcher, 2000), podendo induzir alterações, em sua maioria benéficas, na anatomia foliar, que contribuirão para a melhor adaptação das plantas ao ambiente externo. Assim, objetivou-se avaliar a perda de água e as modificações anatômicas de plantas micropropagadas de bananeira em diferentes condições de cultivo durante a fase de enraizamento/alongamento *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal consistiu de brotações axilares de bananeira 'Caipira' (AAA), originadas da fase de multiplicação e mantidas a 16 horas de irradiância ( $42 \text{ W.m}^{-2}$ ) e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962),  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético) e  $6 \text{ g.L}^{-1}$  de ágar, com pH 5,8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento. Os tratamentos consistiram de duas concentrações de sacarose ( $15$  e  $30 \text{ g.L}^{-1}$ ) e dois ambientes de cultivo (sala de crescimento – artificial e casa de vegetação – natural), em esquema fatorial  $2 \times 2$ . Os cultivos foram realizados em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio e selados com filme transparente.

O ambiente artificial foi constituído de uma sala de crescimento, possuindo iluminação por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial), com irradiância média de  $42 \text{ W.m}^{-2}$ , fotoperíodo de 16 horas e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . O ambiente natural consistiu de uma casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns) e sombreamento de 70%, apresentando os seguintes parâmetros ambientais: (temperaturas máximas, mínimas e médias de  $26^\circ\text{C}/32^\circ\text{C}$ ;  $16^\circ\text{C}/16^\circ\text{C}$  e  $20^\circ\text{C}/23^\circ\text{C}$ ) e (irradiâncias máximas, mínimas e médias de  $93,95 \text{ W.m}^{-2}/199,69 \text{ W.m}^{-2}$ ;  $11,13 \text{ W.m}^{-2}/10,66 \text{ W.m}^{-2}$  e  $49,38 \text{ W.m}^{-2}/99,43 \text{ W.m}^{-2}$ ), referentes a dias nublado e claro típicos do período de experimentação. Dados de radiação solar diurna, incidente na altura dos frascos, foram obtidos por sensores de radiação (LI-200SA, Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), acoplados a

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



um sistema de registro (LI 1400; Li-cor.Neb), a intervalos de meia hora, enquanto os dados de temperatura foram obtidos com termo-higrógrafo.

A avaliação do conteúdo relativo de água (RCW) foi realizada pela exposição das plantas as condições de laboratório (cerca de 63% de U.R). Em intervalos de 10 minutos, durante 240 minutos, seis plantas de cada tratamento foram pesadas, em balança de alta precisão. Posteriormente, a massa seca das plantas foi determinada (50°C) e o RCW para cada tempo foi estimado por:  $RCW (\%) = [(FW_t - DW) / (FW_s - DW)] \times 100$ , sendo  $FW_t$  a massa fresca ao tempo t,  $FW_s$  a massa fresca inicial (tempo 0) e DW a massa seca (Romano & Martins-Loução, 2003). Para as avaliações anatômicas utilizou-se de seções transversais e paradérmicas (*adaxial* e *abaxial*), obtidas do terço médio da segunda folha expandida (direção ápice-base), que foram previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen, 1940) por 72 horas e conservadas em álcool etílico 70% (v/v). As seções transversais e paradérmicas foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio a 50% (v/v), lavadas em água destilada e coradas com azul de astra-safranina e safranina 1%, respectivamente. Para as avaliações nas seções transversais foi empregado microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica e objetiva de 40X, sendo efetuadas duas medições em 5 folhas, na região após o terceiro feixe lateral, totalizando 10 repetições/tratamento. Nas seções paradérmicas empregou-se microscópio Olympus CBB (objetiva de 40X), com o auxílio de câmara clara, sendo as avaliações feitas em quatro campos da região mediana de seis folhas/tratamento, totalizando de 24 campos.

O delineamento experimental utilizado no experimento de anatomia foi o inteiramente casualizado (DIC), com 10 e 12 repetições para as medições dos tecidos e contagem dos estômatos, cada uma representada pela média de duas observações. Já o ensaio do conteúdo relativo de água foi instalado em parcelas subdivididas no tempo, em DIC, com seis repetições por tratamento. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos às análises de variâncias individuais (para cada ambiente de cultivo), realizando-se em seguida, o teste de homogeneidade de variância e a análise conjunta. Para isso, utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo Teste F ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Características anatômicas

Quanto a sacarose, diferenças significativas foram observadas apenas para a espessura do limbo foliar, com melhores resultados em meio contendo  $15 \text{ g.L}^{-1}$ . Já entre os ambientes de cultivo, foi verificado espessamento significativo de ambos os parênquimas, paliçádico e esponjoso, em plantas mantidas sob ambiente de luz natural, diferentemente da hipoderme *abaxial*, que teve maior espessura no ambiente artificial ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1). Resposta semelhante em relação à espessura do parênquima paliçádico com o aumento da irradiância foi anteriormente reportado por Hanba et al. (2002), em espécies de *Acer*.

**Tabela 1.** Características anatômicas de folhas de bananeira 'Caipira', influenciadas pelo ambiente de cultivo (Natural e Artificial) e sacarose ( $15$  e  $30 \text{ g.L}^{-1}$ ), após 45 dias de enraizamento *in vitro*. UFLA, Lavras – MG, 2007.

	Parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ )	Parênquima esponjoso ( $\mu\text{m}$ )	Hipoderme <i>abaxial</i> ( $\mu\text{m}$ )	Densidade estomática <i>adaxial</i>	Limbo foliar ( $\mu\text{m}$ )
<b>Sac. (<math>\text{g.L}^{-1}</math>)</b>					
15	58,1 a	76,7 a	47,7 a	32,2 a	278,6 a
30	60,4 a	72,6 a	49,1 a	34,6 a	266,5 b
<b>Ambiente</b>					
Nat	67,3 a	82,4 a	46,6 b	35,6 a	272,7 a
Art	51,1 b	67,0 b	50,2 a	31,3 a	272,4 a
<b>CV (%)</b>	13,11	15,50	11,24	27,40	6,45

Médias seguidas por letras distintas na vertical, dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Para a hipoderme *adaxial*, maior espessura ( $P < 0,05$ ) foi verificada em plantas submetidas ao ambiente artificial, em ambas as concentrações de sacarose (Tabela 2). Corroborando os resultados reportados por Rocha (2005), segundo o qual maior espessura

das hipodermes *abaxial* e *adaxial* em plantas micropropagadas de bananeira 'Prata-Anã' foi obtida sob condições de luz artificial. Em relação à densidade estomática *abaxial*, aumento significativo foi observado somente em ambiente natural associado a 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, embora a média deste ambiente também tenha sido maior com 15 g.L<sup>-1</sup> (Tabela 2). Aumento no número de estômatos por mm<sup>2</sup> em plantas expostas altas irradiâncias foram reportados para bananeira 'Prata-Anã' e plantas de *Annona glabra* (Decchetti, 2004; Rocha, 2005).

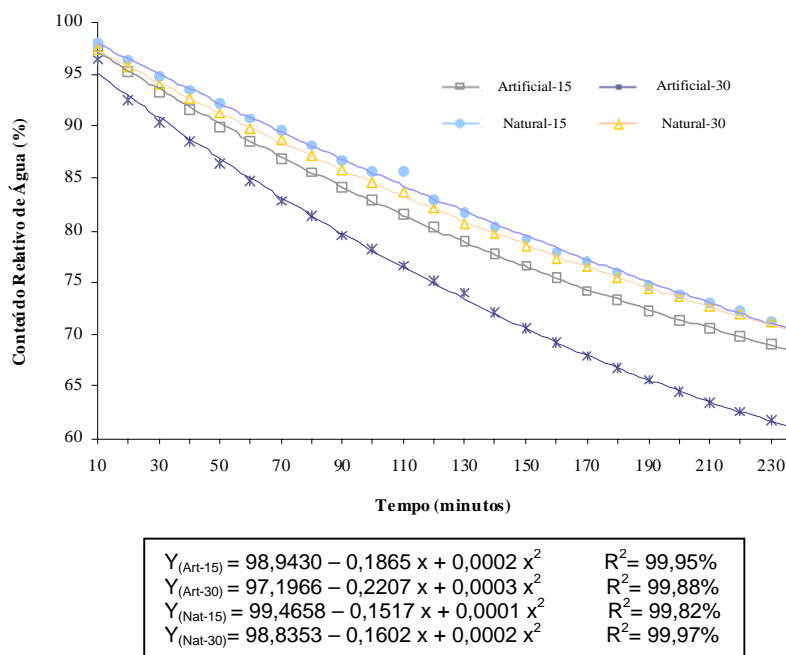
**Tabela 2.** Características anatômicas de folhas de bananeira 'Caipira', influenciadas pelo ambiente de cultivo (Natural e Artificial) e sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 45 dias de enraizamento *in vitro*. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )	Hipoderme adaxial (µm)		Média	Densidade estomática <i>abaxial</i>		Média
	Natural	Artificial		Natural	Artificial	
	15	44,1 Ba		79,7 Aa	61,9 a	
30	49,5 Ba	59,7 Ab	54,6 b	167,2 Aa	131,1 Bb	149,2 a
<b>Média</b>	46,8 B	69,7 A		162,6 A	140,9 B	
<b>CV (%)</b>		11,97			12,43	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

### Conteúdo relativo de água (RCW)

Influência significativa dos três fatores estudados (ambiente x sacarose x tempo) foi observada. Verificou-se que plantas cultivadas em ambiente artificial perderam mais água (menor RCW) com o tempo de exposição do que aquelas cultivadas sob luz natural, sendo esta perda mais acentuada com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Figura 1). Comportamento semelhante foi reportado por Decchetti (2004), em tecidos foliares de *Annona glabra* L., em que menor perda de água foi observada em plantas cultivadas *in vitro* sob elevada irradiância (300 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) em detrimento de níveis menores de irradiância. Já Sandoval et al. (1994) verificaram que plantas de bananeira 'Grande Naine' (AAA), cultivadas heterotroficamente *in vitro* sob 80 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, apresentavam cutícula fina, pequena deposição de cera e hipoderme extensa, com muito estômatos apresentando ostíolos parcialmente ou completamente fechados, indicando pouca ou nenhuma funcionalidade.



**Figura 1.** Conteúdo relativo de água em plantas micropropagadas de banana cv. Caipira (AAA), em resposta ao ambiente de cultivo (natural e artificial) e concentração de sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>). UFLA, Lavras, MG, 2007.

## CONCLUSÃO

A utilização da luz natural, na fase de enraizamento *in vitro*, promove melhorias nas características anatômicas avaliadas e reduz a perda de água das plantas após sua retirada dos recipientes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAPELLADES, M.; FONTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosamultiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 1, p. 141-145, Jan. 1990.
- DECETTI, S. F. C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3:** sistema de análise estatística. Lavras: UFLA;DEX, 2000. Software.
- GANGOPADHYAY, G.; DAS, S.; MITRA, S.K.; PODDAR, R.; MODAK, B.K.; MUKHERJEE, K.K. Enhanced rate of multiplication and rooting through the use of coir in aseptic liquid culture media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.68, p.301-310, 2002.
- HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.
- JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine') **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 141-14, 1999.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima, 2000. 531 p.
- MOHAMMED, G.H.; VIDAVER, W.E. The influence of acclimatization treatment and plantlet morphology on early greenhouse-performance of tissue-cultured Douglas fir [*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.21, p.111-117, 1990.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Lavras, MG.
- ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Water Loss and Morphological Modifications in Leaves during Acclimatization of Cork Oak Micropropagated Plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 616, p. 439-442, 2003.
- SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. **Fruits**, Paris, v. 49, n. 1, p. 37-46, Jan./Feb. 1994.
- TALAVERA, C.; CONTRERAS, F.; ESPADAS, F.; FUENTES, G.; SANTAMARÍA, J.M. Cultivating *in vitro* coconut palms (*Cocos nucifera*) under glasshouse conditions with natural light, improves *in vitro* photosynthesis nursery survival and growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 83, p. 287-292, 2005.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; rustificação *in vitro*; características fisiológicas; alterações estruturais.

## Modificações na anatomia foliar de plantas de bananeira, induzidas durante o processo de micropropagação.<sup>1</sup>

Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Miyata, Luzia Yuriko<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC.

### INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta de grande expressão econômica e social tanto no Brasil como no mundo, com elevado índice de consumo per capita e produção entre as espécies frutíferas tropicais. No entanto, a maioria das cultivares de bananas e plátanos amplamente cultivadas se caracterizam por serem parcialmente ou completamente estéreis e produzirem reduzida quantidade de mudas por meio de métodos convencionais de propagação, os quais podem ainda ocasionar a disseminação de pragas e doenças economicamente importantes. Diante desse contexto, a técnica de micropropagação representa uma promissora alternativa para a obtenção clonal massal de mudas com certificação genética e fitossanitária.

Segundo Silva et al. (2005), uma das dificuldades de sucesso da propagação vegetativa utilizando a micropropagação é a transferência das plantas de um local com condições controladas para casas de vegetação ou outras áreas. Isso porque as plantas produzidas *in vitro* possuem diferenças anatômica, morfológica e fisiológica daquelas crescidas em casa de vegetação e em campo (Calvete et al., 2002). As folhas das plantas micropropagadas são geralmente finas, tenras e fotossinteticamente pouco ativas; por isto, mal adaptadas às condições que irão encontrar na aclimatização.

Todavia, as plantas possuem plasticidade adaptativa e quando expostas a condições do ambiente *ex vitro* alteram suas estruturas corrigindo as anormalidades que ocorrem *in vitro*, sendo que o aumento na espessura da folha e a ocorrência de células paliádicas mais alongadas e contendo mais de uma camada constitui padrões clássicos de resposta e de adaptação das plantas a alta intensidade de luz (Lee et al., 2000). Desse modo, estudos acerca das alterações anatômicas de plantas micropropagadas pode facilitar a manipulação das mesmas durante a aclimatização e possibilitar a otimização desta fase, garantindo assim elevadas taxas de sobrevivência e melhorias nas mudas obtidas.

Objetivou-se estudar as modificações anatômicas em diferentes folhas de plantas micropropagadas de bananeira.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi constituído de plantas micropropagadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB) (altura média de 5,26 cm), originadas do enraizamento/alongamento *in vitro* de brotações axilares em basal de MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, com pH 5.8. O cultivo foi realizado em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio, cinco brotações e selados com filme transparente, permanecendo por 24 dias à temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 42 W.m<sup>-2</sup> (fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares, Osram 20 W, luz do dia especial).

Os tratamentos consistiram de seis tipos de folhas: T1) folhas de plantas *in vitro* ao final da fase de enraizamento; T2) folhas persistentes de plantas com um mês de aclimatização; T3) novas folhas formadas *ex vitro* de plantas com um mês de aclimatização (folhas de transição); T4) folhas de transição submetidas a permanência por mais 30 dias de aclimatização; T5) novas folhas de plantas com 60 dias de aclimatização e T6) folhas de

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

plantas com 120 dias de aclimatização. Para pleno controle das folhas dos tratamentos (T2) e (T4) efetuou-se marcação com fitilho de cores distintas.

Para a aclimatização, as plantas foram inicialmente removidas dos frascos, submetidas à lavagem de suas raízes e transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos pela mistura de terra de subsolo (abaixo de 40 cm):Plantmax<sup>®</sup> HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples. Em seguida, foram mantidas sob condições de casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns), sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente. Já as plantas do último tratamento (T6) foram transferidas para casa de vegetação desprovida de sombreamento, após 60 dias, sendo irrigadas manualmente conforme as necessidades.

As avaliações anatômicas foram conduzidas em seções transversais, das faces *adaxial* e *abaxial* da epiderme, obtidas do terço médio da segunda folha expandida (direção ápice-base), coletadas de diferentes plantas de cada tratamento e previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen, 1940) por 72 horas e conservadas em álcool etílico 70% (v/v). A clarificação dos cortes foi realizada em solução de hipoclorito de sódio (50% v/v), sendo em seguida lavados em água destilada e coradas com azul de astra-safranina. As avaliações foram conduzidas utilizando microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica e objetiva de 40X, por meio de três medições em seis folhas, na região após o quarto feixe lateral, totalizando 18 medições/tratamento.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC). A análise de variância dos dados foi efetuada por meio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott ( $P<0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados significativamente superiores para a espessura das epidermes *adaxial* e *abaxial* foram observados em folhas de plantas *in vitro* (T1), folhas persistentes (T2) e novas folhas formadas com 30 dias de aclimatização (folhas de transição) (T3), as quais não diferiram entre si (Tabela 1). No entanto, esse maior espessamento da epiderme se refere apenas ao vacúolo da célula e não a espessura da parede. Quanto ao parênquima paliçádico, maior espessamento ocorreu em folhas de plantas com 120 dias (T6), seguido das plantas com 60 dias (T5) ( $P<0,05$ ). Além disso, nenhuma diferença significativa foi notada entre folhas *in vitro* e persistentes (T1 e T2) e entre folhas de transição (T3) e do tratamento 4 (Tabela 1). Romano & Martins-Loução (2003) afirmam que o incremento da irradiância e a reduzida umidade durante a aclimatização resulta em folhas mais espessas e compactas contendo células paliçádicas mais alongadas e organizadas.

**Tabela 1.** Alterações na espessura dos tecidos em folhas de plantas micropropagadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Trat.	Feixe Central	Epiderme Adaxial	Hipoderme Adaxial	Parênq. Paliçádico	Parênq. Esponjoso	Hipoderme Abaxial	Epiderme Abaxial	Limbo Foliar
	----- (µm) -----							
T1	417,42 c	12,33 a	52,38 b	28,78 d	64,03 c	50,50 c	12,43 a	220,43 c
T2	500,92 c	12,13 a	54,15 b	27,78 d	68,48 c	44,58 c	14,03 a	221,13 c
T3	463,65 c	14,53 a	70,58 a	41,60 c	60,68 c	59,45 b	13,75 a	260,58 b
T4	477,90 c	10,45 b	72,13 a	37,40 c	66,80 c	51,33 c	10,65 b	248,75 c
T5	633,71 b	10,60 b	70,90 a	51,38 b	84,08 b	68,45 a	11,15 b	296,55 b
T6	981,47 a	8,58 b	84,30 a	86,55 a	153,60 a	36,23 d	8,93 c	378,18 a
<b>C.V. (%)</b>	15,38	18,75	27,64	15,11	13,63	11,64	14,03	12,33

Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade.

Já em relação ao parênquima esponjoso, maior espessura foi verificada em folhas de plantas com 120 dias de aclimatização (T6), seguido daquelas oriundas de plantas com 60 dias (T5) e dos tratamentos 1, 2, 3 e 4 (os quais não diferiram entre si) ( $P<0,05$ ). Comportamento semelhante foi observado para a espessura do feixe central (nervura).

Quanto as hipodermes, resultados significativamente superiores para a hipoderme *adaxial* ocorreram nos tratamentos 3, 4, 5 e 6, que embora não tenham diferido entre si, suplantaram os tratamentos 1 e 2. Por outro lado, a hipoderme *abaxial* apresentou maior e menor espessura nos tratamentos 4 e 6. Já para o limbo foliar, folhas de plantas com 120 dias de aclimatização apresentaram maior espessamento (Tabela 1).

Os resultados aqui observados mostram que algumas características anatômicas verificadas em folhas formadas *in vitro* ainda persistem nas primeiras folhas desenvolvidas *ex vitro* e que somente folhas oriundas de primórdios foliares diferenciados *ex vitro* apresentaram anatomia mais semelhante as plantas adultas, o que esta em concordância com afirmações de outros autores (Gonçalves et al., 2000; Romano & Martins-Loução, 2003; Sandoval et al., 1994). Nesse mesmo sentido, Donnelly & Vidaver (1984) relatam que o grau de transição verificado nas folhas formadas após a transferência *ex vitro* pode depender da quantidade e do estágio de maturidade dos primórdios foliares no momento da transferência das plantas para a aclimatização, bem como também das condições de estresses nas quais as plantas são submetidas.

Sandoval et al. (1994) estudando plantas de bananeira 'Grande Naine' sob diferentes estágios de micropropagação, observaram que folhas formadas em cultura *in vitro* apresentam como principais características anatômicas presença de epiderme e hipoderme com células relativamente largas, porém com paredes finas; mesofilo não diferenciado, com apenas uma camada de células isodiamétricas de parênquima paliçádico próximas ao parênquima esponjoso; cutícula extremamente fina, entre outros. Por outro lado, afirmam que folhas formadas durante a aclimatização possuem epiderme com parede espessa; cutícula fina a espessa (dependendo do período); hipoderme com uma a duas camadas; mesofilo com início de diferenciação e duas a três camadas de células de parênquima paliçádico e esponjoso.

## CONCLUSÕES

Todas as alterações anatômicas ocorrem gradualmente com o desenvolvimento de cada nova folha formada após a transferência das plantas para as condições *ex vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALVETE, Eunice O. et al. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 20, n. 4, 2002.
- DONNELLY, D.J.; VIDAVER, W.E. Leaf anatomy of red raspbeery transferred from culture to soil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 109, p. 172-176, 1984.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA; DEX, 2000. Software.
- GONÇALVES, J.C.; DIOGO, G.; COELHO, M.T. Changes in Leaf morphology and anatomy of *in vitro*-cultured Chestnut plantlets during acclimatization. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 520, p. 183-193, 2000.
- JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.
- Lee, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipeterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, v.87, n.4, p.447-455, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A. Water loss and morphological modifications in leaves during acclimatization of Cork Oak micropropagated plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 616, p. 439-442, 2003.
- SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. **Fruits**, Paris, v. 49, n. 1, p. 37-46, Jan./Feb. 1994.

SILVA, L.M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v.19, n.1, 2005.

PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; alterações anatômicas; aclimatização.

## **Avaliação de métodos de assepsia e tipos de explantes para estabelecimento *in vitro* de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.).**

Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>1</sup>; Sousa, Joice Alves de<sup>2</sup>; Santana, Márdina Cristiane dos Santos<sup>2</sup>; Lédo, Ana da Silva<sup>3</sup>; Oliveira, Ivênio Rubens de<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadora do Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cx Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, SE, fone (79) 40091362, e-mail: sarah@cpatc.embrapa.com.br; <sup>2</sup>Estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros/Universidade Tiradentes, e-mail: joicedote@hotmail.com; mcristiane\_06@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: analedo@cpatc.embrapa.br; ivenio@cpatc.embrapa.br

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), planta da família Euphorbiaceae, de cujas sementes é extraído um óleo inodoro, apresenta excelentes perspectivas para a produção do biodiesel. Na medicina popular utiliza-se o látex como cicatrizante, hemostático e como purgante. As raízes são consideradas diuréticas e antileucêmicas e as folhas são utilizadas para combater doenças de pele, além de possuírem propriedades anti-reumáticas e anti-sifilíticas. O tipo de explante e o método de assepsia para eliminação dos patógenos localizados externamente aos explantes são de fundamental importância para o estabelecimento da cultura *in vitro*. Com este objetivo foram avaliados em delineamento inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas, dois tratamentos para assepsia - parcelas maiores (hipoclorito de sódio (NaOCl) 1% e 2,5% por 15 minutos, após imersão em álcool 70% (v/v) por um minuto, seguida de três lavagens em água estéril) e quatro tipos de explantes – parcelas menores (segmentos nodais, apicais, internodais e base foliar), com cinco repetições e quatro explantes por repetição. Os explantes obtidos de plantas coletadas no campo, após assepsia, foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio MS gelificado com agar (6 g.L<sup>-1</sup>), sem fitorregulador, estéril e pH 5,8. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25°C ± 2 e fotoperíodo de 16 horas. Aos 15 e 45 dias após inoculação as concentrações de NaOCl utilizadas para limpeza dos explantes não influenciaram significativamente nas percentagens de oxidação de segmentos apicais, nodais e internodais; no mesmo período, os segmentos da base da folha apresentavam-se totalmente oxidados. Nenhum dos métodos utilizados foi eficiente para eliminar os contaminantes externos dos explantes segmentos da base foliar e segmentos internodais que apresentavam-se, respectivamente, 80 e 100% contaminados. Utilizando NaOCl a 1% a percentagem de segmentos nodais contaminados foi de 42,5% não diferindo significativamente do percentual observado quando se utilizou NaOCl a 2,5% (41,6%). Para limpeza de segmentos apicais, hipoclorito de sódio 2,5% foi mais efetivo obtendo-se aos 45 dias de cultivo 70% dos explantes livres de contaminantes. Quando se utilizou NaOCl 1% apenas 40% dos explantes não apresentavam contaminação. Trabalhos visando o desenvolvimento e ajuste de um protocolo para estabelecimento *in vitro* de pinhão manso estão sendo conduzidos.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Jatropha curcas*; micropropagação; cultivo *in vitro*; propágulos.



## **Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D e carvão ativado na germinação *in vitro* de embriões zigóticos imaturos de Macaúba (*Acrocomia aculeata*).**

Hodecker, Thiago Petermann<sup>1</sup>; Bandeira, Fabiana Schmidt<sup>2</sup>; Lani, Elisonete Ribeiro Garcia<sup>3</sup>; Xavier, Aloísio<sup>4</sup>; Otoni, Wagner Campos<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Florestal (UFV-BIOAGRO) Campus Universitário, CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-2930, email: thiagoph@gmail.com; <sup>2</sup>Doutoranda em Ciência Florestal (UFV-BIOAGRO), email: bandeira.fabiana@gmail.com; <sup>3</sup>Técnica de nível superior (UFV-DFT/BIOAGRO), email: elisonete@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professor Adjunto (UFV-DEF), email: xavier@ufv.br; <sup>5</sup>Professor Adjunto (UFV-DBV), email: wotoni@ufv.br.

### **INTRODUÇÃO**

A macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart) é uma palmeira nativa da América do Sul, com ocorrência em grande parte do território brasileiro, predominantemente nos estados de Minas Gerais e São Paulo.

Esta espécie apresenta grande potencial para produção de óleo, com vasta aplicação nos setores industriais e energéticos, com vantagens comparativas sobre as demais oleaginosas, principalmente em relação à sua maior rentabilidade agrícola e produção total de óleo (Motta et al., 2002), podendo atingir uma produção de 6 toneladas de óleo anual. Entretanto, a dificuldade de germinação *in situ* torna-se um grande entrave para a produção em larga escala de mudas, a qual pode levar 8 a 10 meses, com pouco aproveitamento e mudas desuniformes (Silva, 1994).

A cultura *in vitro* de embriões pode ser uma alternativa viável para a produção de mudas de macaúba. Segundo Hu e Ferreira (1998) essa técnica tem sido utilizada para superar a dormência de sementes, em virtude da imaturidade do embrião ou da presença de substâncias inibidoras no endosperma; no estudo dos aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento do embrião; para testar a viabilidade de sementes; na recuperação de híbridos raros de cruzamentos incompatíveis; e como fonte de explantes com tecido de elevada totipotência. Tabai (1990) alcançou resultados positivos, reduzindo drasticamente o tempo de germinação de embriões zigóticos de macaúba, obtendo mudas aptas à aclimatização 16 semanas após a inoculação dos embriões em meio nutritivo.

Com o objetivo de aumentar o índice de germinação desta palmeira, foi avaliado o efeito do 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) e do carvão ativado na germinação *in vitro* de embriões zigóticos imaturos de Macaúba.

### **METODOLOGIA**

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do BIOAGRO, da Universidade Federal de Viçosa. Os frutos utilizados foram coletados no município de Florestal, armazenados em câmara fria a 15°C por dois dias antes de serem processados.

No presente estudo, foram utilizados frutos imaturos (8 a 9 meses após a polinização). Para o isolamento dos embriões, os frutos foram retirados da câmara fria, descascados, despulpados e colocados para secar à temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida foram quebrados em um torno, liberando as amêndoas das quais foram extraídos os embriões.

Os embriões foram extraídos com o auxílio de bisturis, e, em condições assépticas desinfestados em hipoclorito de sódio 1%, acrescido de 3 gotas/100 mL de Tween 20, por 10 minutos. Procedeu-se 4 enxágües em água deionizada e autoclavada e a posterior inoculação dos embriões em meio basal MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de mio-inositol (100 mg. L<sup>-1</sup>), sacarose (30 g. L<sup>-1</sup>), ágar Merck® (6,5 g. L<sup>-1</sup>), e do antibiótico Timentim® (300 mg. L<sup>-1</sup>). O pH do meio foi ajustado para 5,7±0,1 (antes da adição do ágar e do carvão ativado) e, em seguida foi realizada a autoclavagem a 120°C, pressão de 1,0 kgf cm<sup>-2</sup>, durante 15 minutos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, onde foram combinadas três concentrações de 2,4-D (0;

2,5; 5 mg. L<sup>-1</sup>) a três concentrações de carvão ativado (1; 2; 3 g. L<sup>-1</sup>), totalizando 9 tratamentos. Adotou-se cinco repetições por tratamento, sendo considerada cada placa de Petri um repetição, com 7 embriões por placa. Foram utilizadas placas de Petri de poliestireno (60 x 15 mm). O meio de cultura foi vertido assepticamente, em alíquotas de 12 mL por placa de Petri.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, à temperatura de 25±2°C em regime de escuro. Após 30 dias, foram realizadas avaliações quanto ao percentual de germinação. Foram considerados embriões germinados, aqueles que emitiram raiz e parte aérea (germinação normal); apenas parte aérea ou apenas raiz (germinação anormal). Após a avaliação, os embriões germinados foram transferidos para tubos de ensaio (25x150 mm) contendo 10 mL de meio basal MS, acrescido de sacarose (30 g. L<sup>-1</sup>), carvão ativado (2 g. L<sup>-1</sup>) e de ágar Merck® (6,5 g. L<sup>-1</sup>) e vedados com tampas de polipropileno. Nesta fase, as plântulas obtidas foram mantidas sob as mesmas condições anteriormente descritas, porém sob fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, irradiância de 40 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecida por tubos fluorescentes (luz do dia) Osram, 20 Watts.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se melhores resultados quanto à germinação normal, nas menores concentrações de 2,4-D (0 e 2,5 mg. L<sup>-1</sup>) combinadas a 2 g. L<sup>-1</sup> de carvão ativado (40 e 37% respectivamente). Na concentração mais elevada de 2,4-D (5 mg. L<sup>-1</sup>) foi observado um máximo de 30% de germinação, associada à adição de 3 g. L<sup>-1</sup> de carvão ativado ao meio de cultura (Figura 1).

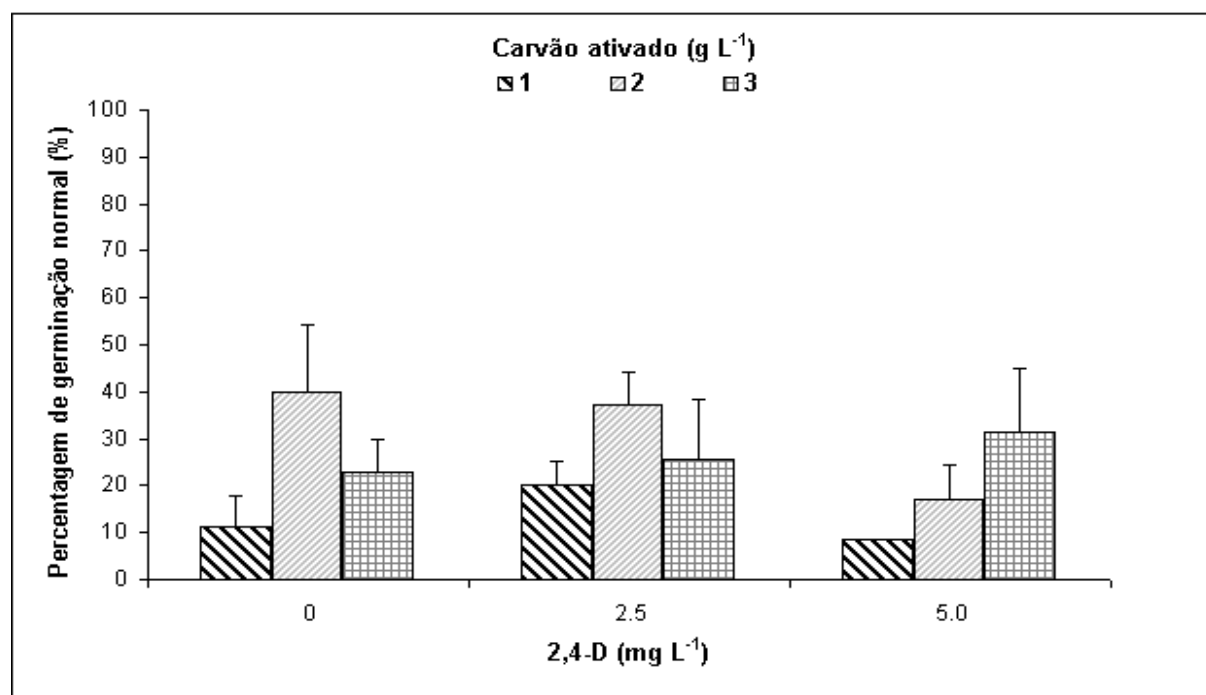


Figura 1. Percentagem de germinação *in vitro* normal (emissão de parte aérea e raiz) de embriões zigóticos imaturos de *Acrocomia aculeata* após 30 dias de inoculação. As barras indicam o desvio padrão.

Em relação à germinação anormal caracterizada pela emissão de raízes apenas, observou-se menores percentuais nos tratamentos 0 e 2,5 mg. L<sup>-1</sup> combinados a 2 g. L<sup>-1</sup> de carvão ativado (51 e 37% respectivamente). Por outro lado, em 5 mg. L<sup>-1</sup> de 2,4-D, a menor percentagem de germinação anormal obtida (51%) ocorreu na maior concentração de carvão ativado (Figura 2).

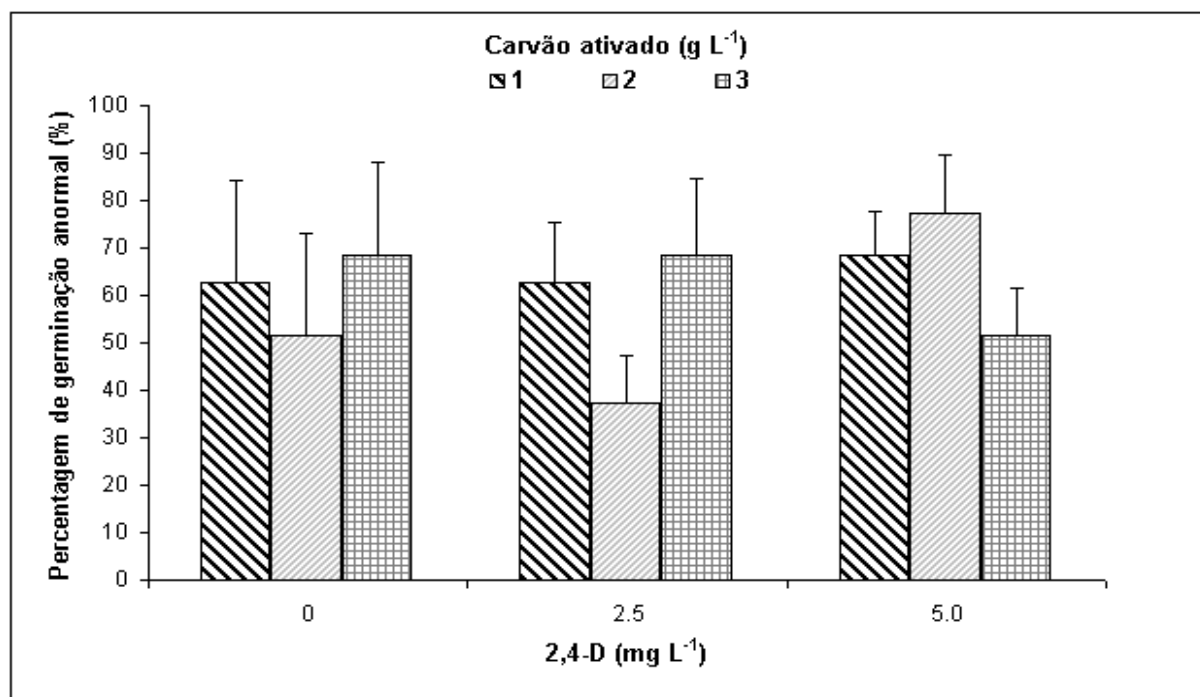


Figura 2. Percentagem de germinação *in vitro* anormal (emissão de raízes apenas) de embriões zigóticos imaturos de *Acrocomia aculeata* após 30 dias de inoculação. As barras indicam o desvio padrão.

Vale comentar o efeito do carvão ativado, independente da concentração de 2,4 D utilizada, sobretudo na qualidade do sistema radicular dos embriões germinados, particularmente nas concentrações mais elevadas (2 e 3 g. L<sup>-1</sup>). As raízes formadas apresentaram-se alongadas e vigorosas (dados não mostrados), aspecto que assume grande importância durante a fase de aclimatização *ex vitro* das plântulas. Pan e Staden (1998) relatam os efeitos benéficos que o carvão ativado pode exercer no desenvolvimento de culturas *in vitro*, dentre esses a capacidade de adsorver determinadas substâncias presentes no meio de cultura, bem como aquelas liberadas pelos explantes. Steinmacher (2005) obteve melhores resultados na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de *Bactris gasipaes* ao adicionar carvão ativado (1,5 g. L<sup>-1</sup>) aos meios nutritivos, ressaltando que na ausência deste componente, as plântulas obtidas apresentaram crescimento lento e desbalanceado.

De acordo com os resultados obtidos quanto à germinação anormal, caracterizada pela emissão de parte aérea apenas, observou-se que na ausência de 2,4-D e no aumento da concentração de carvão ativado, houve uma redução na percentagem de germinação (de 9 para 6%). Entretanto, na maior concentração de 2,4-D (5 mg. L<sup>-1</sup>) melhores resultados foram obtidos na menor concentração de carvão ativado (1 g. L<sup>-1</sup>), não sendo observada emissão de parte aérea (Tabela 1).

Tabela 1. Percentagem de germinação *in vitro* anormal (emissão de parte aérea apenas) de embriões zigóticos imaturos de *Acrocomia aculeata* após 30 dias de inoculação.

Percentagem de embriões intumescidos, oxidados ou sem reação (%)			
2,4 D (mg. L <sup>-1</sup> )	Carvão ativado (g. L <sup>-1</sup> )		
	1	2	3
0	9	6	6
2,5	6	6	3
5,0	0	3	3

Quanto aos explantes que não germinaram por terem intumescido, oxidado ou por não reagirem, os maiores percentuais foram observados nos tratamentos de 2 g. L<sup>-1</sup> de carvão ativado com 2,5 mg. L<sup>-1</sup> de 2,4-D (20%) e 1 g. L<sup>-1</sup> de carvão ativado com 5 mg. L<sup>-1</sup> de 2,4-D (23%). Esses resultados podem ser atribuídos aos danos causados aos embriões durante a extração e desinfestação dos explantes (Tabela 2).

Tabela 2. Percentagem total de embriões que intumesceram, oxidaram, ou que não reagiram, nas diferentes combinações de 2,4 D e carvão ativado.

Percentagem de embriões intumescidos, oxidados ou sem reação (%)			
2,4 D (mg. L <sup>-1</sup> )	Carvão ativado (g. L <sup>-1</sup> )		
	1	2	3
0	17	3	3
2,5	11	20	3
5,0	23	3	14

## CONCLUSÃO

Para a germinação *in vitro* de embriões imaturos de macaúba, recomenda-se o uso de carvão ativado na concentração de 2g. L<sup>-1</sup>. O uso de 2,4 D não estimulou a germinação normal dos embriões sendo dispensável sua adição ao meio nutritivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1998. p. 371-393.

MOTTA, P. E. F.; CURI, N.; OLIVEIRA FILHO, A. T.; GOMES, J. B. V. Ocorrência da macaúba em Minas Gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 1023-1031, 2002.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15: 473-497, 1962.

PAN, M. J.; Van STADEN, J. Use of charcoal in *in vitro* culture – a review. **Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 155-163, 1998.

SILVA, J. C. **Macaúba: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial**. Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 1994, 41 p.

STEINMACHER, D. A. **Germinação *in vitro*, criopreservação e embriogênese somática em pupunha**. 2005, 125 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais), Florianópolis: UFSC.

TABAI, S.; MELO, M.; CROCOMO, O. J. Control of somatic embryos formation the palm macaúba (*Acrocomia aculeata*). In: INTERNACIONAL CONGRESS PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 7. 1990. Amsterdam. **Abstracts...** Amsterdam: IAPTC, 1990. p. 248.

## PALAVRAS-CHAVES

*Acrocomia aculeata*; germinação *in vitro*; 2,4-D; carvão ativado; embriões zigóticos

## Efeito do benomyl e do bicloreto de mercúrio na desinfestação de explantes de palma forrageira (*Opuntia ficus*)

Silva Junior, Jessé Marques<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Silva, Luciano Coutinho<sup>3</sup>; Masetto, Tathiana Elisa<sup>4</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [jesseagronomo@yahoo.com.br](mailto:jesseagronomo@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Graduando em Agronomia; <sup>4</sup>Doutoranda em Engenharia Florestal (UFLA), bolsista CAPES; <sup>5</sup>Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA).

### INTRODUÇÃO

A palma forrageira (*Opuntia ficus*) é o alimento mais utilizado pelos produtores na maior Bacia Leiteira do Nordeste em Batalha-Alagoas, principalmente na época do verão. É o único volumoso que mantém seu valor nutritivo mesmo sem parar de crescer (Melo, 2005). Somente em Alagoas, existem mais de 90 mil hectares de palma forrageira miúda. Estima-se existir, no Nordeste brasileiro, cerca de 400 mil hectares cultivados, constituindo-se numa das principais forrageiras na época seca (Santos et al., 1997).

Atualmente, este vegetal se presta às mais diversas utilidades, por ser amplamente difundido, de fácil plantio e altamente resistente à seca. A palma forrageira é uma das principais culturas ornamentais da região Nordeste do Brasil e é principalmente utilizada na indústria alimentícia, na indústria farmacêutica e de cosméticos, além de ser empregada no setor agrônomico entre outros (Sebrae, 2001).

A cultura de tecidos é um meio de desenvolver células ou tecidos vegetais sob condições controladas. Pode ser definida como a cultura de células vegetais isoladas, de um grupo de células, tecidos ou órgãos em ambiente artificial, sob condições assépticas. Nesse ambiente, as células, tecidos e órgãos se multiplicam e continuam a crescer de modo não organizado ou se regeneram numa planta inteira (Da Silva, 2007).

A contaminação dos explantes é um dos principais problemas do cultivo *in vitro* de espécies lenhosas (Pierik, 1990). Os níveis de contaminação tendem a ser maiores quando as plantas matrizes usadas como fonte de explantes são provenientes do campo. No entanto, mesmo as plantas submetidas ao rigoroso controle fitossanitário e mantidas em viveiro protegido ou casa de vegetação são fontes potenciais de microorganismos, que podem tornar-se limitantes aos procedimentos de cultivo *in vitro* (Medeiros, 1999).

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio e de bicloreto de mercúrio na desinfestação e sobrevivência de explantes de palma forrageira.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado foram raquetes (cladódios) jovens de palma forrageira coletada no campus do Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas, localizada no Município de Messias-Alagoas, Brasil. Após a coleta, o material foi levado ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal (BIOVEG) para os procedimentos de assepsia, primeiramente com a imersão dos cladódios em etanol 70% (0 e 2 minutos), para quebrar a tensão superficial do tecido e facilitar a penetração do bicloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>) 0,1% (0, 5, 10, 20 e 30 minutos) e benomyl 0,1%, totalizando 12 tratamentos. Ao término da assepsia foram efetuadas cinco lavagens. Todo o procedimento de limpeza (assepsia) foi realizado em cabine de fluxo laminar. As combinações dos tratamentos podem ser verificadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Tratamentos e tempo de imersão utilizados durante a assepsia.

Tratamentos	Etanol 50% (min.)	Biocloreto de mercúrio 0,1% (min.)	Benomyl 0,1% (min)
T1	0	0	0
T2	0	5	5
T3	0	10	10
T4	0	15	15
T5	0	20	20
T6	0	30	30
T7	2	0	0
T8	2	5	5
T9	2	10	10
T10	2	15	15
T11	2	20	20
T12	2	30	30

Os cladódios foram seccionados em fragmentos de 1 cm de comprimento, os quais receberam o nome de explantes, e os mesmos foram inoculados em meio de cultura universalmente conhecido por MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementados com sacarose ( $30\text{g L}^{-1}$ ), ágar ( $7,0\text{g L}^{-1}$ ), pH ajustado para 5,8 sem regulador de crescimento e a cultura foi encubada em sala de crescimentos com  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 16 horas de fotoperíodo a  $50\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa por 20 dias. Neste período foram avaliados a taxa de contaminação e o número de explantes estabelecidos *in vitro*.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com 12 tratamentos e unidade experimental constituída de quinze tubos com um explante por tubo.

As avaliações foram realizadas semanalmente até aos 30 dias do início da incubação dos explantes. Os níveis de contaminação foram avaliados por meio de uma escala de notas variando de 0 a 10, onde 0 = 0% de contaminação e 10 = 91-100% de contaminação, sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DICUSSÃO

Com base nos resultados observados na Figura 1, pode-se considerar que as soluções desinfestantes testadas, com exceção da testemunha (T1), foram eficientes no decorrer das quatro semanas de avaliações, devido a redução de contaminações fúngicas e bacterianas. Após a desinfestação a maioria dos explantes de palma (70%), se desenvolveram formando brotações, porém 30% apresentaram sintomas de toxidez na porção basal como: escurecimento (necrose) e dobramento (curvatura), a partir do T6.

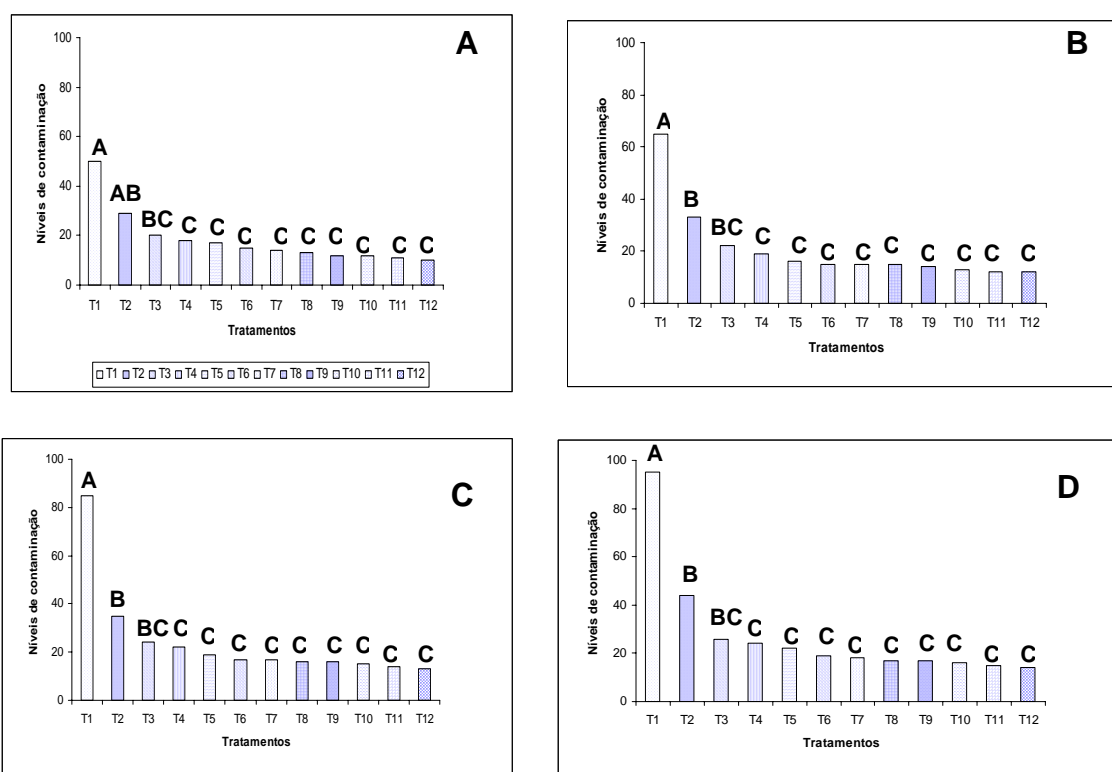
O melhor tratamento observado para desinfestação de explantes de palma forrageira foi T5 com redução de 83%, 82%, 81% e 78% das contaminações nas quatro semanas de cultivo. Flores et al. (2006), utilizando soluções de biocloreto de



mercúrio (0,1%) e benomyl (0,1%) na otimização da micropropagação de *Pfaffia tuberosa* conseguiu resultados satisfatórios com tempos de imersão a partir de 5 minutos em ambas as soluções, alcançando valores próximos a 100% de descontaminação. Andrade (1998), trabalhando com desinfestação de embriões imaturos de *Coffea* sp. utilizou biocloreto de mercúrio (0,5%), proporcionou 100% de embriões assépticos.

A partir do tratamento T6, onde se observaram sintomas de toxidez, constatou-se também a morte dos explantes provavelmente provocada pelo biocloreto de mercúrio.

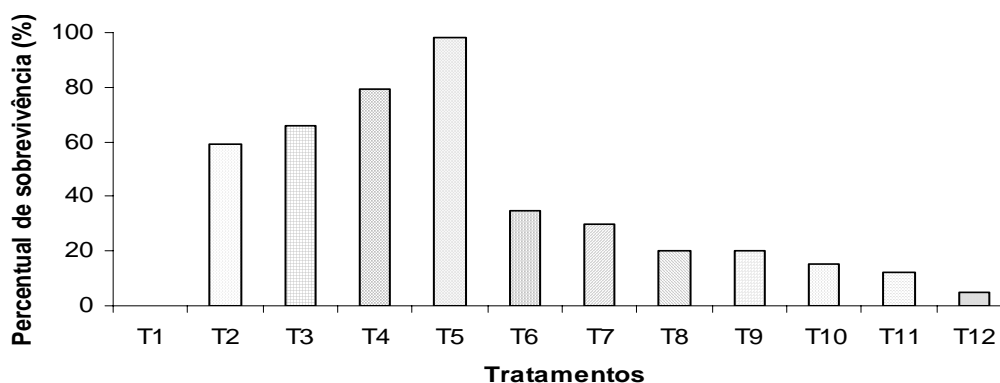
Apesar de o HgCl<sub>2</sub> ser bastante utilizado em espécies com sérios problemas de contaminações George (1993) relata que este produto é extremamente tóxico se utilizado por longos períodos, devendo ser manuseado com muita cautela.



**Figura 1.** Eficiência dos tratamentos no decorrer de 4 semanas. A- primeira semana; B- segunda semana; C- Terceira semana e D- quarta semana

O percentual de sobrevivência de explantes de palma forrageira em relação ao tempo e a solução asséptica utilizada podem ser observados na Figura 2. Onde se verifica que o melhor tratamento foi T5 com 98% de sobrevivência, seguido pelo T3 e T4 com 66% e 79% de sobrevivência. Para a testemunha (T1), as mortes foram ocasionadas pelo desenvolvimento de contaminações tanto fúngicas quanto bacterianas.

Nos tratamentos que excederam períodos superiores a 20 minutos de imersão em biocloreto de mercúrio e benomyl, com a adição de etanol (50%) por dois minutos, se tornaram extremantes letais aos explantes, como podem ser observados nos tratamentos T6, T7, T8, T9, T10, T11 e T12, com 35%, 30%, 21%, 20%, 15%, 12% e 5% de sobrevivência.



**Figura 2.** Percentual de sobrevivência de explantes de palma forrageira após 30 dia de cultivo.

### CONCLUSÃO

O melhor tratamento para desinfestação de explantes de palma forrageira proveniente do campo foi o T5 (20 minutos em biocloreto de mercúrio e 20 minutos em benomyl), o qual proporcionou 98% de sobrevivência.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L. M. C. O. 1998. Otimização de técnicas de cultura de tecidos para o cafeeiro. Lavras: UFLA. 86p. Dissertação de mestrado.

DA SILVA, A. L. C. Cultura de tecidos de plantas. Disponível em: <http://br.geocities.com/alccoelho/calogenese.html>. Acesso em: 02 abr. 2007.

FLORES, R.; MALDANER, J. & NICOLOSO, F. T. Otimização da micropropagação de *Pfaffia tuberosa* (Spreng) Hichen. Ciência Rural, Santa Maria, v.63, n.3, p, 845-851, mai-jun, 2006.

GEORGE, E. **Plant propagation by tissue culture.** The technology. Eversley. Exegetics, v.1, 1993.

PIERIK, R.L.M. Vegetative propagation. In: PIERIK, R.L.M. **In vitro culture of higher plants.** [S.l.]: Intenational Association for Plant Tissue Culture, 1990. p.183-230.

MEDEIROS, C.P.C. de. **Indução in vitro de respostas morfogênicas em explantes nodais de cajazeira (*Spondias mombin* L.).** 1999. 79f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SEBRAE- AGROECOLOGIA, CULTIVO E USOS DA PALMA FORRAGEIRA. Sebrae – PB, 2001.

### PALAVRAS-CHAVE:

*Opuntia ficus*, assepsia, estabelecimento *in vitro*, contaminação.



## Estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais do híbrido *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden.

Brondani, Gilvano Ebling<sup>1</sup>; Dutra, Leonardo Ferreira<sup>2</sup>; Grossi, Fernando<sup>3</sup>; Wendling, Ivar<sup>4</sup>; Azevedo, Jefferson Hornig<sup>5</sup>; Hansel, Fabrício Augusto<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Eng. Florestal, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da UFPR, Av. Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba (PR), Bolsista do CNPq, email: [gebrondani@yahoo.com.br](mailto:gebrondani@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Eng. Agrônomo, Dr., Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo (PR), email: [leo@cnpf.embrapa.br](mailto:leo@cnpf.embrapa.br); <sup>3</sup>Eng. Florestal, Dr., Professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da UFPR, Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba (PR), email: [f\\_grossi@ufpr.br](mailto:f_grossi@ufpr.br); <sup>4</sup>Eng. Florestal, D.S., Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo (PR), email: [ivar@cnpf.embrapa.br](mailto:ivar@cnpf.embrapa.br); <sup>5</sup>Aluno de Graduação em Engenharia Florestal da UFPR, Av. Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba (PR), email: [jhaz@ufpr.br](mailto:jhaz@ufpr.br); <sup>6</sup>Químico, Dr., Analista A da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo (PR), email: [hansel@cnpf.embrapa.br](mailto:hansel@cnpf.embrapa.br).

### INTRODUÇÃO

A falta de opções de espécies do gênero *Eucalyptus* tolerantes a geadas é uma das limitações da expansão de seu cultivo na região sul do Brasil. Neste sentido, tanto o *E. dunnii* como o *E. benthamii* apresentam-se como alternativas para o empreendedor florestal. Adicionalmente, a produção do híbrido interespecífico entre os materiais citados poderá proporcionar benefícios extras, ao associar as vantagens adaptativas e silviculturais das espécies parentais.

As práticas e as técnicas silviculturais convencionais contribuíram significativamente para melhoria da produtividade das espécies florestais, e continuarão a ter um impacto substancial nas plantações comerciais (NEHRA et al., 2005). Nesse sentido, o uso da clonagem está sendo reconhecido pelo mundo inteiro como fator contributivo para o aumento da produtividade (JOSHI et al., 2003).

A propagação vegetativa de *Eucalyptus* já é realidade em várias empresas florestais (XAVIER e COMÉRIO, 1996) e atualmente está ganhando destaque no setor de produção de mudas. Dentre as técnicas de cultura de tecidos de plantas, a micropropagação tem sido a mais difundida e com aplicações práticas comprovadas. Esta já se encontra embutida nos programas de melhoramento, que na maioria das vezes objetivam a maximização ou manutenção do valor genético do clone a ser propagado, permitindo assim, acelerar os métodos convencionais de propagação vegetativa (XAVIER e COMÉRIO, 1997).

Um dos fatores mais críticos na micropropagação de espécies lenhosas refere-se ao sucesso na fase de desinfestação dos explantes. GRATTAPAGLIA e MACHADO (1998) destacam que a dificuldade maior nessa etapa reside em se obter tecido descontaminado, sem conduzi-lo à morte quando isolado, em que os pré-tratamentos aplicados à planta matriz são determinantes para o sucesso dessa etapa. Segundo os mesmos autores, várias substâncias com ação germicida são utilizadas para fazer a desinfestação dos explantes, destacando-se o etanol e os compostos a base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio (NaOCl) e de cálcio.

Quando se utiliza material vegetativo diretamente do campo, os tratamentos desinfestantes são mais criteriosos, em virtude de apresentarem maiores níveis de contaminação (ALFENAS et al., 2004) e as concentrações e tempos de exposições aos agentes desinfetantes devem ser maiores (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998), em comparação aos explantes provenientes de ambientes protegidos.

O presente trabalho teve como objetivo testar diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (NaOCl) no estabelecimento de segmentos nodais de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii* oriundos de sistema semi-hidropônico.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado para a obtenção dos explantes foi proveniente de minicepas de híbridos de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii* dos clones H12, H19 e H20 propagadas pelo processo de estaquia convencional. As minicepas foram conduzidas em jardim miniclinal em sistema semi-hidropônico de canaletão com areia média em ambiente protegido, recebendo diariamente nutrientes por gotejamento a uma vazão de 5 L m<sup>-2</sup>.

Brotações foram coletadas em intervalos de 15 dias e transportadas em ácido ascórbico a 1%. Posteriormente foram lavadas superficialmente com água deionizada, e destas retiraram-se as folhas.

Como explantes, utilizaram-se segmentos nodais contendo um par de gemas axilares sem as folhas e com tamanho de 1,5 cm, os quais foram imersos em solução 70% de álcool (v/v) por 15 segundos, enxagüados com água deionizada e submetidos às concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% de cloro ativo (NaOCl) acrescidas de Tween 20 (0,01% v/v) durante 10 minutos. Finalmente, foram enxagüados com água deionizada e autoclavada, por três vezes e inoculados em tubos de ensaio (10 cm x 2 cm) contendo 10mL do meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 250mg L<sup>-1</sup> de PVP-40, 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6g L<sup>-1</sup> de ágar e pH 5,8. Após a inoculação, os explantes foram mantidos durante 7 dias no escuro. O ágar foi adicionado após a correção do pH do meio de cultura e então autoclavado à temperatura de 121 °C (1,0 kgf cm<sup>-2</sup>) durante 20 minutos. Os explantes foram cultivados em sala de incubação com temperatura mantida entre 26±2°C, fotoperíodo de 16 horas luz e luminosidade de 84µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Avaliou-se semanalmente a contaminação por fungos, bactérias, oxidação e, aos 21 dias, o número de folhas, número de brotações e o comprimento total das brotações dos explantes sadios.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições e 5 explantes por repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para todas as variáveis analisadas somente houve efeito significativo do fator clone para a porcentagem de contaminação por bactéria, oxidação e explantes sadios aos 21 dias após a inoculação.

A contaminação por bactéria e oxidação resultaram em pouca influência na fase de estabelecimento, entretanto, a contaminação por fungo requer maior atenção. Nesse caso, tratamento com fungicida previamente à coleta das brotações pode resultar em maior estabelecimento de segmentos nodais (ALFENAS et al., 2004), visto que, independentemente da concentração de cloro ativo utilizada, a média de contaminação com fungo ficou em 41,3%.

Quanto à contaminação por bactéria, o clone H19 apresentou o maior valor médio, com 9% de contaminação, diferindo significativamente dos clones H12 e H20, os quais apresentaram 1 e 0% para essa variável (Figura 1A). Já a porcentagem de oxidação do clone H19 (6%) diferiu significativamente do H20 (0%) (Figura 1B).

Geralmente as concentrações de cloro ativo variam de 0,5 a 2,0% em imersão de até 40 minutos (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). ALFENAS et al. (2004) recomendam a concentração de 0,3% de cloro ativo para tecidos mais tenros durante 2 minutos, o que pode apresentar resultados satisfatórios quanto à assepsia para explantes provenientes de ambientes protegidos.

Aos 21 dias após a inoculação o clone H20 foi o que apresentou maior porcentagem de explantes sadios (66%), diferindo dos clones H12 (45%) e H19 (46%) (Figura 1C).

GRATTAPAGLIA e MACHADO (1998) ressaltam que o estado fisiológico da planta de onde são retirados os explantes tem grande influência no posterior comportamento das culturas. Esse fator pode ter influenciado na resposta dos clones quanto aos tratamentos testados, pois os explantes foram provenientes de minicepas cultivadas em jardim miniclinal manejadas em sistema semi-hidropônico. Segundo CAMPINHOS et al. (1999), as vantagens

mais relevantes nesse sistema estão ligadas ao controle mais efetivo de todo o processo, como maior controle da irrigação, nutrição, tratos culturais e pragas e doenças.

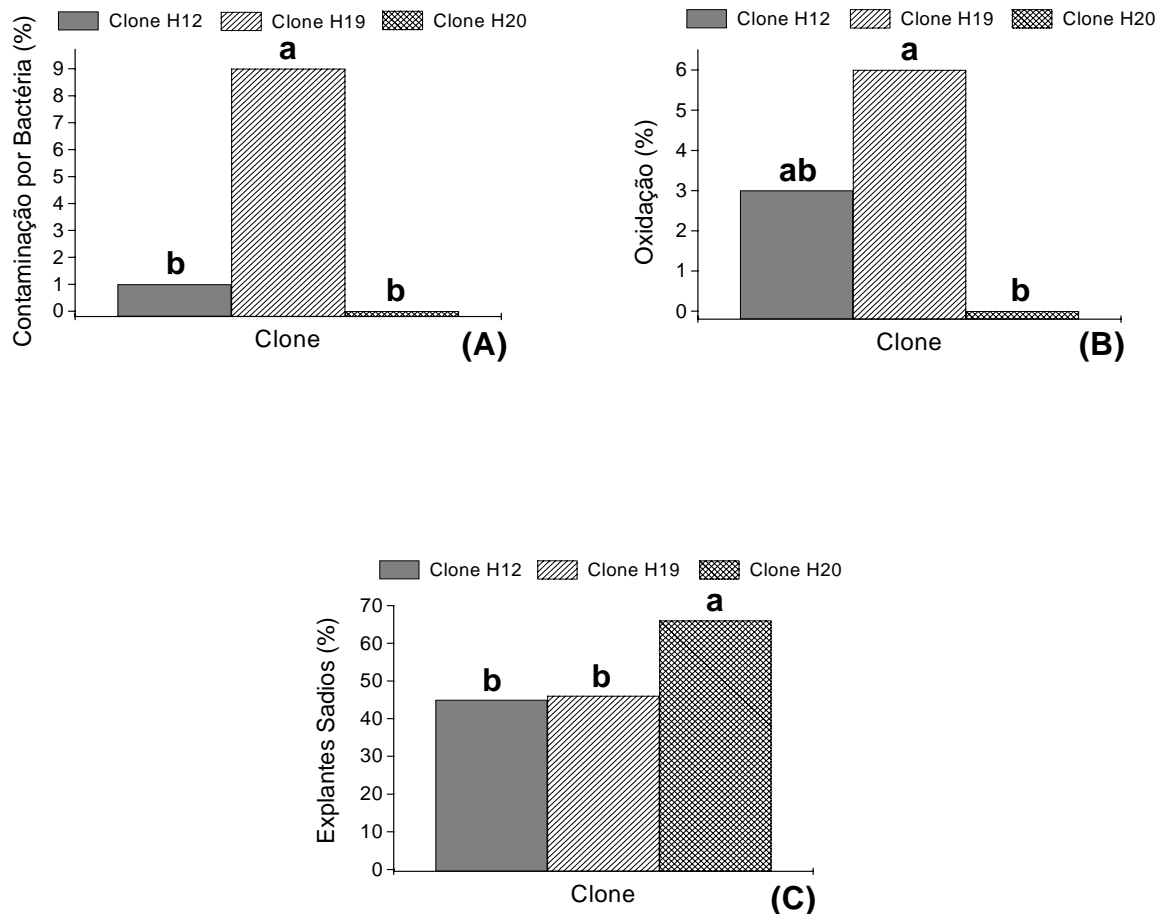


Figura 1. Valores médios da contaminação por bactéria dos explantes (A), porcentagem de oxidação (B) e explantes sadios (C) de híbridos de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii* aos 21 dias após a inoculação. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

## CONCLUSÃO

Houve diferença entre os clones com relação à contaminação por bactéria, oxidação e explantes sadios, obtendo-se até 66% de estabelecimento do clone H20 aos 21 dias após a inoculação. A contaminação fúngica é um fator limitante, existindo necessidade de maior controle para essa variável. Não houve diferença significativa entre as concentrações de cloro ativo testadas em relação ao estabelecimento dos clones.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 442 p.

CAMPINHOS, E. N.; SERVIN, C. M. L.; CARDOSO, N. Z.; ALMEIDA, M. A.; ROSA, A. C. Hidrojardim clonal Champion: uma otimização na produção de mudas de eucalipto. **Silvicultura**, São Paulo, v. 19, n. 80, p. 42-46. 1999.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI / EMBRAPA-CNPq, 1998. p. 183-260.

JOSHI, I.; BISHT, P.; SHARMA, V. K.; UNIYAL, D. P. *In vitro* clonal propagation of mature *Eucalyptus* F<sub>1</sub> hybrid (*Eucalyptus tereticornis* Sm. X *E. grandis* Hill ex Maiden). **Silvae Genetica**, v. 52, n. 3-4, p. 110-113, 2003.

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

NEHRA, N. S.; BECWAR, M. R.; ROTTMANN, W. H.; PEARSON, L.; CHOWDHURY, K.; CHANG, S.; WILDE, H. D.; KODRZYCKI, R. J.; ZHANG, C.; GAUSE, K. C.; PARKS, D. W.; HINCHEE, M. A. Forest biotechnology: innovative methods, emerging opportunities. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, v. 41, n. 6, p. 701-717, 2005.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 20, n. 1, p. 9-16, 1996.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Enraizamento "ex vitro" de gemas de *Eucalyptus* spp. multiplicadas e alongadas "in vitro". **Scientia Forestalis**. n. 51, p. 29-36. 1997.

## PALAVRAS-CHAVE

Eucalipto; Cultivo *in vitro*; assepsia; hipoclorito de sódio; segmentos nodais.

## Multiplicação e alongamento do híbrido *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden.

Brondani, Gilvano Ebling<sup>1</sup>; Dutra, Leonardo Ferreira<sup>2</sup>; Grossi, Fernando<sup>3</sup>; Wendling, Ivar<sup>4</sup>; Azevedo, Jefferson Hornig<sup>5</sup>; Hansel, Fabrício Augusto<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Eng. Florestal, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da UFPR, Av. Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba (PR), Bolsista do CNPq, email: [gebrondani@yahoo.com.br](mailto:gebrondani@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Eng. Agrônomo, Dr., Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo (PR) email: [leo@cnpf.embrapa.br](mailto:leo@cnpf.embrapa.br); <sup>3</sup>Eng. Florestal, Dr., Professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da UFPR, Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba (PR), email: [f\\_grossi@ufpr.br](mailto:f_grossi@ufpr.br); <sup>4</sup>Eng. Florestal, D.S., Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo (PR), email: [ivar@cnpf.embrapa.br](mailto:ivar@cnpf.embrapa.br); <sup>5</sup>Aluno de Graduação em Engenharia Florestal da UFPR, Av. Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba (PR), email: [jhaz@ufpr.br](mailto:jhaz@ufpr.br); <sup>6</sup>Químico, Dr., Analista A da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo (PR), email: [hansel@cnpf.embrapa.br](mailto:hansel@cnpf.embrapa.br).

### INTRODUÇÃO

As espécies *Eucalyptus dunnii* e *Eucalyptus benthamii* apresentam tolerância a baixas temperaturas, fator limitante à expansão do cultivo de eucalipto na região sul do Brasil. Um híbrido interespecífico entre estes materiais possivelmente permitirá explorar-se as vantagens advindas deste cruzamento.

O desenvolvimento da clonagem em espécies puras e em híbridos interespecíficos do gênero *Eucalyptus* por meio do enraizamento de estacas foi o marco inicial da propagação vegetativa assumir posição de destaque e despertar o interesse das empresas e pesquisadores, com conseqüente busca de aprimoramento e inovações tecnológicas (TITON et al., 2003). Atualmente a técnica de miniestaquia é empregada na maioria das empresas florestais, sendo que para DEL PONTE et al. (2001), a principal aplicação desse método tem sido na produção de mudas clonais de materiais selecionados.

Da mesma forma, a micropropagação também está sendo empregada para multiplicação massal de indivíduos selecionados (XAVIER e COMÉRIO, 1996; WATT et al., 2003) com inúmeras vantagens e aplicações comprovadas, como a promoção de uniformidade dos plantios, adaptações dos clones específicos para determinados sítios e maximização da produção de madeira em quantidade e qualidade desejáveis para determinados fins, em comparação com plantios oriundos de mudas produzidas por sementes (XAVIER e COMÉRIO, 1996). Além disso, proporciona a manutenção das características favoráveis evitando a variabilidade encontrada em árvores obtidas a partir de sementes (HIGASHI et al., 2000).

Na micropropagação de espécies lenhosas, as citocininas são indispensáveis para a quebra de dominância apical e indução de proliferação de gemas axilares, sendo o tipo de citocinina e a sua concentração os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*. As concentrações de citocininas para a multiplicação variam de 0,1 a 5,0 mg L<sup>-1</sup>, em que as concentrações de auxina são freqüentemente baixas se comparadas com as das citocininas para manter um balanço auxina/citocinina menor que 1 na fase de proliferação de gemas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Como meio de multiplicação, para obter ao mesmo tempo culturas alongadas, tem sido utilizado o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com BAP (0,08 mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0,1 mg L<sup>-1</sup>), sendo que repicagens sucessivas para novos meios de multiplicação devem ser feitas a cada 3 a 4 semanas (ALFENAS et al., 2004). Entretanto, devido a diferenças no comportamento das espécies, essas concentrações de reguladores de crescimento são variáveis.

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo testar diferentes concentrações de BAP e ANA na multiplicação e alongamento de híbridos de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se brotações do clone H12 do híbrido *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii* oriundas de propágulos cultivados *in vitro* e subcultivadas duas vezes. Estas foram cultivadas em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) contendo 0,25 mg L<sup>-1</sup> de benzilaminopurina (BAP) e 0,01 mg L<sup>-1</sup> de ácido naftalenoacético (ANA), 250 mg L<sup>-1</sup> de PVP-40, 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6g L<sup>-1</sup> de ágar e pH 5,8.

Na multiplicação, explantes de aproximadamente 0,5 mm e contendo uma a duas gemas, foram inoculados em frascos de 5 cm x 7 cm, contendo 40mL do meio de cultura ½ MS suplementado com 0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,01 mg L<sup>-1</sup> de ANA. Aos 30 dias procedeu-se a troca do meio de cultura e aos 30 e 60 dias de cultivo foi avaliado o número de gemas formadas por explante. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições e 4 explantes por repetição.

Visando o alongamento das brotações, tufos do clone H12 contendo de 10 a 20 gemas obtidas na fase de multiplicação foram inoculados em frascos (5 cm x 7 cm) contendo 20mL do meio de cultura ½ MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 0,05 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Aos 30 dias procedeu-se a troca do meio de cultura e aos 30 e 60 dias avaliou-se o número de brotações alongadas e o comprimento total das mesmas por explante. Consideraram-se brotações alongadas as que apresentaram comprimento acima de 0,8 cm. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições e 4 explantes por repetição.

Em ambos os ensaios, o meio de cultura foi acrescido de 250mg L<sup>-1</sup> de PVP-40, 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6g L<sup>-1</sup> de ágar e pH 5,8. Adicionou-se o ágar após a correção do pH do meio nutritivo e então este foi autoclavado a temperatura de 121 °C (1,0 kgf cm<sup>-2</sup>) durante 20 minutos. Os explantes foram cultivados em sala de incubação com temperatura mantida entre 26°C (±2°C), fotoperíodo de 16 horas luz e luminosidade de 84µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Os dados foram submetidos a análise de variância e analisados por regressão polinomial, a 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na transferência do meio de cultura, aos 30 dias, o ponto correspondente a maior produção de gemas ficou em torno de 0,31 mg L<sup>-1</sup> de BAP produzindo 6,9 gemas por explante do clone H12, enquanto aos 60 dias, o ponto de maior produção de gemas foi de 0,30 mg L<sup>-1</sup> de BAP correspondendo a uma estimativa de produção de gemas axilares de 20,2 gemas por explante (Figura 1).

Concentrações de BAP acima de 0,75 mg L<sup>-1</sup> não resultaram em ganhos quanto a proliferação de gemas, sendo que na concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP ocorreu sintomas de hiperhidricidade seguido de oxidação dos explantes. Além disso, segundo ALFENAS et al. (2004) concentrações elevadas de BAP podem propiciar o acúmulo desse regulador de crescimento nos tecidos e prejudicar o posterior enraizamento das brotações.

Na fase de alongamento das brotações do clone H12, verifica-se que aos 60 dias obteve-se 3,8 brotos alongados por tufo na presença de 0,49 mg L<sup>-1</sup> de ANA (Figura 5A). Na concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA foi observado indução de calo, resultando em efeito negativo no alongamento das brotações. GRATTAPAGLIA e MACHADO (1998) afirmam que concentrações excessivas de auxina podem favorecer demasiadamente o enraizamento ou formação de calo.

Embora aos 60 dias o comprimento das brotações tenha sido maior do que aos 30 dias, não houve diferença entre as concentrações de ANA, sendo os valores médios compreendidos entre 2,4 e 1,1 cm por broto, respectivamente.

Cabe ressaltar que na determinação de um protocolo de micropropagação, os esforços devem ser concentrados na otimização do balanço de citocinina e auxina, a fim de produzir partes aéreas suficientemente alongadas para permitir a passagem direta para o enraizamento (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

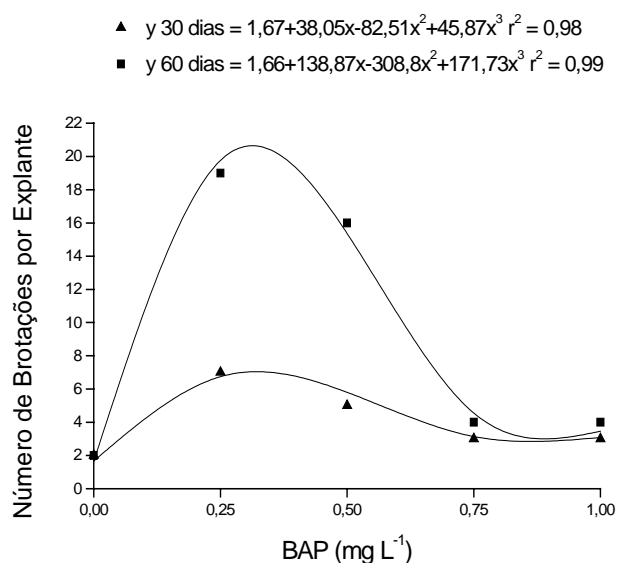


Figura 1 – Número médio de brotações por explante do clone H12 (*Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*) aos 30 e 60 dias após a inoculação em função dos tratamentos de BAP.

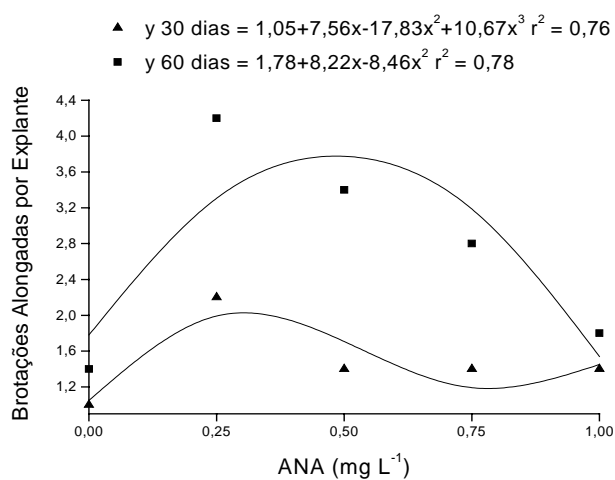


Figura 2 – Número médio de brotações alongadas por tufo, comprimento médio das brotações alongadas por tufo do clone H12 (*Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*) aos 30 e 60 dias após a inoculação em função dos tratamentos de ANA.

## CONCLUSÃO

A concentração de BAP que resultou em maior valor médio de proliferação de gemas axilares por explante do clone H12, tanto aos 30 (6,9 brotos) quanto aos 60 (20,2 brotos) dias após a inoculação, foi estimada em 0,30 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Em relação à fase de alongamento das brotações, a concentração de 0,49 mg L<sup>-1</sup> de ANA promoveu o maior número de brotações alongadas, cerca de 4 por explante, com comprimento médio de 2,4 cm aos 60 dias após a inoculação de explantes de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 442 p.

DEL PONTE, E. M.; MATTEI, V. L.; PETERS, J. A.; ASSIS, T. F. de. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus globulus* subsp. *globulus* Labill. **Revista Árvore**, v. 25, n. 1, p. 1-8, 2001.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI / EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 183-260.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. São Paulo: ESALQ - USP, 2000. 11 p. (**Circular Técnica-IPEF, 192**).

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

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; REIS, G. G. dos. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2003.

WATT, M. P.; BERJAK, P.; MAKHATHINI, A.; BLAKEWAY, F. *In vitro* field collection techniques for *Eucalyptus* micropropagation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 75, p. 233-240. 2003.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 20, n. 1, p. 9-16, 1996.

## PALAVRAS-CHAVE

Eucalipto; micropropagação; benzilaminopurina; ácido naftalenoacético; clonagem.



## **Organogênese *in vitro* do híbrido de orquídea *Brassavola flagellaris* x *Cattleya harrisoniana* a partir de segmentos internodais.**

Nascimento, Márcio Gil de Andrade<sup>1</sup>; Damasceno, Candice Ferreira de Brito<sup>1</sup>; Vicente, Maria Alice Argôlo<sup>2</sup>; Costa, Maria Angélica Pereira de Carvalho<sup>3</sup>; Almeida, Weliton Antonio Bastos de<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Caixa Postal 81, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-2002, email: marciogilandrade@yahoo.com.br; candicebrito@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB-BA), Bolsista CAPES, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-2002, email: aliceargola@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Professor Adjunto Dr<sup>o</sup>. do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB, Caixa Postal 81, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: mapcosta@ufba.br; weliton@ufba.br.

### **INTRODUÇÃO**

O híbrido de *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* possui beleza extraordinária e tem ótima aceitação comercial. Esse híbrido possui uma floração antecipada e necessita de menos luminosidade que o gênero *Brassavola*.

A maior parte dos experimentos de micropropagação de orquídeas utiliza o meristema apical ou o ápice caulinar da planta mãe ou dos novos brotos. A utilização de outros explantes surgiu no intuito de diversificar as opções, tendo em vista que o número de meristemas apicais em cada planta é limitado. Desta forma, outros tipos de explantes surgem como alternativas para superar essas limitações (FRÁGUAS et al., 1999).

A adição de reguladores vegetais no meio nutritivo tem como objetivo suprir as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes que são isolados da planta matriz, bem como estimular o alongamento ou multiplicação da parte aérea. Tombolato e Costa (1998) mostraram que as dificuldades de desenvolvimento de um protocolo adequado para cada espécie vegetal está relacionada com as fontes de explantes vegetais e os meios nutritivos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de multiplicação e responsividade de diferentes explantes não meristemáticos a diferentes concentrações de BAP e condições de luminosidade do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

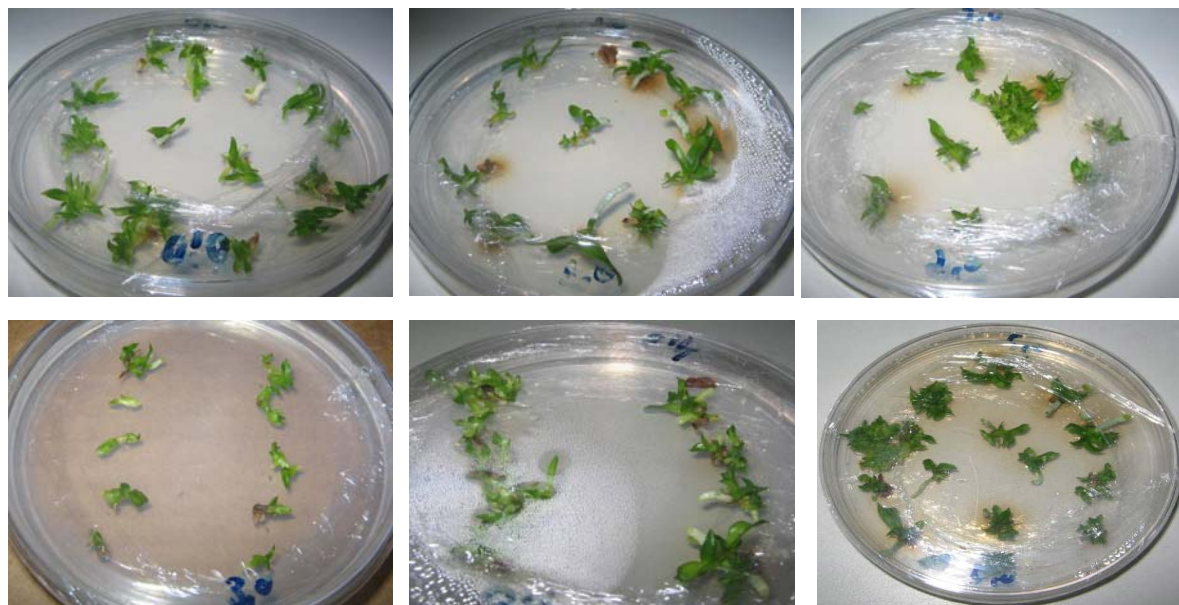
Para fonte de explantes foram utilizadas plantas do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* germinadas *in vitro*. Os explantes foram cultivados em placas de petri contendo 20 mL de meio de cultura MT (Murashige & Tucker, 1969), acrescidos de 25 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com agar (0,8%) e suplementado com concentrações de BAP. O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem a 127 °C durante 20 minutos.

Segmentos internodais com ± 1 cm de comprimento foram introduzidos em meio MT suplementado com BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 mg L<sup>-1</sup>) e cultivados em câmara de crescimento sob condições de temperatura de 27 ±2 °C, densidade de fluxo de fótons de 22 mE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e com fotoperíodo de 16 horas durante 60 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos, com 5 repetições, sendo cada repetição constituída de uma placa de Petri contendo 10 segmentos. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os segmentos internodais promoveram o surgimento de brotações adventícias em todos os tratamentos (Figura 1). O maior número de explantes responsivos (92%) e número de brotos (2,38) ocorreu no tratamento com 4,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, porém nenhum dos

tratamentos diferiu estatisticamente (Tabela 1). Apesar do número de brotos ter sido maior no tratamento com 4,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, o tratamento sem regulador de crescimento iniciou a emissão de brotações adventícias primeiramente e obteve um melhor crescimento das mesmas. Assim, para este híbrido de orquídea o nível endógeno de citocinina mostrou-se suficiente para a formação de brotações adventícias.



**Figura 1:** Brotações adventícias a partir de segmentos internodais do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* em diferentes concentrações de BAP. a) Testemunha (sem regulador vegetal); b) Brotações obtidas com 1,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; c) Brotações obtidas com 2,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; d) Brotações obtidas com 3,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; e) Brotações obtidas com 4,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; f) Brotações obtidas com 5,0 mgL<sup>-1</sup> BAP.

**Tabela 1.** Explantes responsivos e número de brotos/explantes do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* em função da concentração de BAP (mgL<sup>-1</sup>)

Concentração de BAP (mgL <sup>-1</sup> )	Explantes Responsivos (%)	Nº brotos/explante
0,0	74a	1,65a
1,0	72a	1,98a
2,0	72a	2,02a
3,0	84a	2,04a
4,0	92a	2,38a
5,0	70a	1,65a

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem significativamente no teste F a 5% de probabilidade.

Estes resultados concordam com os encontrados por (ARAÚJO, 2004) que, trabalhando com híbridos de orquídea *Bc* 'Pastoral' x *Lc* 'Amber Glow' obteve maior número de brotos (3,4) utilizando meio MS combinado com 4,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, no entanto não houve diferença significativa pelo teste F entre os tratamentos. Silva (2003), trabalhando com a mesma espécie, porém com meio Knudson C também não verificou diferença significativa no uso do BAP.

Avaliando a organogênese *in vitro* de segmentos de epicótilo de laranja 'Pêra' introduzidos em meio de cultura MT e suplementado com concentrações de BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mgL<sup>-1</sup>), verificou-se que na ausência do regulador se obteve a maior porcentagem de explantes responsivos, porém não diferiu estatisticamente dos tratamentos 1,0 e 2,0 mgL<sup>-1</sup> (MOURA et al., 2001). O efeito do BAP na organogênese *in vitro* de tangerina 'Cleópatra' foi prejudicial, já que foi observado que o maior percentual de explantes responsivos ocorreu na ausência de BAP em fotoperíodo de 16 horas e que com a adição do regulador reduzia a responsividade (SILVA et al., 2005).

Na micropropagação de gengibre utilizando como explantes gemas rizomatosas introduzidas em meio de cultura MS e combinações de BAP e/ou ANA, também verificou-se que o meio MS sem a adição de reguladores de crescimento proporcionou melhores resultados (DEBIASI et al., 2004).

Neste trabalho, pode se verificar que na concentração de 5,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP começou a ocorrer uma redução na resposta e provavelmente doses acima delas, irão continuar causando efeito inibitório. De acordo com Guevara (1987), existe uma concentração máxima para que se tenha uma resposta satisfatória no desenvolvimento de brotos, acima da qual há um efeito inibitório, provavelmente devido à fitotoxidez causada pelo regulador vegetal. Isto já foi comprovado em alguns trabalhos por (BIASI et al., 2000) com *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, (SILVA et al., 2005) com *Citrus reshni* Hort. ex Tan., dentre outros. Provavelmente, altos índices exógenos de BAP, interagindo com o nível endógeno de citocinina, tenham dificultado a desdiferenciação, bem como a determinação celular, influenciando negativamente na proliferação de gemas adventícias.

O uso do BAP também apresentou efeito inibitório na multiplicação de calos e no potencial organogênico da orquídea *Gongora quinquenervis* (MARTINI, 2001).

Utilizando segmentos internodais na organogênese *in vitro* de maracujá amarelo variando concentrações de BAP, (BIASI et al., 2000) verificaram que concentrações acima de 2,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP eram prejudiciais ao desenvolvimento das gemas.

Em alguns trabalhos de organogênese tem se verificado que a concentração ótima tem variado dentre outros fatores com a espécie, cultivar e explante utilizado e, conhecendo essa concentração, tem se averiguado que doses superiores causam diminuição na resposta organogenética.

## CONCLUSÃO

Os segmentos internodais são recomendáveis para a organogênese *in vitro* deste híbrido sem a adição do regulador de crescimento BAP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A. G. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídea**. 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2004.

BIASI, L. A. et al. Organogenesis from internodal segments of yellow passion fruit. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 661-665, 2000.

DEBIASI, C.; FELTRIN, F.; MICHELUZZI, F. C. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 10, n. 1, p. 61-65, jan.-mar., 2004.

FRÁGUAS, C. B. et al. **Propagação *in vitro* de espécies ornamentais**. Lavras: Editora UFLA, 1999. (Boletim técnico).

GUEVARA, E. B. Reguladores de crescimento. In: **II Curso de cultivo de tecidos**. [S.l.]: Turrialba, 1987. p. 58-79.

MARTINI, P. C. Propagação de *Gongora quinquenervis* via sementeira *in vitro* e organogênese indireta. **Revista ABCTP**, Recife, n. 40, p. 8, ago. 2001.

MOURA, T. L. de M. et al. Organogênese *in vitro* de cítrus em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.240-245, ago., 2001.

MURASHIGE, T.; TUCKER, D. P. H. Growth factor requirement of citrus tissue culture. In: INTERNACIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1, 1969, Riverside. **Proceedings** Riverside: University of California, 1969. v. 3, p. 1155-1169.

SILVA, E. F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassocattleya Pastoral* x *Laeliocattleya Amber Glow***. 2003. 60f. Dissertação (Mestrado em Fitotcna) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2003.

SILVA, R. P. et al. Otimização de protocolos para regeneração *in vitro* de tangerina 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort. Ex. Tan.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, dez. 2005.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: IAC, 1998. 72 p. (IAC. Boletim técnico, 174).

PALAVRAS-CHAVES

*Brassavola flagellaris*; *Cattleya harrisoniana*; Orquidaceae; cultivo *in vitro*; gemas adventícias.

# **<sup>1</sup>Efeito de concentrações de benzilaminopurina, formulação do meio de cultura e o período de subcultivo na produção de brotações adventícias no abacaxizeiro - ornamental.**

Santos, Maria do Desterro Mendes dos<sup>1</sup>; Torres, Antonio Carlos<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UNB), Caixa Postal 218, CEP 70919-970 Brasília, DF, fone (61) 3307-2828, email: [maria@cnph.embrapa.br](mailto:maria@cnph.embrapa.br); <sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Hortaliças, Br060 Km 09, caixa postal 218, CEP 70359-970, Brasília, DF, fone (61) 3385-9079, email: [torres@cnph.embrapa.br](mailto:torres@cnph.embrapa.br).

O abacaxizeiro-ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindl.) Coppens & Leal é uma planta monocotiledônea pertencente à família Bromeliaceae com grande potencial ornamental que vem sendo muito apreciado no mercado interno e externo de flores, onde seu cultivo movimenta uma economia significativa. No Estado do Ceará, a produção de abacaxizeiros ornamentais está, em torno, de 12.000 hastes florais por mês. O objetivo do trabalho foi o de avaliar a influência de BAP, formulação do meio e períodos de subcultivos na produção de propágulos do abacaxizeiro-ornamental visando a produção em larga escala de mudas uniformes com alta qualidade fitossanitária. A propagação foi estabelecida a partir de brotações produzidas *in vitro* subcultivadas a cada 30 dias, por um período de 120 dias. Os explantes consistiram de brotações com 2,0 cm de comprimento e foram inoculados em meio composto de sais minerais MS, suplementado com 3% de sacarose, e, em mg/L: mio-inositol, 100; tiamina.HCl, 0,1; ácido nicotínico, 0,5; piridoxina.HCl, 0,5 e glicina 2,0. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com os tratamentos dispostos no esquema fatorial 4X6X2, referentes a quatro subcultivos (30, 60, 90 e 120 dias), seis concentrações de BAP (0,0; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg/L) e duas formulações de meio (líquido e sólido), sendo o último solidificado com 0,2% de Phytigel. Foram utilizadas seis repetições por tratamento, sendo que cada parcela foi constituída de dois explante. Os frascos inoculados foram mantidos em intensidade luminosa de  $30\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 27°C. Os dados foram transformados raiz de X+1 e aplicados os testes estatísticos. Considerando-se o meio líquido, para os subcultivos de 30 e 60 dias houve um maior número de brotos 4,95 e 6,63, respectivamente, com a concentração de 1,2 mg/L. Enquanto que para os subcultivos de 90 e 120 dias observou-se o maior número de brotos, 8,35 e 12,98, respectivamente, com a concentração de 1,3 mg/L, utilizando-se concentrações superiores a essas ocorre uma redução do número de brotos. Para o meio sólido, observou-se um maior número de brotos (3,83) com a concentração de 1,5 mg/L para o subcultivo de 30 dias, enquanto que para o subcultivo de 60 dias o maior número de brotos (5,93) foi observado com a concentração de 1,3 mg/L. Já a concentração de 1,2 mg/L proporcionou o maior número de brotos, 7,64 e 10,71, respectivamente, para os subcultivos de 90 e 120 dias.

## **PALAVRAS-CHAVES**

*Ananas comosus* var. *bracteatus*; cultivo *in vitro*; subcultivo; micropropagação.

---

<sup>1</sup> Agradecemos ao CNPq as bolsas concedidas

## Indução de calos em explantes de *Neoregelia* sp. cultivados em diversos meios de cultura.

Mariane de Jesus da Silva<sup>1</sup>; Souza, Antônio da Silva<sup>2</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>3</sup>; Santos, Marta Taluana<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estagiária da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8072, email: [maryagronomia@hotmail.com](mailto:maryagronomia@hotmail.com), <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8072, email: [assouza@cnpmf.embrapa.br](mailto:assouza@cnpmf.embrapa.br), <sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br); <sup>4</sup>Mestranda da Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB), CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-2002, email: [taluanar@bol.com.br](mailto:taluanar@bol.com.br)

Assim como ocorre em outros gêneros da família Bromeliaceae, as espécies do gênero *Neoregelia* vêm sendo alvo de um intenso extrativismo em diversos ecossistemas brasileiros, refletindo na perda da biodiversidade e causando erosão genética. Apesar da maioria das bromélias se reproduzir normalmente via sementes, sua propagação pode ser feita também por mudas e, mais recentemente, mediante técnicas de cultura de tecidos, que podem contribuir mais rapidamente para a multiplicação e preservação da diversidade genética de suas diversas espécies. Dentro deste último enfoque, o objetivo do trabalho consistiu em identificar um meio de cultura mais apropriado para a indução de calos em explantes de *Neoregelia* sp., e assim facilitar o desenvolvimento de estratégias alternativas para sua propagação.

Os meios de cultura empregados foram o B5, CEF, EME, MS e WPM, com algumas modificações, nos quais foram inoculados explantes das partes apical e basal de folhas maduras, folhas novas completas e segmentos transversais do caule, com aproximadamente 0,5 a 1,0 cm de tamanho, extraídos de propágulos previamente cultivadas in vitro. Todos os materiais foram cultivados em ausência de luz e sob temperatura de 27±1°C, durante 35 dias. Após esse período, foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagens de explantes com crescimento, com calos compactos e com calos friáveis.

Verificou-se que houve uma forte influência do meio no cultivo in vitro da *Neoregelia* sp., destacando-se o CEF e o WPM em relação aos explantes que apresentaram crescimento. Dos explantes com crescimento, apenas nos segmentos de caule observou-se a formação de calos compactos, no meio CEF. Já calos friáveis foram observados nos demais tipos de explantes, quando cultivados nos meios CEF e o WPM.

Pôde-se concluir que os meios de cultura CEF e o WPM foram os mais adequados para a indução de calos compactos e friáveis em explantes de *Neoregelia* sp, recomendando-se a execução de outros estudos com vistas a induzir a formação de calos embriogênicos e posterior produção de embriões somáticos.

## PALAVRAS-CHAVES

Embriogênese somática; micropropagação; conservação.

**1Indução de embriogênese somática em abacaxizeiro-ornamental.**  
**Santos, Maria do Desterro Mendes dos<sup>1</sup>; Torres, Antonio Carlos**<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UNB), Caixa Postal 218, CEP 70919-970 Brasília, DF, fone (61) 3307-2828, email: [maria@cnph.embrapa.br](mailto:maria@cnph.embrapa.br); <sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Hortaliças, Br060 Km 09, caixa postal 218, CEP 70359-970, Brasília, DF, fone (61) 3385-9079, email: [torres@cnph.embrapa.br](mailto:torres@cnph.embrapa.br).

O abacaxizeiro-ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindl.) Coppens & Leal é uma planta com grande potencial ornamental cujo cultivo se encontra em ampla expansão, principalmente, no Estado do Ceará, onde a produção está, em torno, de 12.000 hastes florais por mês. O abacaxizeiro-ornamental é uma espécie de propagação vegetativa por meio de mudas originadas de brotações da planta matriz. Esse tipo de propagação conduz a transmissão e disseminação de doenças se a planta matriz estiver infectada. Há também dificuldades para a produção de mudas em grande quantidade. A embriogênese somática oferece o potencial para a multiplicação em larga escala de genótipos elites livres de doenças. O objetivo do trabalho foi induzir a embriogênese somática em explantes do abacaxizeiro-ornamental. Explantes de folhas e secções de caule foram inoculados no escuro em meio básico composto de sais minerais MS, suplementado com 3% de sacarose, 0,2% de Phytigel, e, em mg/L: mio-inositol, 100; tiamina.HCl, 0,1; ácido nicotínico, 0,5; piridoxina.HCl, 0,5; glicina 2,0; e TDZ, 0,05. A esse meio foram adicionadas concentrações de picloran (0; 1,0; 2,0; 3 e 5 mg/L). O delineamento foi inteiramente casualizado com 5 repetições. Cada repetição consistiu de uma placa de Petri com 10 explantes. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento, no escuro à temperatura de 27°C. Nódulos foram obtidos em todas as concentrações dos regulares de crescimento testadas, tanto em explantes foliares quanto caulinares. Alguns nódulos apresentaram formação de embriões somáticos. A transferência desses nódulos para meio contendo sais minerais MS, mistura orgânica de ~~Mite~~, 3% de sacarose, 0,2% de Phytigel e 0,5 mg/L de BAP, mantidos sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 32µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, induziu a produção de propágulos.

**PALAVRAS-CHAVES**

*Ananas comosus* var. *bracteatus*; cultivo *in vitro*; embriogênese adventícia; micropropagação.

---

<sup>1</sup> Agradecemos ao CNPq as bolsas concedidas



## Produção de mudas de *Etilingera elatior* através da cultura de tecidos vegetais *in vitro*.

Cristine Luciana de Souza Rescarolli<sup>1</sup>; Gilmar Roberto Zaffari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica de Ciências Biológicas – ênfase em Biotecnologia da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Itajaí, Santa Catarina . (47)3341-7949, e-mail: [cristine.bio@gmail.com](mailto:cristine.bio@gmail.com); <sup>2</sup> Pesquisador Responsável pelo Laboratório de Cultivo Celular, CTTMar, bloco 20, UNIVALI, Itajaí, Santa Catarina.(47)3341-7949, e-mail: [zaffari@univali.br](mailto:zaffari@univali.br)

### INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais pelo ser humano remonta à idade antiga. Sabe-se que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo seu uso na medicina popular do que em plantas escolhidas ao acaso. Cerca de 75% dos compostos puros naturais, empregados na indústria farmacêutica, foram isoladas, seguindo recomendações da medicina popular.(YUNES; CALIXTO, 2001). A espécie *Etilingera elatior*, popularmente conhecida como Bastão do Imperador, planta ornamental e medicinal, tem sido indicada segundo a medicina popular para o tratamento de dores musculares e reumatismo. Pertencente à família Zingiberaceae, possui ampla dispersão nos trópicos e subtropicais de todo mundo, principalmente no sudeste da Ásia (JOLY, 1998).

Um dos aspectos mais críticos na produção de plantas medicinais para a utilização terapêutica é, sem dúvida, a quantidade e a qualidade da matéria-prima vegetal. Vários fatores climáticos afetam diretamente a qualidade, a eficácia e a segurança do produto final. Para evitar tais problemas, e sobretudo, evitar o extrativismo descontrolado, as indústrias vêm atuando no sentido de aumentar a quantidade e melhorar a qualidade dessa matéria-prima através do cultivo de plantas medicinais em larga escala. Além de poder eliminar variações oriundas de fatores como o clima, nutrientes e luminosidade, a produção massal de plantas permite selecionar espécies com maior teor de princípios ativos, controlar pragas, ou ainda o que é fundamental, evitar a contaminação por metais pesados, inseticidas e outros fatores que podem influenciar na eficácia, qualidade e segurança clínica dos medicamentos fitoterápicos (SIANI, 2003).

A produção massal de plantas medicinais pode ser obtida através da micropropagação *in vitro*, método bastante eficiente quando se trata de produção de mudas em larga escala, fornecendo matéria-prima de alta qualidade genética e fitossanitária, em curto espaço de tempo. O presente trabalho objetivou avaliar a viabilidade do cultivo *in vitro* de *Etilingera elatior* visando à produção massal de mudas, como fonte de matéria-prima para utilização terapêutica.

### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no laboratório de cultivo celular vegetal, no Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, da Universidade do vale do Itajaí. Os materiais utilizados como explantes foram gemas laterais de *Etilingera elatior* provenientes de plantas matrizes em boas condições fitossanitárias, mantidas a campo, no banco de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) - Estação Experimental de Itajaí.

Os materiais utilizados como fonte de explante foram gemas laterais retiradas em forma de cubos com tamanho aproximado de 1 cm<sup>3</sup>. Após seccionados, os explantes foram imediatamente imersos em água destilada e submetidos à pré-desinfestação em bancada. As gemas laterais foram lavadas em água corrente com detergente neutro e água destilada sob agitação, imersos em solução desinfestante contendo Benlate (1 g.L<sup>-1</sup>) + Manzate (1,5 g.L<sup>-1</sup>) + Sulfato de Estreptomicina (200 mg.L<sup>-1</sup>), por 20 minutos, e posteriormente em CaClO 4% por 2 minutos. Após a pré-desinfestação foram realizados cinco tratamentos de desinfestação em câmara de fluxo laminar com Etanol 70% e CaClO 5%: TA01 - um minuto em Etanol 70% e 30 minutos em CaClO 5%; TA02 - 2 minutos em Etanol 70% e 25 minutos CaClO 5%; TA03 - 3 minutos em Etanol 70% e 20 minutos em CaClO 5%; TA04 - 4 minutos



em Etanol 70% e 15 minutos em CaClO 5% e TA05 - 5 minutos em Etanol 70% e 10 minutos em CaClO 5%. Os explantes que apresentaram contaminação após duas semanas de cultivo, foram submetidos à nova desinfestação, com imersão por 15 segundos em etanol 70%, 5 minutos em NaClO1% e 10 minutos em CaClO 2% e posteriormente foram inoculados em meio de cultura de MURASHIGE & SKOOG (1962) (MS) com 9 g.L<sup>-1</sup> de ágar e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, adicionado de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Após 100 dias de incubação, os explantes estabelecidos assepticamente foram utilizados nos experimentos das fases seguintes. Na fase de proliferação os explantes foram inoculados em meio sólido de MURASHIGE & SKOOG (1962), na presença da citocinina BAP (6-benzilaminopurina), TP01: MS + 0,5 mg.L<sup>-1</sup> BAP, TP02: MS + 1,0 mg.L<sup>-1</sup> BAP, TP03: MS + 2,0 mg.L<sup>-1</sup> BAP, TP04: MS + 4,0 mg.L<sup>-1</sup> BAP, com três repetições por tratamento e um explante por parcela, durante 40 dias. Para o enraizamento, os propágulos foram submetidas a três tratamentos em meio MS com 50% da concentração salina, na presença e na ausência da auxina AIB (Ácido Indol Butírico), TE01: MS 50%; TE02: MS 50% + 0,5 AIB; TE03: MS 50% + 1,0 AIB, sendo 4 repetições por tratamento e 1 explante por parcela, durante 20 dias. As culturas foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 28 ± 2°C, e fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 40 a 50 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Os dados obtidos nos diferentes ensaios foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sucesso na obtenção de explantes assépticos para o estabelecimento da cultura *in vitro* depende da eficiência da combinação dos agentes químicos, das concentrações e dos tempos de exposição em relação ao nível de contaminação dos tecidos. A exposição das gemas laterais de *Etilingera elatior* aos tratamentos de desinfestação resultou em níveis de contaminação que variaram de 25,00 a 66,67% e de 10,00 a 75,00% para bactérias e fungos, respectivamente (Tabela1). O aumento gradual do tempo de exposição dos explantes ao Etanol 70% (1, 2, 3 e 4 minutos) combinado com a diminuição gradual do tempo de exposição ao CaClO 5% (30, 25, 20 e 15 minutos), apresentou uma tendência de redução do nível de contaminação por bactérias, e um aumento da contaminação por fungos. Entretanto, a imersão dos explantes em Etanol 70% por 5 minutos, e CaClO 5% por 10 minutos (TA05) apresentou menor eficiência na eliminação de bactérias (60,00%) e um aumento na eficiência do controle de fungos (20,00%).

Tabela 1. Porcentagem de contaminação e sobrevivência das gemas laterais de *Etilingera elatior* submetidas à desinfestação, e inoculadas em meio Murashige & Skoog (1962) (MS), adicionado de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> Benzilaminopurina (BAP), após 100 dias de cultivo *in vitro*.

Tratamento	Número de observações	Contaminação (%)		Sobrevivência/ Morte (%)
		Bactéria	Fungo	
TA01 - etanol 70% 1min + CaClO 5% 30 min	15	66,67	13,33	20,00/0,00
TA02 - etanol 70% 2min + CaClO 5% 25 min	10	30,00	40,00	30,00/0,00
TA03 - etanol 70% 3min + CaClO 5% 20 min	13	38,46	30,77	30,77/0,00
TA04 - etanol 70% 4min + CaClO 5% 15 min	08	25,00	75,00	0,00/0,00

O tratamento de desinfestação de gemas contaminadas por bactérias, após duas semanas de cultivo *in vitro*, utilizando Etanol 70% por 15 segundos; NaClO 1% por 5 minutos e CaClO 2% por 10 minutos, também apresentou uma elevada taxa de contaminação por bactérias (50,00%). Entretanto, apesar do maior tempo de exposição dos tecidos aos agentes químicos, este tratamento apresentou a maior taxa de sobrevivência de culturas assépticas. A exposição das gemas ao etanol 70% e aos compostos a base de cloro, hipoclorito de sódio e de cálcio, promoveu elevada contaminação dos explantes por bactéria. Segundo GRATTAPAGLIA E MACHADO (1998) essas contaminações bacterianas são endógenas, e a destruição destes microrganismos se torna difícil e sério problema nas fases de multiplicação das culturas. Os percentuais de sobrevivência de explantes

assépticos obtidos nos tratamentos TA01, TA02 e TA03 apresentaram uma correlação positiva com o aumento do tempo de exposição ao etanol 70%. Entretanto, o aumento do tempo de exposição das gemas laterais de 3 para 4 e 5 minutos ao etanol 70% resultou em diminuição da sobrevivência de explantes assépticos.

A indução de brotos na fase de proliferação é estimulada pela diminuição da dominância apical, que pode ser induzida por dano mecânico na gema apical ou pelo controle químico com adição de citocininas ao meio de cultura. Entretanto, o cultivo de gemas laterais de *E. elatior* em meio MS adicionado de 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP não promoveu satisfatoriamente a indução de brotos (Tabela 2). Na maioria das plantas superiores, o crescimento da gema apical inibe o crescimento das gemas laterais, enquanto que a aplicação direta de citocininas estimula a divisão celular e o crescimento dessas gemas, suprimindo o efeito inibitório do ápice caulinar (TAIZ E ZEIGER, 2004). Provavelmente, a não indução do desenvolvimento das gemas laterais na espécie *E. elatior* se deve à alta dominância apical dos propágulos, e/ou a ineficiência dos níveis de citocinina presente no meio de cultura em alterar a relação auxinas/citocininas nos tecidos. A adição de fitorreguladores em culturas vegetais *in vitro* tem o objetivo principal de suprir as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes que se encontram isolados das regiões produtoras na planta-matriz (GEORGE, 1993). Entretanto, o tempo de permanência de apenas 20 dias na presença de citocinina pode não ter sido suficiente para a indução dos brotos. Segundo PERES (2002), a falta de ação do regulador de crescimento na morfogênese *in vitro* depende da sensibilidade e do metabolismo na célula, além do nível endógeno de outros reguladores.

Tabela 2. Valores médios do crescimento e do número de raízes e brotos na fase de proliferação de gemas laterais de *Etilingera elatior*, cultivadas em meio de cultura Murashige & Skoog (1962) (MS) adicionado das diferentes concentrações de Benzilaminopurina (BAP), após 20 dias de cultivo *in vitro* (N=3).

Tratamento	Crescimento dos Propágulos (cm)	Número de Raízes	Número de brotos
TP01 - MS + 0,5 BAP mg.L <sup>-1</sup>	0,53 a	0,00 a	0,00 a
TP02 -MS + 1,0 BAP mg.L <sup>-1</sup>	0,67 a	0,67 a	0,33 a
TP03 - MS + 2,0 BAP mg.L <sup>-1</sup>	0,40 a	0,33 a	0,33 a
TP04 - MS + 3,0 BAP mg.L <sup>-1</sup>	0,60 a	0,00 a	0,33 a

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A ação da citocinina BAP sobre o crescimento dos propágulos, não promoveu um efeito significativo mesmo com o aumento da concentração no meio de cultura. Apesar da citocinina estimular o crescimento da parte aérea, a obtenção de baixa resposta morfogênética no número de brotos e no crescimento dos propágulos pode ser devido à falta de ação do regulador de crescimento, uma vez que os propágulos apresentaram alta dominância apical.

O efeito inibitório da citocinina na indução de raízes pode ser observado nos tratamentos com maior concentração, o que corrobora com os resultados de que as citocininas são responsáveis pela inibição do crescimento e divisão celular das raízes *in vitro* (TAIZ E ZEIGER, 2004). Entretanto, apenas os explantes cultivados em meio MS adicionado de 1,0 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e que apresentaram brotação induziram a formação de raízes. Este fato pode estar relacionado à produção de auxina pela parte aérea da planta e dos brotos, pois o transporte basípeto do Ácido Indol Acético (AIA) é rápido e promove alteração no balanço endógeno auxina/citocinina.

A indução de raízes na fase *in vitro* ocorreu em todos os tratamentos. Entretanto, a rizogênese não promoveu diferenças significativas no crescimento das propágulos, no número de brotos e no comprimento das raízes (Tabela 3). A presença de brotações nesta

fase pode ser devido ao efeito residual da citocinina da fase de multiplicação, sabendo-se que o efeito da citocinina não se restringe a uma subcultura ou então devido à redução da dominância apical, realizada mecanicamente, na fase anterior.

Tabela 3. Efeito de diferentes concentrações de auxina (AIB) sobre o enraizamento de propágulos de *Etilingera elatior* em meio de cultura Murashige & Skoog (1962) com 50% da concentração salina, após 22 dias de cultivo *in vitro*. (N=4)

Tratamento	Crescimento dos Propágulos (cm)	Número de Brotos	Número de Raízes	Comprimento das Raízes (cm)	Morfologia das Raízes
TE01 - MS 50%	2,25 a	0,00 a	2,75 ab	4,21 a	Finas com ramificações
TE02 - MS 50% + 0,5 AIB mg.L <sup>-1</sup>	2,15 a	0,50 a	4,00 a	2,52 a	Finas com ramificações
TE03 - MS 50% + 1,0 AIB mg.L <sup>-1</sup>	3,05 a	1,25 a	1,50 b	3,00 a	Grossas sem ramificações

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

O cultivo dos propágulos de *Etilingera elatior* em meio MS com 50% dos sais, adicionado de 0,5 mg.L de AIB induziu o maior número de raízes, diferindo significativamente do tratamento com o dobro da concentração de auxina. Várias espécies enraízam na presença de níveis muito baixos, ou mesmo, na ausência de auxina no meio de cultura (ANDERSON, 1984). No presente trabalho, os propágulos apresentaram resposta morfogênica positiva na indução de raízes quando da utilização de diluição na formulação do meio e da adição de baixas concentrações de auxina. De acordo com GRATTAPAGLIA E MACHADO (1998), mesmo na presença de auxinas, altas concentrações de sais tendem a inibir as fases do enraizamento, particularmente a de crescimento das raízes, aonde as diluições das formulações básicas dos meios de cultura têm possibilitado melhor enraizamento.

As diferentes morfologias das raízes obtidas parecem estar relacionadas à concentração de auxina (AIB) presente no meio de cultura. Os tratamentos que apresentam baixa concentração (0,5 mg.L<sup>-1</sup>) ou ausência de AIB induziram raízes finas com ramificações. Entretanto, a adição de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB ao meio de cultura promoveu a indução de raízes grossas sem ramificações. ZIMMERMAN (1984) afirma que a melhor concentração de auxina é a mínima necessária para proporcionar uma iniciação radicular satisfatória desde que esta possibilite o maior crescimento e desenvolvimento das raízes sem a formação de calo. No entanto, mesmo em menores concentrações a presença de auxina durante todo o período de enraizamento pode tornar-se prejudicial ao desenvolvimento das mesmas. Possivelmente, isto pode explicar a alteração morfológica das raízes, de finas com ramificações para grossas sem ramificações no presente trabalho.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que é possível o cultivo *in vitro* de *Etilingera elatior* visando à produção massal de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária, como fonte de matéria-prima para utilização terapêutica. Considerando-se que o processo de produção de mudas *in vitro* deve ser economicamente viável, há necessidade de mais estudos visando aumentar a taxa de multiplicação dos explantes, pois a espécie apresenta elevada dominância apical.

**Palavras chave:** Micropropagação; Planta medicinal; Bastão do Imperador

**Agradecimentos:** Os autores agradecem a UNIVALI pelo financiamento da pesquisa e ao Governo de Estado de Santa Catarina pela concessão da Bolsa de Pesquisa do Artigo 170.

### Referências Bibliográficas

- ANDERSON, W. C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of Rhododendron. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 109, p.343-347, 1984.
- BUTTERFLY PAVILION: **Horticulture**. Westminster. Disponível em: <<http://www.butterflies.org/hortcltr3.cfm?plantID=69>> Acesso em: 16 de fevereiro de 2006.
- DEBERGH, P.C.; MAENE, I.J., A scheme for the commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, n.14, p.335 – 345, 1981.
- GEORGE, E. F. **Plant Propagation by tissue culture. Part 1. The technology**. 2 ed., Edington: Exegetics, 1993. 732 p.
- GRATTAPAGLIA, D. MACHADO, M.A., **Micropropagação**. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Embrapa. Serviço de Produção de Informação, 1998.
- JOLY, A.B., **Botânica: uma introdução à taxonomia vegetal**, 12.ed. São Paulo: Nacional, 1998.
- KHOSH-KHUI, M.; SINK, K.C., Micropropagation of new and old world rose species. **Journal Horticultural Science**, n. 57, p. 35 -319. 1982a.
- LESHEN,B.; WERKER, E.; SHALEV, D.P., The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, v.62, p.271-276, 1988. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Embrapa. Serviço de Produção de Informação, 1998.
- MARTINEZ, E.A.; TIZIO, R.,Grapevine micropropagation through shoot tips and minicuttings from in vitro one mode cuttings. **HortScience**, n.24, p. 513. 1989.
- PERES, L.E.P. As bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*: um conhecimento útil para o desenvolvimento de protocolos biotecnológicos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.25, p.44-48, 2002.
- SIANI, A.C.; et al., **Desenvolvimento Tecnológico de Fitoterápicos: Plataforma Metodológica**. Rio de Janeiro: Scriptorio Comunicação, 2003.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B., **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: Métodos de estudo**. Chapecó.:Argos, Editora Universitária UNOESC, 2001.
- ZIMMERMAN, R. H. Apple. In: SHARP, W.R.; EVANS, D.A. AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. eds. **Handbook of plant cell culture: crop species**. New York. Macmillan, 1984. p. 369-395.

## Anatomia foliar comparada de seis espécies de anonáceas cultivadas *in vitro* e em casa de vegetação.

Lenaldo Muniz de Oliveira<sup>1</sup>; José Raniera Ferreira de Santana<sup>1</sup>; Flávia Dionísio Pereira<sup>1</sup>; Renato Paiva<sup>2</sup>; Rodrigo Kelson Silva Resende<sup>2</sup>; Evaristo Mauro de Castro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana, DCBIO, Campus universitário, km 03, Br 116, CEP 44031-460, Feira de Santana-BA, Brasil, Tel. (75) 3625 2300, [lenaldo@uefs.br](mailto:lenaldo@uefs.br); [raniera@uefs.br](mailto:raniera@uefs.br), [flavia1808@hotmail.com](mailto:flavia1808@hotmail.com);<sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras, DBI, Cx. P. 37, CEP 37200-000, Lavras-MG, Brasil, Tel. (35) 3829 1367, [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br), [rkelsonsr@yahoo.com.br](mailto:rkelsonsr@yahoo.com.br), [emcastro@ufla.br](mailto:emcastro@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A família *Annonaceae* é composta por 132 gêneros e cerca de 2.300 espécies, sendo a maioria encontrada ainda em estado silvestre. Nessa família muitas espécies são bastante promissoras, com grande potencial frutífero e medicinal. Contudo, a inserção dessas espécies em cultivos comerciais ou até mesmo sua utilização na recomposição de áreas degradadas tem sido limitada pela dificuldade de obtenção de mudas sadias e em grandes quantidades, devido à presença de dormência embrionária ou tegumentar de suas sementes e também pela dificuldade para propagação por via vegetativa, em virtude da falta de porta-enxertos compatíveis e do acúmulo de diversos tipos de vírus.

Nesse contexto, a propagação clonal, via cultivo *in vitro*, representa uma alternativa viável para multiplicação de anonáceas (Lemos e Blake, 1996; Nagori & Purohit, 2004), possibilitando a produção de grande número de plantas, com grande uniformidade e em curto espaço de tempo. Entretanto, a alta mortalidade de plantas durante a transição do ambiente *in vitro* para o *ex vitro*, em consequência de desordens anatômicas, morfológicas e fisiológicas no nível de células, tecidos e órgãos tem criado obstáculos para o uso dessa técnica na propagação de anonáceas (Rasai et al., 1995).

Essas desordens são consequências da alta umidade relativa dentro dos recipientes de cultivo, do baixo nível de irradiância nas salas de crescimento e altos níveis de reguladores de crescimento e sacarose no meio de cultivo (Majada et al., 2000). Diversas alterações na estrutura da folha de plantas mantidas *in vitro* têm sido reportadas, como o aumento no tamanho e densidade estomática (Hazarika, 2006), reduzido controle estomático (Khan et al., 2003), redução na quantidade de cera epicuticular (Pospíšilová et al., 1999) e reduzida espessura e diferenciação do mesofilo das folhas, com alta proporção de espaços intercelulares (Hazarika, 2006). Contudo, a intensidade dessas alterações é bastante variável em função da plasticidade adaptativa de cada espécie e sua quantificação é essencial para otimização das condições de cultivo para cada tipo de planta.

Assim, o objetivo desse trabalho foi quantificar as alterações nos estômatos e tecidos foliares de seis espécies de anonáceas, comparando-se plantas cultivadas *in vitro* e em casa de vegetação.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plantas mantidas em casa de vegetação sob radiação fotossintética ativa de  $150\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura ambiente das espécies *Annona glabra* L., *Annona cauliflora* Mart., *Annona coriacea* Mart., *Annona bahiensis* St.Hill., *Annona squamosa* L. e *Rollinia silvatica* St. Hill. foram utilizadas para condução desse trabalho. Segmentos nodais com 1,0cm de comprimento foram lavados com água e detergente neutro e imersos em álcool 70% por 1 minuto e hipoclorito de sódio 1% por 15 minutos, sendo inoculados em meio WPM, solidificado com 0,7% de ágar e suplementado com 3% de sacarose,  $8,87\mu\text{M}$  de BAP e  $250\text{mg L}^{-1}$  de benomyl. O ambiente na sala de crescimento foi mantido na temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , com fotoperíodo de 16 horas e radiação fotossintética ativa de  $45\text{-}56\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Após 60 dias de cultivo *in vitro* coletaram-se folhas completamente expandidas para análises anatômicas. Estas foram fixadas em FAA 70% (Formaldeído - ácido acético glacial - álcool etílico 70%) por 72 horas e conservados em álcool etílico 70°GL. As seções transversais foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50%, lavadas em água destilada, coradas com azul de astra e safranina e montadas em glicerina 50%, quantificando-se a espessura da epiderme adaxial, parênquima paliçádico, parênquima esponjoso e epiderme abaxial com auxílio de uma ocular micrométrica acoplada em microscópio de luz. Foram avaliadas cinco folhas oriundas de cinco brotações diferentes.

As lâminas com seções paradérmicas foram obtidas à mão livre e montadas com solução corante de safranina 1% em água glicerinada, quantificando-se a densidade e índice estomático, o diâmetro polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos e a relação entre os diâmetros polar e equatorial dos estômatos (DP/DE). A contagem do número de estômatos foi realizada com o auxílio de uma câmara clara em microscópio OLYMPUS CBB e o cálculo do índice estomático (IE) foi realizado por meio da fórmula de Cutter (1986). Foram avaliadas quatro folhas oriundas de quatro brotações diferentes, quantificando-se quatro campos do terço mediano de cada folha.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 6 (tipo de cultivo x espécies). Na análise estatística utilizou-se o programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*A. coriacea* apresentou a menor plasticidade adaptativa ao cultivo *in vitro*, quanto à densidade estomática, índice estomático, diâmetro polar e equatorial dos estômatos (Tabela 1). Por outro lado, *A. bahiensis*, *A. glabra*, *A. squamosa* e *R. silvatica* apresentaram grande variação na densidade estomática, sendo significativamente maior nas plantas cultivadas *in vitro*. *A. bahiensis* foi à espécie mais afetada em relação à densidade estomática. O aumento na densidade estomática nas folhas das plantas cultivadas *in vitro*, comparado às folhas de plantas mantidas em casa de vegetação tem sido reportado em diversas espécies, estando associado, principalmente, à elevada umidade relativa no interior dos recipientes de cultivo (Khan et al., 2003).

*A. bahiensis*, *A. cauliflora*, *A. glabra* e *A. squamosa* demonstraram maior susceptibilidade a alterações estomáticas durante o cultivo *in vitro*, apresentando estômatos com menor diâmetro polar e menor relação entre o diâmetro polar e o diâmetro equatorial, tornando-os mais esféricos. O aumento na densidade estomática e na forma dos estômatos, com tendência a formas mais esféricas, sobretudo nas espécies *A. bahiensis*, *A. glabra*, *A. squamosa* e *R. silvatica* poderá afetar o potencial de perda de água das plantas durante sua transferência do ambiente *in vitro* para o ambiente natural. Segundo Khan et al. (2003), alterações na forma dos estômatos afeta diretamente a funcionalidade dos mesmos, sendo que a forma mais elíptica é característica de estômatos funcionais, enquanto que formas mais arredondadas é, frequentemente, associado a estômatos com baixa funcionalidade.

A condição *in vitro* afetou também a espessura dos tecidos foliares, principalmente a espessura das epidermes adaxial e abaxial (Tabela 2), sendo que praticamente todas as espécies estudadas apresentaram redução na espessura desses tecidos. Decetti (2004), trabalhando com níveis de irradiância durante o cultivo *in vitro* de *A. glabra*, verificou que a espessura da epiderme adaxial era o principal tecido afetado por níveis baixos de irradiância. *A. squamosa* apresentou a menor espessura da epiderme adaxial e abaxial e do parênquima paliçádico e esponjoso. Contudo, mesmo entre as plantas mantidas em casa de vegetação, essa espécie apresentou menor espessura nesses tecidos, demonstrando ser uma característica típica da própria espécie. Contrariamente, *A. cauliflora*, *A. glabra* e *R. silvatica* demonstraram maior plasticidade adaptativa à condição *in vitro*, expressando maior espessura da epiderme adaxial, abaxial e parênquima esponjoso. *A. cauliflora* e *A. glabra* apresentaram ainda maior espessura do parênquima paliçádico.

A capacidade de alterar a estrutura da folha em resposta ao tipo de ambiente, principalmente a condições de baixo nível de irradiância, tem sido comumente observada

em diversas espécies (Dimassi-Theriou & Basabalidis, 1997). Segundo Araus et al. (1986), alterações na espessura e diferenciação do mesofilo, sobretudo na proporção de espaços intercelulares, apresentam alta correlação com o potencial fotossintético das plantas e, para Chenevard et al. (1997), a reduzida capacidade fotossintética das plantas mantidas *in vitro* é um dos fatores que limitam a sobrevivência das plantas durante a fase de aclimatização à condição *ex vitro*.

Tabela 1 Densidade estomática, índice estomático, diâmetro equatorial dos estômatos (DE), diâmetro polar dos estômatos (DP) e relação DP/DE em folhas de *A. bahiensis*, *A. cauliflora*, *A. coriaceae*, *A. glabra*, *A. squamosa* e *R. silvatica* cultivadas *in vitro* e em casa de vegetação (*ex vitro*).

Espécie	Tipo de cultivo	
	<i>Ex vitro</i>	<i>In vitro</i>
	Densidade estomática*	
<i>Annona bahiensis</i>	165,76 aB	440,30 aA
<i>Annona cauliflora</i>	187,56 aA	185,00 bA
<i>Annona coriaceae</i>	101,38 bA	101,34 cA
<i>Annona glabra</i>	168,68 aB	216,82 bA
<i>Annona squamosa</i>	111,00 bB	187,96 bA
<i>Rolinia silvatica</i>	96,96 bB	233,82 bA
	Índice estomático*	
<i>Annona bahiensis</i>	18,72 bA	20,62 bA
<i>Annona cauliflora</i>	24,14 aA	18,42 bB
<i>Annona coriaceae</i>	19,42 bA	19,42 bA
<i>Annona glabra</i>	20,20 bB	28,50 aA
<i>Annona squamosa</i>	17,68 bA	19,68 bA
<i>Rolinia silvatica</i>	10,28 cB	14,10 cA
	Diâmetro polar – DP ( $\mu\text{m}$ )*	
<i>Annona bahiensis</i>	36,18 bA	31,62 bcB
<i>Annona cauliflora</i>	33,78 bA	30,04 cB
<i>Annona coriaceae</i>	44,18 aA	43,58 aA
<i>Annona glabra</i>	36,68 bA	33,88 bB
<i>Annona squamosa</i>	37,20 bA	31,28 bcB
<i>Rolinia silvatica</i>	29,60 cA	28,98 cA
	Diâmetro equatorial – DE ( $\mu\text{m}$ )*	
<i>Annona bahiensis</i>	17,86 bB	20,40 bA
<i>Annona cauliflora</i>	16,26 bcA	18,70 bA
<i>Annona coriaceae</i>	22,84 aA	23,02 aA
<i>Annona glabra</i>	16,04 cA	16,82 cA
<i>Annona squamosa</i>	17,44 bcB	22,62 aA
<i>Rolinia silvatica</i>	13,94 dB	16,50 cA
	Relação DP/DE*	
<i>Annona bahiensis</i>	2,02 bcA	1,54 cdB
<i>Annona cauliflora</i>	2,08 abcA	1,59 cdB
<i>Annona coriaceae</i>	1,89 cA	1,89 abA
<i>Annona glabra</i>	2,28 aA	2,02 aB
<i>Annona squamosa</i>	2,13 abA	1,38 dB
<i>Rolinia silvatica</i>	2,12 abA	1,75 bcB

\*As médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas em cada coluna e maiúsculas em cada linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2 Espessura de epiderme adaxial, parênquima paliçádico, parênquima esponjoso e epiderme abaxial de folhas de *A. bahiensis*, *A. cauliflora*, *A. coriaceae*, *A. glabra*, *A. squamosa* e *R. silvatica* cultivadas *in vitro* e em casa de vegetação (*ex vitro*).

Espécie	Tipo de cultivo	
	<i>Ex vitro</i>	<i>In vitro</i>
	Epiderme adaxial ( $\mu\text{m}$ )*	
<i>Annona bahiensis</i>	33,17 c <sup>z</sup> A <sup>y</sup>	21,84 bB
<i>Annona cauliflora</i>	40,95 bA	26,11 abB
<i>Annona coriaceae</i>	62,40 a	-
<i>Annona glabra</i>	43,15 bA	25,44 abB
<i>Annona squamosa</i>	20,87 eA	15,44 cB
<i>Rolinia silvatica</i>	28,27 dA	28,02 aA
	Parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ )*	
<i>Annona bahiensis</i>	36,50 dA	34,40 bA
<i>Annona cauliflora</i>	74,75 bA	37,20 abB
<i>Annona coriaceae</i>	87,65 a	-
<i>Annona glabra</i>	48,07 cA	40,32 aB
<i>Annona squamosa</i>	17,72 eB	24,56 cA
<i>Rolinia silvatica</i>	46,00 cA	33,27 bA
	Parênquima esponjoso ( $\mu\text{m}$ )*	
<i>Annona bahiensis</i>	78,42 bA	77,28 bA
<i>Annona cauliflora</i>	144,82 aA	96,72 aB
<i>Annona coriaceae</i>	141,90 a	-
<i>Annona glabra</i>	91,15 bA	82,71 abA
<i>Annona squamosa</i>	34,75 dA	26,16 cA
<i>Rolinia silvatica</i>	58,07 cB	90,24 abA
	Epiderme abaxial ( $\mu\text{m}$ )*	
<i>Annona bahiensis</i>	23,82 cA	17,60 abB
<i>Annona cauliflora</i>	33,72 bA	16,51 abB
<i>Annona coriaceae</i>	46,22 a	-
<i>Annona glabra</i>	25,27 cA	20,06 aB
<i>Annona squamosa</i>	17,42 dA	13,52 bB
<i>Rolinia silvatica</i>	26,02 cA	17,89 aB

\*As médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas em cada coluna e maiúsculas em cada linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Diante da grande variação nos parâmetros avaliados nas diferentes espécies de anonáceas estudadas nesse trabalho, verifica-se a necessidade de estudos mais detalhados sobre as condições de cultivo *in vitro* para cada espécie, sobretudo em relação ao nível de irradiância a ser utilizado, buscando-se uma redução na intensidade das alterações anatômicas e, conseqüentemente, elevação das taxas de sobrevivência das plantas obtidas.

## CONCLUSÕES

O cultivo *in vitro* aumenta a densidade estomática e modifica o diâmetro e a forma dos estômatos de anonáceas, sendo as espécies *A. bahiensis*, *A. glabra*, *A. squamosa* e *R. silvatica* as mais susceptíveis. O ambiente *in vitro* reduz indistintamente a espessura das epidermes adaxial e abaxial de anonáceas. Existe grande variabilidade nas respostas adaptativas das espécies estudadas em relação ao cultivo *in vitro*.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUS, J. L.; ALEGRE, L.; TAPIA, L.; CALAFELL, R.; SERRET, M. D. Relationships between photosynthetic capacity and leaf structure in several shade plants. **American Journal of Botany**, Stanford, v. 73, n. 12, p. 1760-1770, Dec. 1986.
- CHENEVAR, D.; FROSSARD, J. S.; ALLEMAND, C. J. Carbohydrate reserves and CO<sub>2</sub> balance of hybrid walnut (*Juglans nigra* no. 23 x *juglans regia*) plantlets during acclimatization. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.68, p.207-217, 1997.
- CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**. 2. ed. São Paulo: Ed. Roca, 1986. 304 p.
- DECETTI, S. F. C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DIMASSI-THERIOU, K.; BOSABALIDIS, A. M. Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation in Kiwifruit cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 47, p. 127-134, 1997.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3 – Sistema de análises estatísticas**. Lavras, 1999.
- HAZARIKA, B. N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v.108, p.105–120. 2006.
- KHAN, S. V. et al. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, v.46, n.2, p.161-166, 2003.
- LEMONS, E. E. P.; BLAKE, J. Micropropagation of juvenile and mature *Annona muricata* L. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 71, n. 3, p. 395-403, 1996.
- MAJADA, J.P.; TADEO, F.; FAL, M.A.; TAMÉS-SÁNCHEZ, R. Impact of cultured vessel ventilation on the anatomy and morphology of micropropagated carnation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.63, p.207-214, 2000.
- NAGORI, R.; PUROHIT, S. D. *In vitro* plantlet regeneration in *Annona squamosa* L. through direct shoot bud differentiation on hypocotyl segments. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 99, n. 1, p. 89-98, Jan. 2004.
- POSPÍŠILOVÁ, J.; TICHÁ, I.; KADLEČEK, P.; HASEL, D.; PLZÁKOVÁ, S. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. **Biologia Plantarum**, v.42, n.4, p.481-497, 1999.
- RASSAI, S.; GEORGE, A. P.; KANTHARAJAH, A. S. Tissue culture of *Annona* spp. (Cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.62, p.1-14, 1995.
- PALAVRAS-CHAVE: *Annonaceae*, *in vitro*, desordens anatômicas, estômatos.

## Avaliação da capacidade morfogenética *in vitro* de diferentes genótipos de uma progênie de abacaxizeiro

Santos, Marta Taluana<sup>1</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>2</sup>; Ledo, Carlos Alberto da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda da Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB), CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-2002, email: [taluanar@bol.com.br](mailto:taluanar@bol.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Fone (75) 3621-8061, email: [ledo@cnpmf.embrapa.br](mailto:ledo@cnpmf.embrapa.br).

### INTRODUÇÃO:

Inúmeros fatores podem estar direta ou indiretamente envolvidos com o sucesso da morfogênese *in vitro*, podendo-se citar como exemplos, as características da planta mãe, o tipo de explante, o balanço de fitorreguladores, as condições ambientais nas quais se dá o cultivo, assim como fatores genéticos, entre outros. A variabilidade na resposta morfogenética *in vitro* existe tanto entre espécies do mesmo gênero como também entre genótipos da mesma espécie, tornando-se necessário a definição de protocolos diferenciados.

Programas de melhoramento genético do abacaxizeiro são demorados e complexos devidos a vários fatores, dentre eles a utilização de métodos convencionais para a propagação vegetativa. Nesse contexto, a cultura de tecidos, quando integrada a um programa de melhoramento, torna-se um instrumento valioso, tanto na conservação de germoplasma quanto na propagação vegetativa *in vitro* para clonagem rápida de genótipos superiores, disponibilizando maior quantidade de mudas livres de vírus em curto período de tempo (Teixeira et al, 2001; Firoozabady & Gutterson, 2003; Souza et al, 2006).

De acordo com Koornneef et al. (1993), o componente genético associado com a regeneração determina a manutenção da competência morfogenética, e não somente a sensibilidade do tecido a reguladores de crescimento incorporados ao meio de cultura.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade morfogenética *in vitro* de genótipos de abacaxizeiro pertencentes a uma mesma progênie, resultado do cruzamento entre Ananas São Bento x Primavera (*Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *comosus*).

### MATERIAL E MÉTODOS:

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**. Como material vegetal utilizou-se plantas de uma progênie oriunda do cruzamento entre Ananas São Bento x Primavera, pertencentes às variedades botânicas, *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *comosus*, respectivamente.

Foram selecionadas no campo quinze plantas dessa progênie, tendo-se inicialmente medido em cada planta, as seguintes variáveis com auxílio de uma régua graduada e um paquímetro: comprimento e diâmetros da base, do meio e do ápice do caule, assim como o número de gemas que seriam utilizadas como explante para o cultivo *in vitro*. As plantas foram levadas ao laboratório para retirada das folhas, lavagem e extração das gemas individualmente, que foram igualmente medidas, atribuindo-se valores (extremamente pequena, 2 = muito pequena, 3 = pequena, 4 = média, 5 = grande, 6 = muito grande) e levadas ao procedimento de desinfestação.

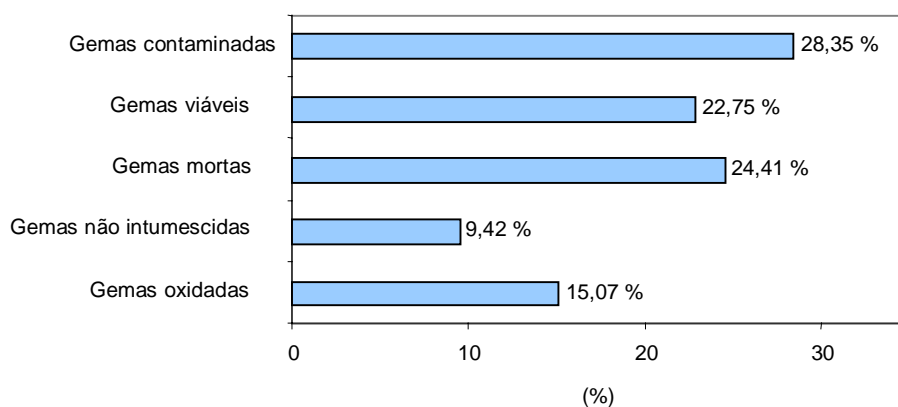
Realizado todo o procedimento de desinfestação, as gemas foram introduzidas no meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 0,01 mg. L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, acrescido de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado com 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar, sendo o pH ajustado para 5,8. Em seguida foram transferidas para sala de crescimento com intensidade luminosa de 22 μEm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, temperatura de 27°C e fotoperíodo de 16 horas.

Avaliou-se nas primeiras semanas as taxas de contaminações fúngicas e/ou bacterianas, a oxidação e o intumescimento dos explantes (gemas). O meio de cultivo usado para estabelecimento foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) sem qualquer regulador de crescimento. Após três meses foram transferidas para meio de multiplicação fresco MS contendo 2 mg. L<sup>-1</sup> de BAP, e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g L<sup>-1</sup> ágar, o pH ajustado para 5,8. As condições de incubação em sala de crescimento foram as seguintes: intensidade luminosa de 22  $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ , temperatura de 27°C e fotoperíodo de 16 horas. O primeiro subcultivo foi realizado 60 dias após a inoculação nesse meio, quando se procedeu a contagem de brotos/gema e número de folhas.

Foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson entre as seguintes as variáveis obtidas das plantas no campo: comprimento, diâmetros da base, do meio e do ápice do caule, e das variáveis medidas *in vitro*: tamanho médio da gema, número médio de folhas, número de brotos do primeiro subcultivo e número de brotos do segundo subcultivo. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (SAS, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Na Figura 1 são apresentados as porcentagens de gemas contaminadas, gemas viáveis, gemas mortas, gemas não intumescidas e gemas oxidadas. De maneira geral, 28,35% das gemas retiradas apresentaram contaminação por fungos e/ou bactérias. A contaminação fúngica se dá principalmente pelo manuseio inadequado dos explantes e aumenta, muitas vezes devido às condições sanitárias do material de partida no campo, dificultando o procedimento de desinfestação. A não realização de nenhum tipo de tratamento antifúngico nas mudas pode ter contribuído para esse resultado. Já a contaminação por bactéria foi provavelmente causada por bactérias endofíticas, de ocorrência muito comum em materiais silvestres. Enquanto alguns genótipos não apresentaram contaminação, outros chegaram a apresentar até 89,47% de contaminação. Em torno de 22,75% das gemas foram viáveis, 9,42% não intumesceram e 15,07% apresentaram elevada oxidação impedindo seu desenvolvimento. A porcentagem de gemas mortas foi de 24,41%.



**Figura 1.** Porcentagens de gemas contaminadas, gemas viáveis, gemas mortas, gemas não intumescidas e gemas oxidadas oriundos de 15 genótipos de abacaxizeiro oriundos do cruzamento entre Ananás São Bento x Primavera.

Na Tabela 1 são apresentadas as estatísticas descritivas das variáveis avaliadas, que evidenciam uma diferença marcante entre os genótipos da progênie a ser usada para o experimento. O comprimento do caule entre as plantas variou de 6,30 a 23,00 cm, enquanto os diâmetros variaram de 3,5 a 7,50 cm, a 3,00 a 6,50 cm e 1,50 a 5,00 cm, respectivamente nas partes basal, mediana e apical. O número de gemas retirado em cada planta variou

conforme o diâmetro e comprimento do caule, situando-se entre 10 a 30 gemas retiradas. O número de gemas viáveis por planta foi a variável que apresentou o maior coeficiente de variação, 85,95%, indicando grande amplitude de valores, que variaram de 0 a 10 gemas. O tamanho da gema é sem dúvida uma das variáveis mais importantes a ser considerada para a morfogênese *in vitro*, influenciando, principalmente nas taxas de multiplicação. Nesse trabalho, as gemas retiradas variaram de 1,86 a 5,33. Esse tipo de informação é importante para se ter o detalhamento do material de partida a ser usado no experimento e possibilitar posteriormente a análise de correlação a fim de não comprometer a interpretação dos resultados obtidos no que se refere à capacidade morfogenética das plantas. Com relação ao número de brotos obtidos no 1º e 2º subcultivos, os valores variaram de 1,71 a 38 e 2,57 a 64 brotos, respectivamente. Os valores altos do CV, 120,43% e 133,03%, respectivamente para o 1º e 2º subcultivos, indicam a alta variabilidade do número de brotos entre plantas do mesmo cruzamento.

**Tabela 1.** Estatísticas descritivas da resposta morfogenética de 15 genótipos de abacaxizeiro oriundos do cruzamento entre Ananás São Bento x Primavera.

Variáveis aferidas nas plantas em campo	Média	Desvio Padrão	CV (%)	Mínimo	Máximo
Comprimento do caule (cm)	12,42	4,46	35,91	6,30	23,00
Diâmetro da base do caule (cm)	4,65	1,03	22,15	3,50	7,50
Diâmetro do meio do caule (cm)	4,43	0,88	19,86	3,00	6,50
Diâmetro do ápice do caule (cm)	2,69	0,84	31,23	1,50	5,00
Número de gemas por planta	18,20	5,24	28,79	10,00	30,00
Tamanho médio da gema <sup>1</sup>	3,80	1,01	26,58	1,86	5,33
Variáveis aferidas na etapa de cultivo <i>In vitro</i>					
Número de gemas viáveis	4,20	3,61	85,95	0,00	10,00
Número médio de folhas	2,38	1,74	73,11	0,00	4,75
Números de brotos do 1º subcultivo	8,50	10,24	120,43	1,71	38,00
Número de brotos do 2º subcultivo	13,16	17,51	133,03	2,57	64,00

<sup>1</sup> = extremamente pequena, 2 = muito pequena, 3 = pequena, 4 = média, 5 = grande, 6 = extremamente grande.

Na tabela 2 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis obtidas nas plantas e suas respectivas respostas morfogenéticas *in vitro*. Observou-se que o comprimento do caule apresenta uma correlação média e significativa ( $P < 0,05$ ) com o número de explantes viáveis ( $r = 0,68^{**}$ ) e com o tamanho médio da gema ( $r = 0,61^*$ ). O diâmetro na base e no meio apresentou correlação média e altamente significativa com o comprimento do caule,  $r = 0,55^*$  e  $r = 0,65^{**}$ , respectivamente. O número de gemas por planta apresentou correlação significativa ( $P < 0,05$ ) e média com o diâmetro no ápice,  $r = 0,63^*$ . O número de gemas viáveis apresentou correlação média com o tamanho médio das mesmas ( $r = 0,51^*$ ) e correlação alta com o número médio de folhas *in vitro* ( $r = 0,79^{**}$ ). As demais correlações não foram significativas ( $P > 0,05$ ). Verificou-se uma relação média, significativa e negativa entre as variáveis número médio de folhas *in vitro* e número de brotações do primeiro e segundo subcultivo,  $r = -0,65^*$  e  $r = -0,62^*$ , respectivamente.

**Tabela 2.** Coeficientes de correlação de Pearson entre variáveis da planta e variáveis obtidas *in vitro* de 15 genótipos de abacaxizeiro oriundos do cruzamento entre Ananás São Bento e Primavera.

	DB	DM	DA	NG	NV	TG	NF	BP	BS
CC	0,55*	0,65**	0,33	0,32	0,68**	0,61*	0,35	-0,41	-0,41
DB		0,88**	0,58*	0,37	0,42	0,23	0,21	-0,02	0,04
DM			0,52*	0,30	0,40	0,43	0,27	-0,15	-0,10
DA				0,63**	0,25	-0,17	0,08	0,02	0,03
NG					0,39	-0,24	0,41	-0,06	-0,07
NV						0,51*	0,79**	-0,49	-0,50
TG							0,20	-0,08	-0,10
NF								-0,65*	-0,62*
BP									0,99**

<sup>1</sup>CC = comprimento do caule, DB = diâmetro da base, DM = diâmetro do meio, DA = diâmetro do ápice, NG = número de gemas por planta, NV = número de gemas viáveis, TG = tamanho médio da gema, NF = número médio de folhas, BP = número de brotos do primeiro subcultivo, BS = número de brotos do segundo subcultivo.

\*\* e \* significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste de t.

Esse tipo de estudo realizado em progênies, partindo-se do princípio que todas as plantas da progênie foram cultivadas sob as mesmas condições servem de auxílio para se estimar a variância genética e os estudos de herdabilidade no que se refere à capacidade morfogênica de plantas. Adicionalmente confirma o efeito de diversos fatores como a localização e o tamanho das gemas, dentre outros, para a morfogênese *in vitro*.

Trabalhos realizados com progênies de melão mostraram uma elevada variabilidade da capacidade morfogênica entre as plantas. Essa variabilidade observada foi considerada, pelos autores, de natureza genética devido às condições de experimentação estabelecida por eles (Molina & Nuez, 1995).

Visto que cada vez mais ferramentas biotecnológicas são inseridas nos programas de Melhoramento genético das espécies cultivadas e os protocolos de regeneração de plantas são a base para o uso dessas técnicas, o conhecimento e o controle sobre a capacidade morfogênica desses materiais é extremamente interessante.

## CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que as diferenças observadas entre as plantas da progênie em condições de campo, são, em parte, responsáveis pelas diferenças que foram observadas no comportamento das gemas inoculadas *in vitro*. Dentre as variáveis que mais influenciaram os resultados obtidos, destaca-se o tamanho da planta (comprimento e diâmetro do caule), assim como o tamanho inicial da gema. Essas variáveis apresentaram uma correlação positiva com a viabilidade das gemas *in vitro*, refletindo inclusive no desenvolvimento das plantas obtidas.

## AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

## LITERATURA CITADA

FIROOZABADY, E; GUTTERSON, N. Cost-effective *in vitro* propagation methods for pineapple. ***Plant Cell Reports***, n.21, p. 844-850, 2003.

<sup>1</sup> A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical e a CAPES, que contribuíram de forma direta e indiretamente para execução desse trabalho.

KOORNNEEF, M., BADE, J., HANHART, C., HORSMAN, K., SCHEL, J., SOPPE, W., VERKERK, R., ZABEL, P. Characterization and mapping of a gene controlling shoot regeneration in tomato. **Plant Journal**, v.3, p.131-141, 1993.

MOLINA, R.V. & NUEZ, F. Characterization and classification of different genotypes In a population of *Cucumis melo* based on their ability to regenerate shoots from leaf explants. *Planta Cell Tissue and Organ Culture*. v. 43. p. 249-257. 1995.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 437-497, 1962.

SAS, Statistical Analysis System. **User's Guide**. Statistics. 5. ed. Cary: SAS Institute, 2000. 1028p.

SOUZA, F.V.D.; CABRAL, J.R.S.; CARDOSO, J.L.; BENJAMIN, D.A. Minimum growth conditions for the in vitro conservation of pineapple germplasm. **Acta Horticulturae**. Leuven. 702, february. p. 41-47. 2006.

TEXEIRA, J. B.; CRUZ, A. R. R.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. *Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através da micropropagação*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 26 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 70

**PALAVRAS-CHAVE:** *Ananas comosus* var. *bracteatus*, *Ananas comosus* var. *comosus*, micropropagação, cultura de tecidos.

# Efeito da concentração do ANA (Ácido Naftalenoacético) no enraizamento *in vitro* de brotos de abacaxizeiro (*Ananas comosus*)

Correia, W. K. A.M.<sup>1</sup> ; Melo, Y. L.<sup>2</sup>; Macedo, C. E. C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), [wannessakm@uol.com.br](mailto:wannessakm@uol.com.br) ;<sup>2</sup> Graduando do Curso de Ciências Biológicas da UFRN, [ozz\\_zorro@hotmail.com](mailto:ozz_zorro@hotmail.com); <sup>3</sup> Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética [cristianemacedo@ufrnet.br](mailto:cristianemacedo@ufrnet.br); Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de frutas tropicais e, graças às suas condições de solo e de clima diversificadas, pode também se dedicar ao plantio de fruteiras de clima temperado e subtropical, produtos com elevado potencial para o mercado externo. Entre as frutas tropicais, o abacaxi ocupa uma posição de destaque no cenário agrícola, sendo a região Nordeste responsável pelo maior percentual (55%) na produção nacional deste fruto.

O Estado do Rio Grande do Norte ocupa entre a quinta e a sétima posição em produção no Brasil e a terceira em produtividade (Santiago & Rocha, 2001).

Pesquisas que visem o aumento da produtividade são indispensáveis para o crescimento do setor frutícola. Uma das alternativas eficiente é a utilização de técnicas de cultura *in vitro* para se obter número suficiente de brotos com parte aérea mais alongada, permitindo sua melhor individualização e enraizamento e finalmente produzindo produção de mudas.

A técnica de micropopagação possibilita a obtenção de mudas com uma multiplicação rápida em períodos de tempo e espaço físico reduzido e com alta qualidade fitossanitária (Correia et al, 1999; Grattapaglia & Machado 1998). Neste sentido, diferentes etapas tais como: estabelecimento da cultura *in vitro*, multiplicação, enraizamento e aclimação são necessárias e fazem parte do processo de obtenção de mudas. Entretanto, o enraizamento e a aclimação são pontos críticos na micropropagação, podendo, em alguns casos, limitar este processo.

A formação de raízes no estágio de multiplicação *in vitro* permite a constituição de plantas completas, para posterior transferência a condições *ex vitro*. Muitas vezes, as raízes formadas não apresentam características adequadas às funções de absorção, determinando, dentre outros fatores, a morte das mudas, quando transferidas para o solo. Isto por que o processo de enraizamento é muito complexo, incluindo fatores fisiológicos, bioquímicos e biológicos (fatores internos) que interagem com os fatores externos (Assis & Teixeira, 1998). Sabe-se que o controle do desenvolvimento de raízes é influenciado por substâncias reguladoras de crescimento e segundo Taiz & Zeiger, 1991 as auxinas são os únicos reguladores de crescimento que aumentam a formação de primórdios radiculares.

Nesse contexto, e na tentativa de otimizar um protocolo de obtenção de mudas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ácido naftalenoacético (ANA) no enraizamento *in vitro* de brotos de abacaxizeiro da variedade pérola.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados brotos de abacaxizeiro da variedade Pérola (*Ananas comosus* L. Merrill) cultivados *in vitro*.

Os brotos de abacaxizeiros obtidos a partir de explantes (gemas laterais retiradas das bases de coroas) da variedade pérola com altura entre 4 e 5 cm, foram inoculados em meio de

cultura básico constituído pelos sais e vitaminas MS 1/2 (Murashige & Skoog, 1962) suplementados com  $15 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose;  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  de inositol na ausência (controle) e presença de  $0,001 \text{ g L}^{-1}$  de ácido naftalenoacético (ANA). Os meios de cultura tiveram o pH ajustado para 5,7 – 5,8. Posteriormente, foram autoclavados a temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$ , durante 20 minutos, a uma pressão de 1 atm. Os frascos contendo os brotos inoculados foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 12/12 horas fornecida por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria e temperatura controlada a  $27^{\circ}\text{C}$ , onde permaneceram durante 60 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Neste experimento foram inoculados 5 brotos por frasco (unidade experimental) sendo que para cada tratamento (controle e ANA) foram realizadas 11 repetições (correspondente a 11 frascos). Os brotos foram subcultivados a cada 30 dias durante 60 dias de experimento. 20 dias após a inoculação e depois a cada 10 dias foi determinado e computado o número de brotos que formaram raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante a fase de enraizamento *in vitro* evidenciam a importância das auxinas, neste trabalho o ANA, na formação de raízes de brotos de abacaxizeiro. Na presença de ANA e independente do tempo de cultivo (60 dias), o número de brotos enraizados foi maior que o número de brotos na ausência (controle) do referido hormônio (Gráfico 1). Foi observada uma progressão no aparecimento das raízes tratadas com ANA, mostrando que a resposta ao hormônio aumenta em função do tempo, enquanto que o grupo controle após 30 dias manteve certa estabilidade (Gráfico 1).

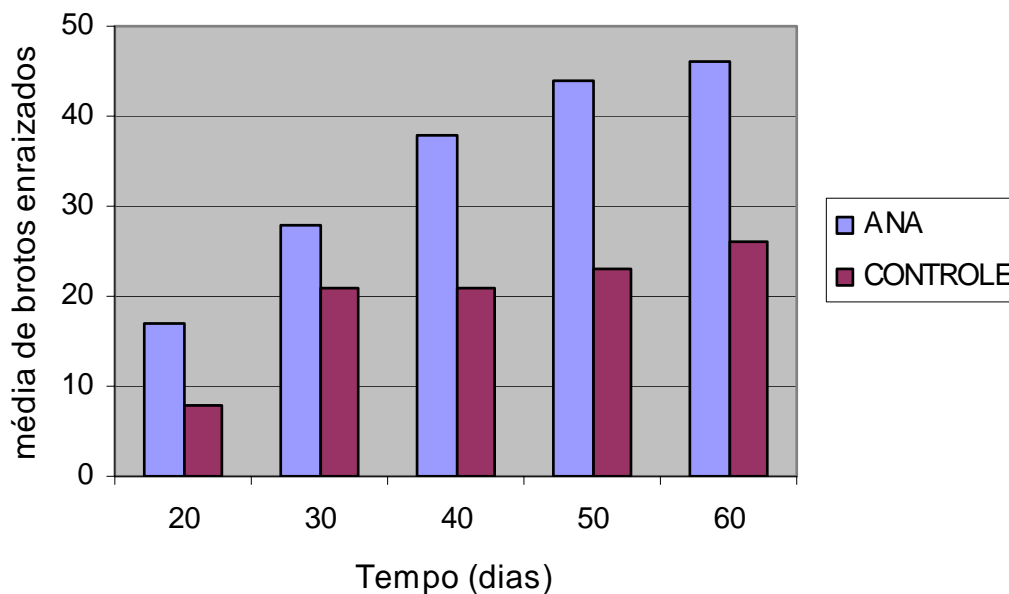


Gráfico 1 – Número de brotos de abacaxizeiros enraizados na ausência (controle) e na presença de ANA ( $0,001 \text{ g L}^{-1}$ ) em diferentes intervalos de tempo durante 60 dias de experimento.



Em um total de 55 brotos no tratamento controle cerca de 50% enraizou, enquanto que no tratamento com ANA dos 55 brotos inoculados quase 100% formaram raízes. As plantas obtidas a partir de brotos inoculados em meio contendo ANA apresentaram um bom sistema radicular com raízes finas e ramificadas (Figura 1 A-B).

Estes resultados estão de acordo com trabalhos encontrados na literatura, que apontam à otimização de protocolos de enraizamento quando se adiciona uma auxina nos meios de enraizamento de espécies frutíferas (Magalhães & Peters, 1991; Leite et al., 1994; Centellas et al., 1999).

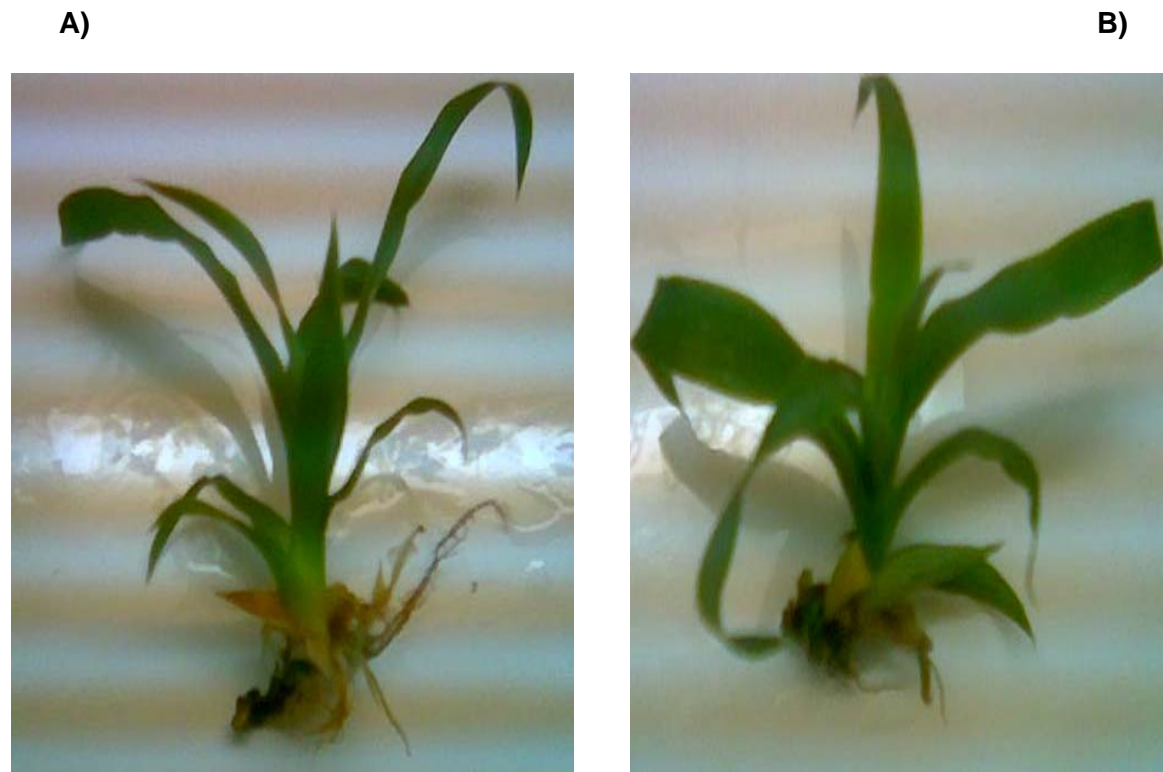


Figura 1 - Plantas de abacaxizeiro da variedade perola enraizada na presença de  $0,001 \text{ g L}^{-1}$  de ANA (A) e na ausência (B).

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que, a adição do ácido naftalenoacético (ANA) tem efeito positivo na rizogênese em brotos de abacaxizeiro, proporcionando assim um enraizamento adequado, *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas, In: TORRES, A. G.; CALDAS L. S. ; BUSO, J. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA – CNPH, 1998. p. 261 – 296.

CENTELLAS, A.Q.; FORTES, G.R. de L.; MÜLLER, N.T.G.; ZANOL, G.C.; FLORES, R.; GOTTINARI, R.A. Efeito de auxinas sintéticas no enraizamento *in vitro* de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.181-186, 1999.

CORREIA, D; OLIVEIRA, P.M.A.; RIBEIRO, K.A.; SILVEIRA, M.R.S. **Avaliação da multiplicação in vitro do abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p. 1-2, 1999a. (Pesquisa em Andamento, 56).

GRATTAPAGLIA, D. ; MACHADO, M. A. Micropropagação In: TORRES, A.C. ; CALDAS L. S. ; BUSO, J. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA – CNPH, 1998. p.183 – 260.

LEITE, D.L.; PETERS, J.A.; FORTES, G.R.de L.; NAKASU, B.H. Micropropagação de pereira (*Pyrus* spp.) cultivar Carrick. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal–SP, v.16, n.1, 236-241, 1994.

MAGALHÃES Jr. A.M.; PETERS, J.A., Cultura in vitro de ameixeira: Efeito do ácido indolbutírico, tipo de lâmpada e intensidade luminosa no enraizamento. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina/ PR, v.3, n.1, p.57-61, 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Plant propagation through tissue culture. Annual Review of plant physiology, New York, v. 25. p. 135-166. 1974.

SANTIAGO, M. M. D; ROCHA, M. B. O mercado de frutas e as estimativas dos preços recebidos pelos fruticultores no Estado de São Paulo, 1990 – 2000. **Informações Econômicas**. IEA, São Paulo. v. 31, n. 2, fev./2001, p. 7 – 20, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**, Redwood (Califórnia): 1991. cap.16, p.398-424.

## PALAVRAS CHAVES

Ananas comosus; Enraizamento *in vitro*; Ácido naftalenoacético (ANA); Micropropagação.

## <sup>1</sup>AGRADECIMENTOS:

---

<sup>1</sup> BNB, EMPARN e DBG - UFRN

## **Indução de Calogênese em *Eucalyptus urograndis* cultivado *in vitro*.**

Abbate, Leticia Caravita<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>, Centofante, Agda Rabelo<sup>1</sup>; Stein, Vanessa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG), Campus da UFLA, CEP 37200-000 Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821-0521, email: [a.centofante@uol.com.br](mailto:a.centofante@uol.com.br); <sup>2</sup>Professora Associada do Departamento de Agricultura da UFLA; <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia da UFLA; <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG)

### **INTRODUÇÃO**

A micropropagação de eucalipto tem sido utilizada como técnica promissora para o desenvolvimento clonal por meio da produção de gemas e estacas (Handley & Becwar, 1995). Por meio da micropropagação, há redução no tempo de produção da muda, uniformidade no cultivo e maior controle da sanidade do material micropropagado (Cardim, 2006).

Denchev & Conger (1995), estudaram indução de calos em seedlings de *Panicum virgatum* L. com o uso de três níveis de 2,4-D e picloram em combinação com quatro níveis de BAP, todos mantidos no escuro. A interação do picloram com baixas concentrações de BAP foi benéfica, enquanto que as demais apresentaram decréscimo na produção de calos. O 2,4-D revelou-se melhor isolado do que em combinação com o BAP.

Diante das propostas tecnológicas oferecidas pela micropropagação e da importância dos reguladores de crescimento no estabelecimento das culturas *in vitro*, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do 2,4-D na indução de calogênese foliares de eucalipto, clone SD2002, da variedade *Urograndis*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Lavras, MG. Foi utilizado o clone de eucalipto SD2002, variedade *Urograndis*.

Foi avaliado o efeito de, 2,4-D, nas concentrações de 0; 1; 2; 4 e 5 mg.L<sup>-1</sup>, acrescido ao meio de cultura MS suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 7g.L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado para 5,8. Utilizou-se 10 repetições, com 1 explante por tubo.

As folhas, foram deixadas em água corrente por 1 hora e levadas à câmara de fluxo laminar, imersas em álcool 70% por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo por 10 minutos. Ao final deste tempo, lavou-se em água destilada autoclavada por três vezes e inoculadas, retirando-se a nervura central.

Após a inoculação, o material foi mantido em sala de crescimento com temperatura média de 25±2°C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 36 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, sendo a avaliação realizada aos 30 dias após a implantação do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os dados obtidos foram submetidos à regressão para análise.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Pela Figura 1 observa-se a porcentagem de formação de calos de explantes foliares do clone de eucalipto SD2002 variedade *Urograndis* em diferentes doses de 2,4-D. Avaliou-se visualmente a porcentagem de calos formados. Maior porcentagem foi observada em meios contendo 5,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D. Não foi observada formação de calos quando não se adicionou ao meio o regulador de crescimento 2,4-D. Para calos cultivados em meio de cultura contendo 5,0 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D, observou-se também, formação de raízes adventícias (Figura 2).

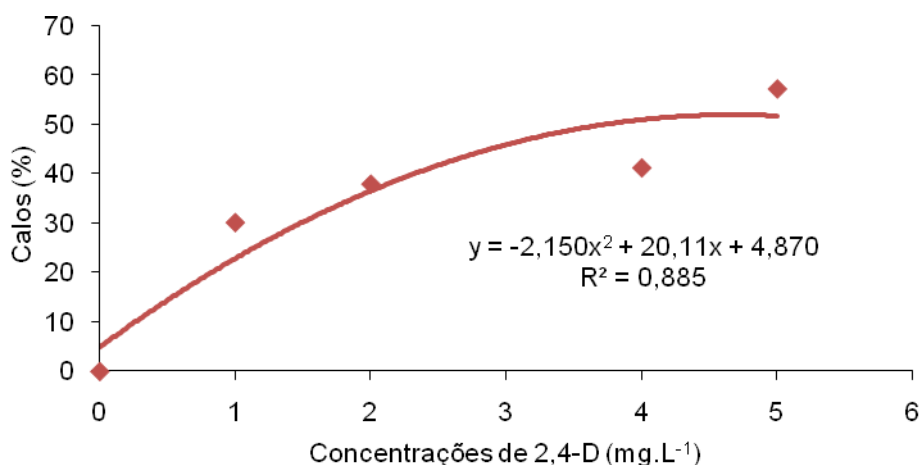


Figura 1. Porcentagem de calos obtidos *in vitro*, em explantes de eucalipto var. *Urograndis* inoculado em diferentes concentrações de 2,4-D ,

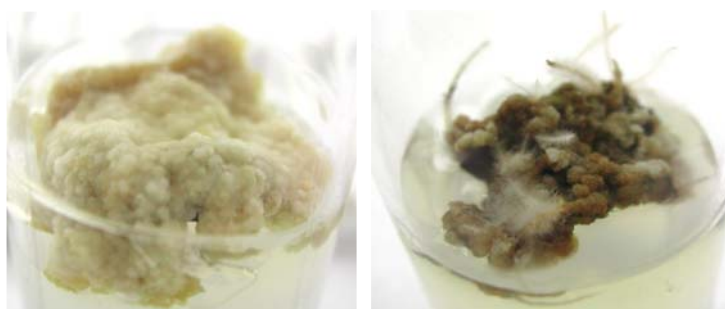


Figura 2. Aspecto visual de calos e raízes obtidos na micropropagação de clone de eucalipto variedade *Urograndis* na presença de 5 mg.L<sup>-1</sup> de 2,4-D.

Rocha & Ouoirin (2004) estudando calogênese e rizogênese em explantes de mogno cultivados *in vitro* observaram que a formação de calo foi abundante nos explantes de folhas e raízes de mogno, e que nos explantes foliares, os maiores números de calos foram obtidos na presença das combinações de citocinina e auxina: BAP (1 mg.L<sup>-1</sup>) com ANA (0,02 mg.L<sup>-1</sup>) e BAP (2 mg.L<sup>-1</sup>) com ANA (0,02 mg.L<sup>-1</sup> ou 0,1 mg.L<sup>-1</sup>).

Carvalho et al. (2004) estudando a organogênese *in vitro* de clones de *Eucalyptus grandis* e *E. urophylla*, concluíram que os reguladores de crescimento TDZ e ANA proporcionam maiores índices de calejamento, e a sua concentração varia de acordo com o clone utilizado. A intensidade de calejamento e a textura do calo são os parâmetros que devem ser usados na escolha de um tratamento objetivando a organogênese em eucalipto.

Ozias-Akins & Vasil (1985) mencionaram que citocininas exógenas nem sempre são necessárias e que muitos tecidos desenvolvem-se *in vitro* apenas com suprimento de auxinas. No entanto, Woo et al. (2000) testaram 2,4-D em combinação com cinetina, para a indução de calos em segmentos cotiledonares de *Fagopyrum esculentum Moench*. Concluíram que o 2,4-D com cinetina apresentaram alta eficiência para a cultura de calos (100% de indução).

## CONCLUSÕES

A maior porcentagem de formação de calos foi observada na concentração de 5,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, com formação de raízes adventícias, para o clone de eucalipto, SD2002, variedade *Urograndis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDIM, D. C. Crescimento e desenvolvimento de brotações de progênies de *Eucalyptus grandis* *in vitro*. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006, 45p.

DENCHEV, P. D.; CONGER, B. V. *In vitro* culture of switchgrass: Influence of 2,4-D and picloram in combination with benzyladenine on callus initiation and regeneration. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 43-48, Jan. 1995.

HANDLEY, L.W.; BECWAR, M.R. *et al.* Research and development of commercial tissue culture systems in loblolly pine. **Tappi Journal**, Atlanta, v.78, n.5, p. 169-175, 1995.

OZIAS-AKINS, P.; VASIL, I. K. Nutrition of plant tissue cultures. In: VASIL, I. K. *Cell culture and somatic cell genetics of plants: cell growth, nutrition, cytodifferentiation and cryopreservation*. Florida: Academic, 1985. v. 2, p. 128-147.

ROCHA, S.C. da; QUOIRIN, M. Calogênese e rizogênese em explantes de mogno (*swietenia macrophylla* king) cultivados *in vitro*. **Ciência Florestal**, v. 14, n. 1, 2004.

WOO, S. H.; NAIR, A.; ADACHI, T.; CAMPBELL, C. G. Plant regeneration from cotyledon tissues of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). **In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, Oxford, v. 36, n. 5, p. 358-361, Sept./Oct. 2000.

## PALVRAS-CHAVES:

*Eucalyptus urograndis*; 2,4-D; calogênese; explantes foliares; raízes

## AGRADECIMENTOS

À empresa S&D florestal pela concessão mudas do clone SD 2002, para serem utilizadas neste trabalho.

## Posição do explante na micropropagação de *Hyptis marruboides* Epl.

Rosado, Luciana Domiciano Silva<sup>1</sup>; Pinto, José Eduardo Brasil Pereira<sup>2</sup>; Reis, Érika Soares<sup>3</sup>; Nunes, Claudinéia Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Agronomia/Fitotecnia. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Dep<sup>to</sup> de Agricultura, Cx.Postal: 3037. Campus UFLA. CEP: 37200-000. Lavras-MG. e-mail: lusrosado@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Professor – UFLA, e-mail: jeduardo@ufla.br. <sup>3</sup>Mestre em Fitotecnia, e-mail: erikasreis@yahoo.com.br. <sup>4</sup>Doutoranda em Fitotecnia, e-mail nunesfr@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

As Lamiaceae compreendem uma família pertencente à ordem Tubiflorae (Lamiales), abrangendo cerca de 200 gêneros e, aproximadamente, 3.200 espécies, distribuídas em todo o mundo.

O gênero *Hyptis* (Lamiaceae), apresenta uma grande diversidade morfológica, principalmente na região do Cerrado Brasileiro, com cerca de 300 a 400 espécies (Harley, 1988). Apresentam um aroma característico e são usadas no tratamento de infecções gastrointestinais, câimbras, dores e no tratamento de infecções de pele (Corrêa, 1931). Atualmente foram também verificados efeitos biológicos importantes no gênero *Hyptis*, como atividades antimicrobianas e inseticidas (Kubnt et al., 1995).

O uso indiscriminado de espécies medicinais pela medicina popular, e também pela indústria farmacêutica, tem ocasionado uma redução considerável na densidade populacional de algumas plantas em áreas onde elas ocorrem naturalmente, sendo importante o desenvolvimento de protocolos efetivos que viabilizem a produção destas espécies em escala comercial (Nadeem et al., 2000). Uma alternativa seria então a micropropagação destas espécies com isto aumentando a população de plantas a serem propagadas no campo.

Na micropropagação de uma espécie, o primeiro passo é o estabelecimento *in vitro* de plantas, o que se inicia com a seleção dos explantes mais adequados. Diversos explantes podem ser utilizados para iniciar a propagação *in vitro* de uma planta. Na seleção desses, devem ser considerados aspectos, como o nível de diferenciação do tecido utilizado e a finalidade da micropropagação (Grattapaglia & Machado, 1998).

Verificando a regeneração *in vitro* de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*) Crespo et al. (2003) estudaram três tipos de explantes (basal, mediano e apical) e observaram que o explante apical produziu maior número de brotos, de nós, número de folhas, maior altura de brotos e maior número de raízes.

Assim o objetivo do presente trabalho foi estudar a posição do explante na micropropagação de *Hyptis marruboides*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras-MG.

Os explantes utilizados foram obtidos de plântulas pré-estabelecidas *in vitro*, destas plantas sendo multiplicados em tubos de ensaio contendo meio MS (Murashig & Skoog, 1962) sem regulador de crescimento, os meios foram solidificados com ágar 0,6% e adicionados de 3% de sacarose. O pH foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem, que foi realizada a 120<sup>o</sup> por 15 minutos.

Os tubos de ensaio foram colocados em sala de crescimento em condições controladas de temperatura 26 ± 1<sup>o</sup>C, por fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 25 μmol.m<sup>-2</sup>. S<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria.

O experimento foi constituído por três tratamentos: segmento apical, segmento nodal proveniente de região mediana e segmento nodal proveniente de região basal, com 7 repetições de 5 tubos por repetição, totalizando 35 tubos por parcela. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC).

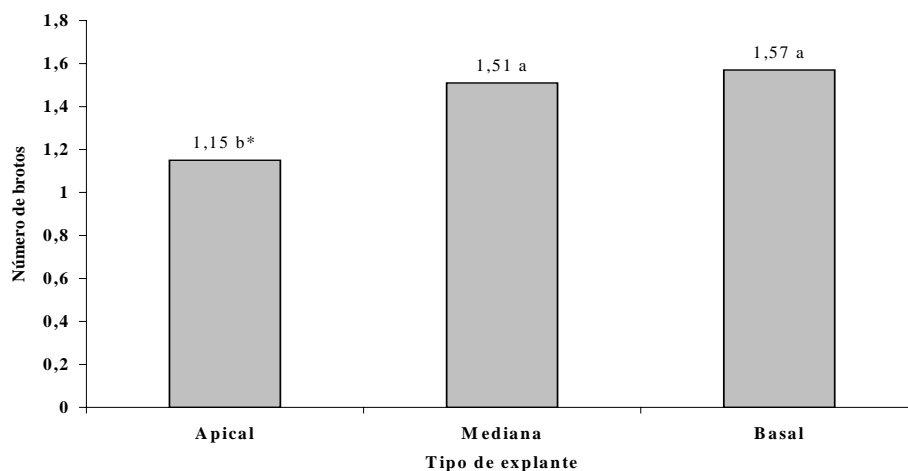
Após 30 dias foram avaliados número de brotos, comprimento (cm), número de nós, número de raízes.

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), tendo sido realizada a análise de variância, com aplicação do teste de Scott e Knott, a 5% de probabilidade.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

As diferentes posições dos explantes influenciaram significativamente as variáveis número de brotos, comprimento de brotos e número de raízes, para a variável número de nós não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

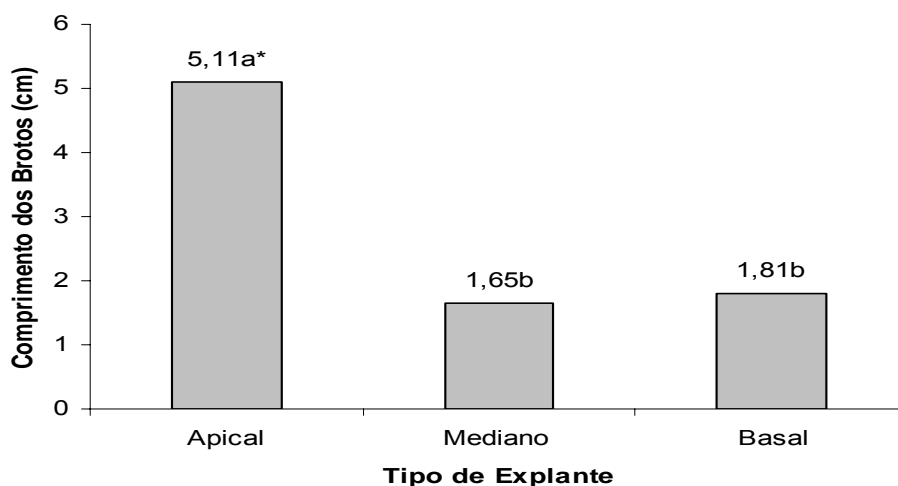
Para a variável número de brotos os segmentos nodais provenientes das regiões mediana e basal produziram maior número de brotos (1,51 e 1,57 brotos) seguidas do segmento apical que produziu o menor número de brotos com (1,15 brotos), conforme Figura 1.



**FIGURA 1:** Número de brotos de *Hyptis marruboides* Epl. em função da posição do explante. \* As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott & Knott a 5% de probabilidade.

O menor número de brotos foi produzido pelo segmento apical devido ao balanço hormonal que induz à forte dominância apical, em que houve a formação, em média, de um broto por planta. Já no segmento nodal, tanto da região mediana quanto basal da plântula, havia a presença de duas gemas laterais, conseqüentemente produzindo, em média, dois novos brotos por planta.

Com relação ao comprimento dos brotos a parte apical obteve o maior comprimento com (5,11cm) quando comparado com a parte basal e mediana (1,81 e 1,65 cm respectivamente), Figura 2.

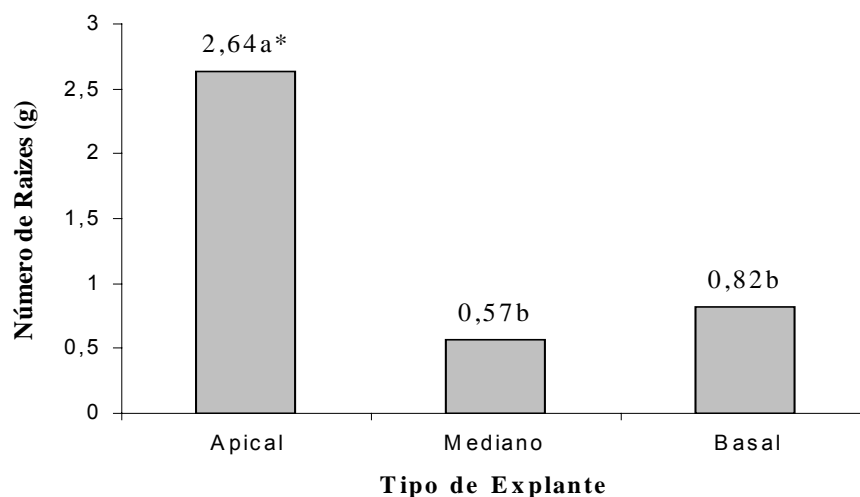


**FIGURA 2:** Comprimento de brotos de *Hyptis marrubioides* Epl. em função da posição do explante. \* As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott & Knott a 5% de probabilidade.

Segundo Torres et al (1998), gemas apicais, normalmente apresentam maior capacidade de crescimento do que as gemas axilares, devido ao efeito da dominância apical.

Reis (2007) obteve resultados semelhantes ao trabalhar com *Melissa officinalis* sendo que o maior número de brotos foi obtido com a parte mediana e basal e para a variável comprimento de brotos o segmento apical apresentou maior comprimento.

Com relação ao número de raízes observou-se que o segmento apical apresentou um melhor resultado quando comparado aos segmentos nodais provenientes de região mediana e basal (Figura 3).



**FIGURA 3:** Número de raízes de *Hyptis marrubioides* Epl. em função da posição do explante. \* As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott & Knott a 5% de probabilidade.

Esse resultado se deve ao fato de que provavelmente devido ao balanço hormonal no segmento apical haja um maior acúmulo de auxina nesse segmento promovendo assim a formação de um maior número de raízes, ao contrário dos segmentos nodais provenientes de região mediana e basal.



De acordo com Pierik (1990) e Grattapaglia & Machado (1990), são comuns os efeitos da posição dos explantes sobre a multiplicação *in vitro*. O uso de segmentos de origem basal e apical pode causar uma fonte de variação na resposta final. Isso confirma os resultados deste experimento e salienta a importância de se trabalhar com material vegetal homogêneo, para maior precisão na estimativa da multiplicação.

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que as diferentes posições do explante influenciam na propagação *in vitro* de *Hyptis marrubioides*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

CORRÊA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis e das Exóticas Cultivadas**. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 1931.

CRESPO, L. E.; CASTRO, H. G.; CAMPOSTRINI, E.; LEAL, N. R.; BARRETO, G. S. Regeneração *in vitro* de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2003. p. 161.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA - CNPH, 1990. p. 610-612.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-PI/ EMBRAPA-CNPH, 1998. p. 183-260.

HARLEY, R.M. Evolution and distribution of Eriope (Labiatae) and its relatives in Brasil. In: Vanzolini, P.E. and Heyer, W.R. (eds). *Proceedings Patterns*. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, p.71-80, 1988.

KUBNT, M., PROBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M.; **Planta Medicinal**, v.6, 227p. 1995.

NADEEM, M.; PALNI, L. M. S.; PUROHIT, A. N.; PANDEI, H.; NANDI, S. K. Propagação and conservatiion of *Podophyllum hexandrum* Royle: na important medicinal herb. **Biological conservation**, Oxford, v. 92, n. 1, p. 121-129, jan.2000.

PIERIK, R. L. M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores**. Madri: Mundi Prensa, 1990. 326 p.

REIS, É. S. Micropropagação e teor de óleo essencial *in vitro* de *Melissa officinalis* L. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG.

TORRES, A. C.; L. S. & FERREIRA, A. T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.(Ed). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília:EMBRAPA- SPI/ EMBRAPA-CNPH, p.11-19, 1998.

## PALAVRAS – CHAVES

*Hyptis marrubioides*,Laminaceae, cultura de tecidos, micropropagação.

## Propagação "in vitro" de *Curcuma zedoaria*.

**Rezende, Fabrício Luiz<sup>1</sup>; Silva, Patrícia Antunes<sup>1</sup>; Silva, Rafael Mendes<sup>1</sup>; Barbosa, Núbia Ribeiro<sup>1</sup>; Souza, Raniele Tadeu Guimarães<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Acadêmicos do curso de Agronomia da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Unidade Universitária de Ipameri, Rodovia GO 330 Km 241 - Anel Viário Cep. 75780-000 Ipameri, Goiás, fone (62) 349115-56, email: agroperefabrício@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

*Curcuma zedoaria*, pertencente à família Zingiberaceae, é planta herbácea aromática provida de rizoma rico em óleo essencial (o qual apresenta propriedades terapêuticas atualmente exploradas comercialmente). Esta planta é bastante conhecida na medicina popular e tradicional, sendo utilizada como expectorante, demulcente, diurético, rubefaciente, estimulante do processo de digestão, colagogo e no tratamento da gastrite. Atualmente, destaca-se também sua potencialidade como anti-inflamatório, graças ao seu efeito antioxidante (Mello, Amaral, e Melo, 2000).

Sua propagação é feita vegetativamente através do plantio de fragmentos de rizoma. Entretanto a dificuldade de armazenamento dos rizomas utilizados como "sementes", os problemas fitossanitários, a dormência das gemas ao longo de estações com dias curtos e frios e o aumento na demanda por matéria-prima para a produção de medicamentos e corantes industriais obtidos a partir do rizoma desta planta fazem com que a propagação vegetativa convencional para a multiplicação em larga escala seja ineficiente e não atenda a crescente demanda do mercado consumidor (Yasuda et al., 1988). O cultivo *in vitro* aparece como uma alternativa que supera tais dificuldades e já tem se mostrado uma opção viável para outros membros da família Zingiberaceae como *Curcuma domestica* (Dekkers et al., 1991).

Na cultura *in vitro* é possível a multiplicação de um exemplar utilizando-se apenas uma pequena porção de tecido vegetal como exemplo uma parte do meristema apical ou radicular. Esta pequena porção vegetal pode dar origem a um indivíduo normal em tempo menor que levaria uma semente e em número maior de indivíduos que a propagação vegetativa que utiliza partes maiores do vegetal em processos como a estaquia ou enxertia, por exemplo (CHANG e CRILEY, 1993).

A importância da cultura de tecidos se deve a uma propriedade dos vegetais, a totipotência. Isso quer dizer que cada célula de uma planta tem o poder de regenerar todo o vegetal. O sucesso de uma cultura de tecidos depende de fatores como: tipo, composição e qualidade do meio de cultura, assepsia do local de estabelecimento *in vitro*, tipo de cultura vegetal em questão, tipo de tecido utilizado e a contaminação deste (PATRICIO, 1984).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho da *Curcuma zedoaria* na micropopagação em cultura *in vitro* utilizando meio de cultura MS em condições não muito favoráveis que foi o laboratório da Unidade, uma vez que este não possui os materiais adequados para a realização desse tipo de prática.

### MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Universidade Estadual de Goiás (UEG), Unidade Universitária de Ipameri no dia vinte e três de outubro de 2006. Foram retirados rizomas de plantas da *Curcuma zedoaria* no próprio viveiro da unidade. As partes retiradas sofreram uma primeira limpeza já no local de coleta, com a retirada de terra, folhas e outras partículas maiores.

Já no laboratório foi realizada uma lavagem do material em água corrente e detergente líquido neutro. Em ambos os casos o tamanho dos explantes foi reduzido na fase da lavagem.

Feita a primeira lavagem em água corrente, os explantes foram colocados em álcool 70% (a concentração é importante, pois álcool puro ou em maior concentração poderia queimar

as gemas e em menor concentração pode não realizar uma desinfecção eficiente), em um copo de Becker com 3 gotas de detergente para quebrar a tensão superficial da água. Nesta solução de álcool os explantes ficaram por 3 minutos.

Passados os três minutos os explantes foram colocados em outro Becker com 3 gotas de detergente e hipoclorito de sódio a 50% por 1 minuto.

Passada esta fase, os explantes foram levados à capela, (o correto seria a utilização de uma câmara de fluxo laminar), já devidamente limpa e esterelizada com álcool 70%. É importante lembrar que todos os materiais levados à capela devem ser autoclavados.

Na capela os explantes passam por uma nova etapa de desinfecção. Ficam um minuto em solução de álcool a 70% e dois minutos em hipoclorito de sódio a 50%. Após esta fase os explantes são mantidos em água destilada e autoclavada.

Após a desinfecção e lavagem dos explantes, com uma pinça e um bisturi corta-se a parte desejada do material vegetal (a parte que contém uma gema), sobre um disco de papel pardo autoclavado e transfere-se a gema para o tubo de ensaio contendo o meio de cultura.

Foram utilizados tubos de ensaio contendo meio de cultura MS preparados na faculdade. Ao todo foram utilizados quinze tubos de ensaio, um para cada gema.

Os tubos são lacrados com papel alumínio e filme PVC. O papel alumínio deve ser retirado apenas no interior da capela e com muito cuidado, pois este mesmo lacre será utilizado para vedar o tubo após a colocação do explante.

O meio de cultura deve estar em biséu dentro do tubo e o explante deve ser colocado na parte superior do biséu, para evitar o contato direto com a água desprendida do meio, e realizando-se uma pequena pressão para a fixação da gema no meio de cultura.

Após a retirada de cada explante deve-se trocar o disco de papel pardo e desinfetar o bisturi e a pinça em álcool 70%.

Deve-se evitar ao máximo retirar as mãos de dentro da capela ou o trânsito de materiais para evitar a entrada de agentes contaminantes na capela.

A primeira avaliação foi realizada no dia trinta de outubro de 2006, a partir daí as outras avaliações foram realizadas uma vez a cada semana, sendo que a última foi no dia 27 de novembro 2006.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As avaliações foram realizadas nas seguintes datas: 30/10/2006; 06/11/2006; 13/11/2006; 20/11/2006 e 27/11/2006. Onde foram avaliadas as seguintes variáveis: explantes vivos, explantes atacados por fungos, explantes sem alterações e explantes emitindo brotações. Além de observar essas variáveis foi medido o tamanho das brotações desde a sua emergência até o final das avaliações que foi no dia 27/11/2006.

Observando a figura 1, para a variável explantes vivos observa-se uma diminuição dessa a cada avaliação principalmente devido a metodologia utilizada, quando o explante começa a emitir brotação este não entra mais na variável de explantes vivos e sim na variável de explantes emitindo brotações, por isso essas variáveis são inversamente proporcionais como mostra a figura 1. Assim como a variável de explantes vivos, a variável de explantes sem alterações também diminuiu a cada avaliação. Como era esperado o número de explantes atacados por fungos teve maior desempenho, devido as condições do local onde foi realizado o trabalho. O correto seria utilizar câmara de fluxo laminar e não uma capela, mesmo assim devido aos cuidados com a assepsia o resultado final foi satisfatório sendo que 46,7% dos explantes tiveram bom desempenho permanecendo vivos e em desenvolvimento até o final das avaliações. É possível observar através do gráfico que a causa da morte dos explantes só foi uma, a contaminação por fungos e não foi observada a presença de bactérias, o que era esperado devido as condições do local. Na figura 2 é possível observar o desempenho das

brotações ao longo dos dias das avaliações, uma vez que essas foram medidas a cada semana até o fim das avaliações.

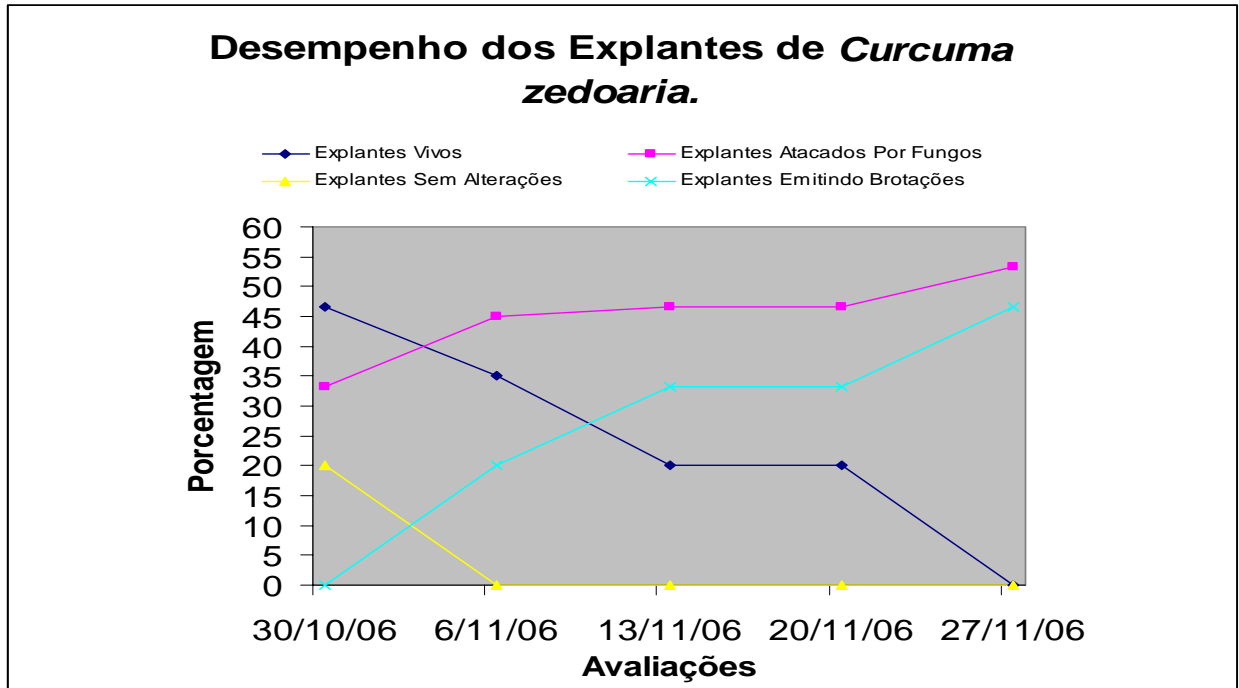


Figura 1: Desempenho, em porcentagem, de explantes de *Curcuma zedoaria* cultivados *in vitro* avaliados a cada semana sendo a primeira avaliação realizada uma semana após a inoculação.

Legenda: ----- = Explante morto

Propagação "in vitro" de <i>Curcuma zedoaria</i>					
Avaliações realizadas todas as semanas a partir da inoculação					
Explantes	30/10/2006	6/11/2006	13/11/2006	20/11/2006	27/11/2006
1	Fungo	-----	-----	-----	-----
2	Vivo	Brot. 5 cm	Brot. 7 cm	Brot. 8 cm	9 cm
3	Sem alteração	Vivo	Vivo	Vivo	1 cm
4	Sem alteração	Fungo	-----	-----	-----
5	Vivo	Vivo	Brot. 0,7 cm	Brot. 1 cm	2 cm
6	Fungo	-----	-----	-----	-----
7	Sem alteração	Vivo	Vivo	Vivo	1 cm
8	Fungo	Fungo	-----	-----	-----
9	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	1 cm
10	Fungo	-----	-----	-----	-----
11	Vivo	Vivo	Brot. 0,6 cm	Brot. 1 cm	1,5 cm
12	Vivo	Brot. 5 cm	Brot. 6 cm	Brot. 7 cm	8 cm
13	Vivo	Brot. 2 cm	Brot. 2,5 cm	Brot. 3 cm	Fungo
14	Vivo	Fungo	-----	-----	-----
15	Fungo	-----	-----	-----	-----

Figura 2: Avaliação do desempenho dos explantes e o tamanho das brotações.

## CONCLUSÃO

Apesar das condições em que foi realizado o trabalho, os explantes de *Curcuma zedoaria* apresentaram bom desempenho mostrando que a planta tem características que propiciam o seu cultivo *in vitro*, seu efeito anti-oxidante é um dos responsáveis por esse desempenho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHANG, B.K.W.; CRILEY, R.A. **Clonal propagation of pink ginger *in vitro***. Hort Science V.28 p.1203, 1993.

DEKKERS, A.J.; RAO, A.N.; GOH, C.J. ***In vitro* storage of multiple shoot cultures of gingers at ambient temperature of 24-29 °C**. Scientia Horticulturae, V.47, p.157-167, 1991.

MELLO, Márcia O.; AMARAL, Antônio, F.C.; MELO, Murilo. **Quantificação da micropropagação de *Curcuma zedoaria* ROSCOE**: Ciência, agrícola. V.57 N°.4 Piracicaba: Dezembro, 2000.

PATRICIO, I.E.M.S.: O significado da biotecnologia. In: ALMEIDA, A.L.O.; CÂMARA NETO, A.F.; GOMENSORO, S.; PATRICIO, I.E.M.S.; MAIA, J,S. **Biotecnologia e agricultura: Perspectivas para o caso brasileiro**. Petrópolis: Vozes/Biomatrix, 1984. p. 51-85.

YASUDA, K.; TSUDA, T.; SHIMIZU, H.; SUGAYA, A. **Multiplication of *Curcuma* species by tissue culture**. Planta Medica, V.54, p. 75-79, 1988.

PATRICIO, I.E.M.S.: O significado da biotecnologia. In: ALMEIDA, A.L.O.; CÂMARA NETO, A.F.; GOMENSORO, S.; PATRICIO, I.E.M.S.; MAIA, J,S. **Biotecnologia e agricultura: Perspectivas para o caso brasileiro**. Petrópolis: Vozes/Biomatrix, 1984. p. 51-85.

## PALAVRAS-CHAVES

*Curcuma zedoaria*; cultivo *in vitro*; explantes; Zingiberaceae.

## **Influência da idade e do tipo de explante na organogênese direta de *Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição, submetido a diferentes concentrações de ANA na presença de BAP.**

Lima, Carolina Oliveira de Cerqueira<sup>1,2\*</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>2</sup>; Carneiro, Cláudia Elena<sup>3</sup>; Lima-Brito, Alone<sup>2,4</sup>; Bellintani, Moema Cortizo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (UEFS) cerqueira.carolina@gmail.com; <sup>2</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana- Avenida Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana – BA, fone: (75) 3625-2300; <sup>3</sup> Laboratório de Micromorfologia Vegetal Av. Universitária, s/n - Km 03 da BR 116 Campus Universitário <sup>4</sup> Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Botânica (UEFS).<sup>5</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, campos Universitário de Ondina, Salvador – BA, fone: (71) 3263-6544. mcbellintani@yahoo.com.br.

### **INTRODUÇÃO**

Bromeliaceae representada por cerca de 3.000 espécies, é uma família essencialmente americana, distribuindo-se do sul dos Estados Unidos até o Chile, com única exceção da *Pitcairnia feliciana* encontrada no Golfo da Guiné. No Brasil encontra-se amplamente distribuída e devido a estabilidade geológica do território brasileiro encontramos vários gêneros endêmicos, como por exemplo *Orthophytum* (LEME, 1998). A roseta foliar em *Orthophytum mucugense* é típica para o gênero com presença de folhas geralmente patentes. As folhas na época de floração tornam-se parcial ou completamente vermelhas, conferindo notável valor ornamental (WANDERLEY e CONCEIÇÃO, 2006).

Métodos de cultura *in vitro* têm sido aplicados na conservação e multiplicação de genótipos específicos de bromélias. Esta técnica é muito importante para a indústria agrícola por proporcionar a rápida propagação e a obtenção de mudas com características homogêneas, independente da estação do ano (CARNEIRO e MANSUR, 2004; DROSTE et al., 2005).

O sucesso da micropropagação em qualquer espécie depende da identificação dos tecidos mais adequados para o processo. De forma geral, explantes oriundos de tecidos jovens e com maior atividade metabólica possuem maior potencialidade morfogênica (PINTO et al., 1994).

A obtenção de organogênese *in vitro* é atualmente um processo empírico onde são testados para todas as espécies, condições como: fonte de explante, composição mineral do meio de cultura (e também suas vitaminas e fontes de carbono) balanço hormonal e condições ambientais (PERES, 2002).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial organogênico do rizoma, folha e raiz da espécie *O. mucugense* em diferentes idades de desenvolvimento submetidos a diferentes concentrações do regulador de crescimento ANA na presença de BAP.

### **METODOLOGIA**

Coletas das sementes de *Orthophytum mucugense* ocorreram no Parque Municipal Sempre – Viva, localizado no Município de Mucugê-BA; o experimento de organogênese foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e os cortes anatômicos no Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV); ambos laboratórios da UEFS.

Para assepsia das sementes foi utilizado álcool 70% durante 1' e hipoclorito 3% por 15' com posteriores lavagens em água destilada autoclavada por três vezes. A germinação ocorreu em meio com água destilada gelificada com ágar (7g.L).

Após a emissão dos primórdios foliares as plântulas foram transferidas para o MS com metade da concentração salina (MS/2) suplementado com 87,64mM de sacarose até atingirem a idade de desenvolvimento desejada. Faltando duas semanas da idade esperada os frascos contendo as plântulas foram mantidos no escuro.

---

\* Apoio FAPESB

Para avaliar a capacidade de multiplicação da espécie foram utilizadas três fontes de explante (raiz, rizoma e folha) em três idades de desenvolvimento (20, 40 e 60 dias).

O meio utilizado para a multiplicação foi o MS/2 suplementado com sacarose (87,64 mM), ágar (7g.L<sup>-1</sup>), BAP (2,22 µM) e diferentes combinações de ANA (0,65; 1,3 µM) (BELLINTANI 2006). O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi realizada sob a temperatura de 120°C por 15 minutos.

Durante todo o experimento os frascos foram fechados com película de polivinilcloreto (PVC) e mantidos em laboratório sob a temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16h e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de 40 mol. µm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

Decorridos 60 dias de experimento foram avaliados: o número de brotos por explante, percentual de explantes responsivos, tamanho dos brotos formados e registro anatômico.

Para análise histológica uma amostra de cada tratamento foi fixada em álcool 70% e com auxílio de lâminas de barbear foram realizados corte a mão livre. Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a 3% por 15', corados com safrablau e analisados em microscópio óptico.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x3x3 (concentração de ANA x idade dos explante x tipos de explantes) utilizando 12 repetições com cinco amostras cada. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey (0,05), utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.3, desenvolvido pela UFPA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram que a organogênese direta em *Orthophytum mucugense* é influenciada pelo tipo e idade do explante e pode ser manipulada pela alteração no balanço auxina/citocinina.

O explante rizoma apresentou o melhor resultado em todas variáveis analisadas, diferindo significativamente de folha e raiz, independente da concentração de ANA utilizada (Tabela 1, Figura 1B).

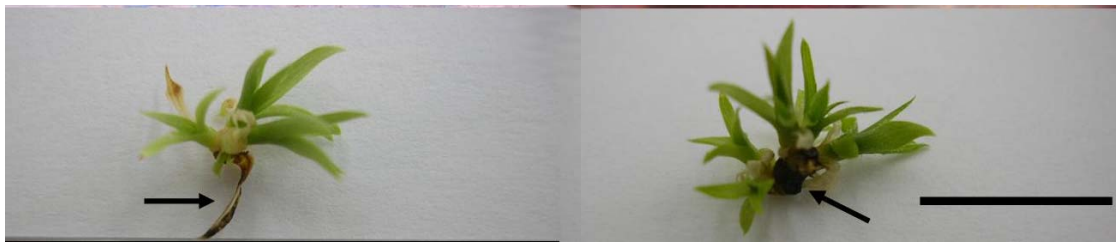
Tabela 1. Indução de morfogênese em *Orthophytum mucugense* a partir dos explantes rizoma, folha e raiz em meio suplementado com diferentes concentrações de ANA.

ANA (µM)	Tipo de explante		
	Rizoma	Folha	Raiz
	% de explantes responsivos		
0,65	46,11A <sup>w</sup> a <sup>z</sup>	9,44Ab	0,00Ab
1,3	43,33Aa	14,44Ab	0,00Ac
	Nº de brotos/explantes		
0,65	1,21Aa	0,26Ab	0,00Ab
1,3	0,87Ba	0,33Ab	0,00Ab
	Comprimento dos brotos		
0,65	5,53Aa	1,63Ab	0,00Ac
1,3	4,18Ba	2,71Aa	0,00Ab

<sup>w</sup> Média seguida pela mesma letra maiúsculas na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

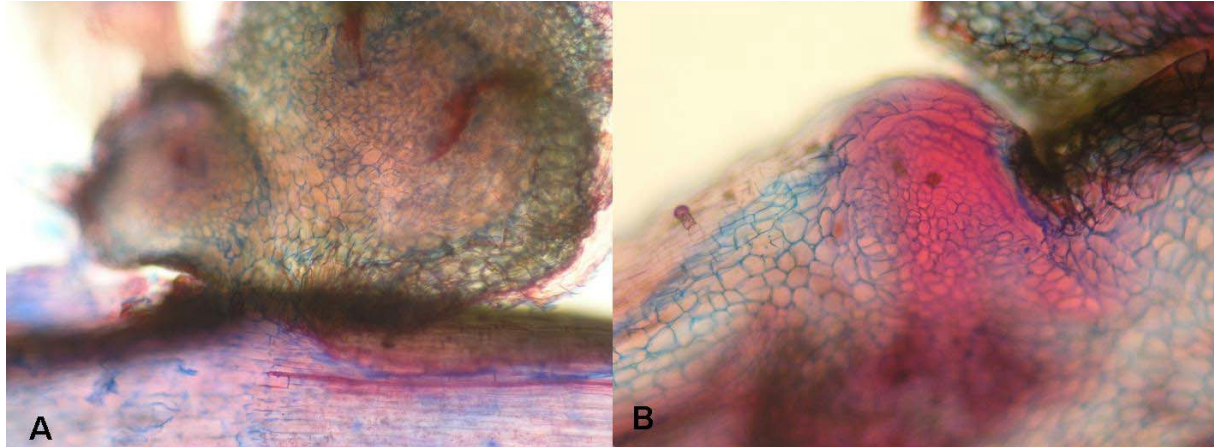
<sup>z</sup> - Média seguida pela mesma letra minúsculas na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Ocorreu formação de brotos com a utilização do explante folha nas duas concentrações de ANA (Figura 1A), com uma média de menos de um broto por explante (Tabela 1). A formação direta de gemas adventícias na base foliar é devida à presença de meristemas intercalares nesse local (MERCIER e NIEVOLA, 2003). Hamasaki et al. (2005) obteve um aumento de 46% para 70% na taxa de regeneração de brotos micropropagados a partir de bases foliares de abacaxi, ao utilizarem 8mM de glutamina, o que indica que o uso de glutamina favorece a aquisição de competência à organogênese dos explante foliares, podendo ser um ótimo instrumento para trabalhos futuros com *Orthophytum mucugense*.



**Figura1.** Brotos micropropagados de *Orthophytum mucugense* a partir dos explantes folha (A) e rizoma (B). (Barra = 1cm)

A partir da análise anatômica mostrada nas figuras 2A e 2B foi possível confirmar a ocorrência de organogênese direta pela junção existente entre o tecido de origem e o broto em formação. Não ocorreu desdiferenciação do explante, com a passagem pela fase de calo antes da formação do broto, o que classificaria o processo como organogênese indireta (PERES, 2002).



**Figura 2.** Anatomia da organogênese direta de *O. mucugense* nos explantes folha (A) e rizoma (B).

A raiz não apresentou competência organogenética como pode ser observado na tabela 1. Apesar de possuir tecidos meristemáticos nos ápices e no periciclo algumas raízes apresentam extrema determinação, sendo difícil a formação de gemas caulinares (PERES, 2002).

A utilização do explante rizoma retirados de plântulas com 40 dias de idade proporcionou os melhores resultados para % de explantes responsivos e nº de brotos por explantes, independente da concentração de regulador utilizada (Tabela 2), o que demonstra a importância da idade do explante na indução de organogênese em *O. mucugense*.



Tabela 2. Indução de morfogênese em *O. mucugense* a partir do explante rizoma em diferentes idades de desenvolvimento em meio suplementado com diferentes concentrações de ANA.

ANA ( $\mu$ M)	Idade do explante (dias)		
	20	40	60
	% de explantes responsivos		
0,65	55,00A <sup>w</sup> b <sup>z</sup>	55,00Aa	33,33Aa
1,3	48,33Aa	56,67Aa	25,00Aa
	Nº de brotos/explante		
0,65	1,02Aa	1,25Aa	1,37Ba
1,3	0,45Aab	1,20Ab	0,38Aa
	Comprimento dos brotos		
0,65	4,62Ab	7,80Aa	4,15Ab
1,3	4,15Aab	5,99Aa	3,69Ab

<sup>w</sup> Média seguida pela mesma letra maiúsculas na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

<sup>z</sup> - Média seguida pela mesma letra minúsculas na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

## CONCLUSÃO

O rizoma retirado de plântulas com 40 dias demonstrou ser a melhor fonte de explante para a organogênese direta de *Orthophytum mucugense*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLINTANI, Moema Cortizo. **Estudos da propagação *in vitro* e *ex vitro* de *Neoregelia mucugensis* Leme, *Orthophytum mucugense* Wand e *Conceição* e *Orthophytum albopictum* Philcox, espécies de Bromeliaceae endêmicas da Bahia**. Tese de doutorado – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2006.

CARNEIRO, L. A.; MANSUR, E. Contribuição de metodologias *in vitro* para a conservação de Bromeliaceae. **Vidalia** v.2, n.1, p. 12- 20, 2004.

DROSTE, A.; SILVA, A.M.; MATOS, A. V.; ALMEIDA, J. W. *In vitro* culture of *Vriesea gigantea* and *Vriesea philippocoburgii*: two vulnerable bromeliads native to southern Brazil. **Brazilian Archives of biology and Technology** v.48, n.5, p. 717-722, 2005.

HAMASAKI, Regina M; PURGATTO, Eduardo & MERCIER, Helenice. Glutamine enhances competence for organogenesis in pineapple leaves cultivated *in vitro*. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.17,n.4, p.383-389, 2005.

LEME, E.M.C., Canistropsis - **Bromélias da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Salamandra, 143p, 1998.

MERCIER, Helenice & NIEVOLA, Catarina C. Obtenção de bromélias *in vitro* como estratégias de preservação. **Vidalia**, v.1, n.1,p.57-62, 2003.

PERES, L. E. P. Bases Fisiológicas e Genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. **Biotechnology Ciências & Desenvolvimento** n.25, p. 44-48. 2002.

PINTO, J.E.B.P., ARELLO, E.F., PINTO, C. A. B. P., BARBOSA, M.H.P. Uso de Explantes e Concentrações de Benzilaminopurina na Multiplicação in Vitro de brotos de *Kielmeyera coriacea*. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v 29, n.6, p.867-873. Jun. 1994

WANDERLEY, Maria das Graças Lapa & CONCEIÇÃO, Abel Augusto. Notas Taxonômicas e uma nova espécie do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus** Série Ciências Biológicas, v. 6, n. 1, p.3-8, 2006.

PALAVRAS-CHAVE:

*Orthophytum mucugense*; Bromeliaceae; Organogênese direta.

## Indução de calos embriogênicos em *Heliconia rostrata*.

Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>1</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>2</sup>; Fernanda Duarte Vidigal Souza<sup>1</sup>; Lucymeire Souza Morais Lino<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, C.P. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br; <sup>2</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; <sup>3</sup>Doutaranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), 44031-460, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3224-8132, e-mail: lsmorais@yahoo.com.br;

## INTRODUÇÃO

A acentuada procura por helicônias, principalmente por parte do mercado externo tem colocado o cultivo desse gênero de plantas em posição de destaque, dentre as atividades desenvolvidas no ramo da floricultura. A *Heliconia rostrata* apresenta inflorescência pendente e encontra-se entre as cultivares mais comercializadas para paisagismo e para flor de corte.

As helicônias podem ser multiplicadas tanto por meio de sementes como por divisão de rizomas. A obtenção de plantas por semente é um processo lento e difícil, enquanto que a propagação por divisão do rizoma pode favorecer a disseminação e acúmulo de agentes causais de importantes doenças que são transmitidas entre plantios sucessivos, via rizomas contaminados. Dentre essas doenças estão as causadas por fungos de solo (Castro, 1995).

O cultivo de meristemas *in vitro* para a produção de mudas de helicônia apresenta alta incidência de contaminação por bactérias endofíticas. Portanto, a regeneração de plantas a partir de embriões somáticos constitui uma alternativa interessante para a produção em larga escala de mudas de helicônia com elevada qualidade fitossanitária.

Dois padrões básicos de expressão da embriogênese somática são comumente observados *in vitro* (Sharp *et. al*, 1980). O primeiro corresponde ao modelo direto no qual os embriões somáticos originam-se dos tecidos matrizes sem a formação de estágios intermediários de calos. O segundo padrão corresponde ao modelo indireto no qual os embriões somáticos se formam a partir de um tecido intermediário chamado calo, que apresenta células em diferentes estágios de diferenciação e, conseqüentemente com diferentes graus de determinação.

A obtenção de calos embriogênicos depende de diferentes fatores, entre eles encontram-se o genótipo, o tipo de explante e os componentes meio de cultivo (Guerra *et al.*, 1999).

Este trabalho tem por objetivo a adequação de um protocolo para indução de calos embriogênicos em *H. rostrata*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados embriões zigóticos maduros de *H. rostrata*. Os frutos maduros foram lavados com detergente em água corrente para extração das sementes. Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram desinfestadas com etanol a 70% por 2 minutos, seguidas pela imersão solução de hipoclorito de sódio a 50% e 10 gotas L<sup>-1</sup> de Tween 20 durante 15 minutos. Logo após, enxaguados três vezes com água destilada estéril.

Os embriões foram excisados por uma leve pressão na região da radícula das sementes, com o auxílio de uma pinça, e colocados em meios de cultura.

Os meios utilizados para indução de embriogênese somática foram: MS (Murashige & Skoog 1962), suplementado com 3% de sacarose, e diferentes concentrações de Picloran e 2,4D (ácido diclorofenilacetico); e GD (Gresshoff & Doy, 1974), suplementado com 2% de

sacarose, 8 mg L<sup>-1</sup> de Picloran. Os meios foram solidificados com 0,7% de ágar e pH ajustado com 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos.

Os embriões foram inoculados em placas de Petri contendo 15 mL de meio de cultura nos diversos tratamentos: T01 - MS + 2 mg L<sup>-1</sup> de Picloran; T02 - MS + 4 mg L<sup>-1</sup> de Picloran; T03 - MS + 8 mg L<sup>-1</sup> de Picloran; T04 - MS + 2 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; T05 - MS + 4 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; T06 - MS + 8 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; e T07 - GD + 8 mg L<sup>-1</sup> de Picloran.

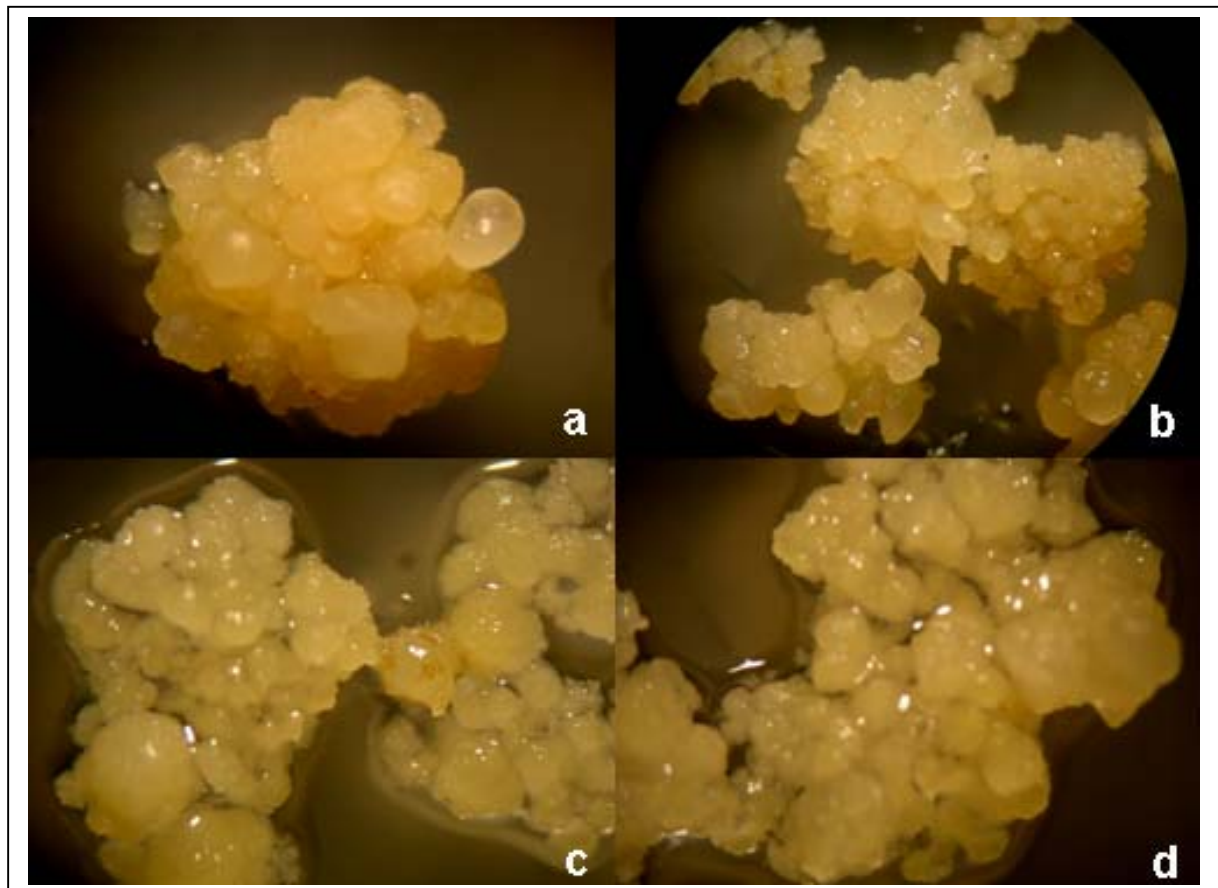
Os embriões foram mantidos no escuro a temperatura de 27±1°C. A avaliação foi feita 120 dias após a inoculação, com base nas observações visuais de características qualitativas, com o auxílio de um estereomicroscópio.

O ensaio experimental foi feito com 10 repetições nos diferentes meios de cultura.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 120 dias de cultivo, a formação de calos embriogênicos foi observada apenas no meio MS contendo 4 mg L<sup>-1</sup> e 8 mg L<sup>-1</sup> de Picloran (Figura 1a-b), em 20% e 100% dos explantes, respectivamente. No tratamento onde se utilizou o meio GD com 8 mg L<sup>-1</sup> houve a formação de calos não embriogênicos (Figura 1c-d). Nos demais tratamentos foi observada a ocorrência de oxidação dos explantes.

A presença de 2,4-D no meio de cultura não teve um efeito positivo com relação à indução de calos em *H. rostrata*. Resultados semelhantes foram obtidos por Ulisses et al. (2005) em *H. bihai*, durante 90 dias de cultivo, onde o desenvolvimento de embriões somáticos ocorreu apenas em embriões zigóticos derivados de frutos maduros cultivados na ausência do regulador de crescimento 2,4-D.



**Figura 1.** Embriogênese somática em *H. rostrata*, induzida em diferentes meios de cultura: a, b) Meio MS + 8 mg L<sup>-1</sup> de Picloran; c, d) GD + 8 mg L<sup>-1</sup> de Picloran.

Os resultados obtidos são promissores e mostram a viabilidade do uso desta técnica em programas de conservação e multiplicação destas cultivares. No entanto, novos trabalhos devem ser realizados no sentido de aprimorar essa técnica partindo-se dos resultados encontrados nesse trabalho, visando a regeneração de plantas

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C.E.F. de. Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: Embrapa - SPI, **Série Publicações Técnicas Frupex**, 16. 1995. 44p.

GRESSHOFF, P.M.; DOY, C.H. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). **Planta**, v.107, p.161-170, 1972.

GUERRA, M.P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. 1999. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: Torres AC; Caldas LS; Buso JA. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 533-568.

MURASHIGE, T. & SKOOG., F.; **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. *Physiologia Plantum*, 1962, p. 473-97.

SHARP, W. R., EVANS, D.A., SONDAHL, M.R. **Application of somatic embryogenesis to crop improvement**. In: FUJIWARA, A. (Ed.). *Plant Tissue Culture*. Tokio, Maruzen. p. 759-762, 1982.

ULISSES, C.; CAMARA, T.R.; FLAVIA, G.; WILLADINO, L.; BRITO, J. Z. Somatic embryogenesis in *Heliconia bihai* from zygotic embryos. In: **XII Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal**, 2005. CDRom

## PALAVRAS-CHAVE

*Heliconia rostrata*, embrião somático, cultura de tecidos.

## Micropropagação de *Gerbera* através de capítulos florais.

Raquel D. L. Cardoso<sup>1</sup>; Lizete Augustin<sup>2</sup>; Marilei Suzin<sup>3</sup>; Magali Ferrari Grando<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (FAMV/UPF), BR285, Campus I, Bairro São José, C. Postal 611, 99001-070 Passo Fundo – RS. E-mail: raqueldlcardoso@bol.com.br;

<sup>2</sup> Professoras da FAMV/UPF, E-mails: augustin@upf.br, magali@upf.br; <sup>3</sup> Assistente de laboratório, FAMV/UPF, E-mail: suzin@upf.br.

A gérbera (*Gerbera* spp.) pertence à Família Asteraceae, cuja inflorescência típica é o capítulo. Nessa espécie, os capítulos são formados por flores vistosas, que variam quanto à forma da corola, sexualidade, simetria, fusão de órgãos e pigmentação.

A propagação da gérbera pode ser realizada por sementes. Porém, esse método proporciona uma grande variabilidade devido à segregação genética, provocando a perda de características de interesse comercial. Em decorrência do grande mercado para gérbera, a micropropagação surge como uma técnica eficiente de propagação, por permitir obter um maior número de plantas em um curto espaço de tempo, com um alto padrão genético e fitossanitário. Além disso, possibilita manipular e programar a cultura para o uso racional das estufas, uma vez que a produção independe da estação do ano. Essa técnica também contribui para a redução do número de plantas matrizes necessárias para a produção de novas plantas e facilita o intercâmbio de material entre países. Estudos sobre a micropropagação de gérbera vêm sendo realizados nos últimos anos buscando o estabelecimento de protocolos adequados. Para isto vários meios de cultura e diferentes explantes vêm sendo testados, como ápices (Huang & Chu, 1985), ápices de rizoma (Severin et al., 2000), capítulos jovens e pequenos explantes (Severin et al., 2000), folhas (Jerzy & Lubomski, 1991; Reynoird et al., 1993), inflorescência (Pierik et al., 1973; Preil et al., 1977; Severin et al., 2000) e óvulos (Miyoski & Asakura, 1996; Tosca et al., 1999). Porém, ainda não foram obtidos resultados muito satisfatórios. O trabalho objetivou avaliar a possibilidade de micropropagar gérbera através de capítulos jovens e primórdios de capítulo.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Passo Fundo (RS). Para este trabalho foram utilizadas como fonte doadoras de explante, capítulos jovens de gérbera para corte, das cultivares Solemio (GC1) (flores de cor amarela) e Pink Elegance (GC2) (flores de cor rosa), provenientes da Cooperativa Agrária Mista de Entre Rios/PR. Foram utilizados 12 capítulos de cada cultivar, os quais foram fotografados e classificados em três grupos, conforme seu diâmetro: DA= 2 à 2,5 cm; DB= 2,6 à 3,0 cm e DC= mais de 3cm de diâmetro. Após a classificação os capítulos foram submetidos a assepsia por imersão em álcool 70% (2 minutos) e em solução de hipoclorito de sódio (1,5% de cloro ativo) + 0,01ml.L<sup>-1</sup> de Tween-20 (20 minutos), seguindo-se de enxágües com água destilada e esterilizada. Após a assepsia, as brácteas involucrais mais externas foram retiradas e as mais internas apenas cortadas. Os capítulos foram seccionados em 10 pedaços e inoculados em dois meios de isolamento: MI1: 1/2 dos sais do meio MS com 1,5 vezes a concentração de FeEDTA (55,95 mg.L<sup>-1</sup>) + 80 mg.L<sup>-1</sup> de sulfato de adenina + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de AIA + 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 10 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar; MI2: Macroelementos e NaEDTA + FeSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O do meio MS + Microelementos de Heller (1953) (exceto FeCl<sub>3</sub>) + 25 mg.L<sup>-1</sup> de NaFeEDTA + 10 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar.

O experimento constituiu-se de um fatorial 2x3x2 (genótipo x diâmetro do capítulo x meio de cultura), com 10 repetições, dispostos em delineamento completamente casualizado. A unidade experimental foi constituída por um tubo de ensaio com dois explantes, os quais foram deixados no escuro, em câmara de crescimento, com temperatura de 25 ± 1°C por 15 dias e após expostos à luz com um fotoperíodo de 12 horas luz/escuro, sendo subcultivados a cada 30 dias para meio fresco. As variáveis analisadas foram: intensidade de oxidação aos 15 dias de cultivo, através de escala de notas, onde: 1=

ausência de oxidação; 2= coloração amarelada no meio de cultura; 3= coloração marrom claro no meio de cultura e 4= coloração marrom escura no meio de cultura. Também avaliou-se o número de explantes contaminados e oxidados após 15 e 30 dias de cultivo *in vitro*. O desenvolvimento dos explantes foi avaliado através de escala de notas aos 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo, onde: 1= explante verde; 2= peças florais de tamanho aumentado (flores entumescidas); 3= formação de calos; 4= calos com embrióides e/ou meristemóides. Os dados referentes à nota de oxidação aos 15 dias e notas de desenvolvimento aos 30 e 60 dias foram submetidos à análise de variância sendo as médias comparadas por Tukey a 5%.

Quando se observou a formação de calos com embrióides e/ou meristemóides nos explantes, os mesmos foram transferidos para meio de multiplicação descrito por Radice & Marconi (1998) o qual consiste de : MM1= 1/2 dos sais do MS = 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de IBA (ácido indobutírico) + 0,75 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (benzilaminopurina) + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> (ácido giberélico) + 100 mg.L<sup>-1</sup> de Myo inositol + 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de glicina + 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de tiamina HCL + 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose + 7,0 g.L<sup>-1</sup> de ágar. Nesta fase a unidade experimental foi constituída por um frasco com 4 explantes, sendo avaliado o número de explantes contaminados e necrosados (expressos em percentagem) a cada 30 dias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados referentes ao grau de oxidação (nota) atribuído aos explantes aos 15 dias de cultivo, mostrou que a interação entre os fatores genótipo x diâmetro do capítulo x meio de cultura teve efeito significativo ( $p=0,0085$ )(Tabela 1). No desmembramento desta interação, quando foi analisado a influência da interação dos fatores diâmetro de capítulos x meio de cultura, observou-se que: para o genótipo GC1 não houve diferenças entre as média do grau de oxidação, quando capítulos de diferentes diâmetros foram inoculados nos meios MI1 e MI2. No entanto, o grau de oxidação encontrado, para este genótipo (GC1), tanto no meio MI1 quanto no meio MI2, foi menor quando capítulos de menor diâmetro (DA) foram cultivados. Para o genótipo GC2, o grau de oxidação apresentado pelos capítulos de diâmetro DA foi maior no meio MI1. Já os capítulos com diâmetro DB e DC não variaram quanto ao grau de oxidação se cultivados nos meios MI1 e MI2. Em relação ao grau de oxidação expresso pelos meios de cultura, foi observado que, no meio MI1, o maior grau de oxidação foi observado quando capítulos de diâmetro DA e DC foram cultivados. No meio MI2 não foi observado diferença entre as médias do grau de oxidação entre os diferentes diâmetros de capítulo. Considerando o comportamento dos genótipos GC1 e GC2 nos diferentes meios de cultura, foi observado que o primeiro, quando comparado com o segundo, apresentou maior grau de oxidação em ambos os meios (MI1 e MI2).

**Tabela 1.** Médias de notas de oxidação observadas em capítulos de diferentes diâmetros (DA, DB, DC) de dois genótipos de gérbera (GC1 e GC2) cultivados em dois meios de cultura (MI1 e MI2)

DIÂMETRO DO CAPÍTULO	GENÓTIPO (GC1)		GENÓTIPO (GC2)	
	MI1	MI2	MI1	MI2
DA	1,70 A b	* 2,00 A b	1,80 A a	1,00 B a
DB	* 2,90 A a	* 2,33 A ab	1,00 A b	1,00 A a
DC	* 3,60 A a	* 3,18 A a	1,30 A ab	1,10 A a

Médias seguidas de mesma letra maiúscula e minúscula, não diferem na linha e coluna, respectivamente. O asterisco (\*) indica significância na comparação dos genótipos dentro do mesmo nível do fator meio e do fator diâmetro.

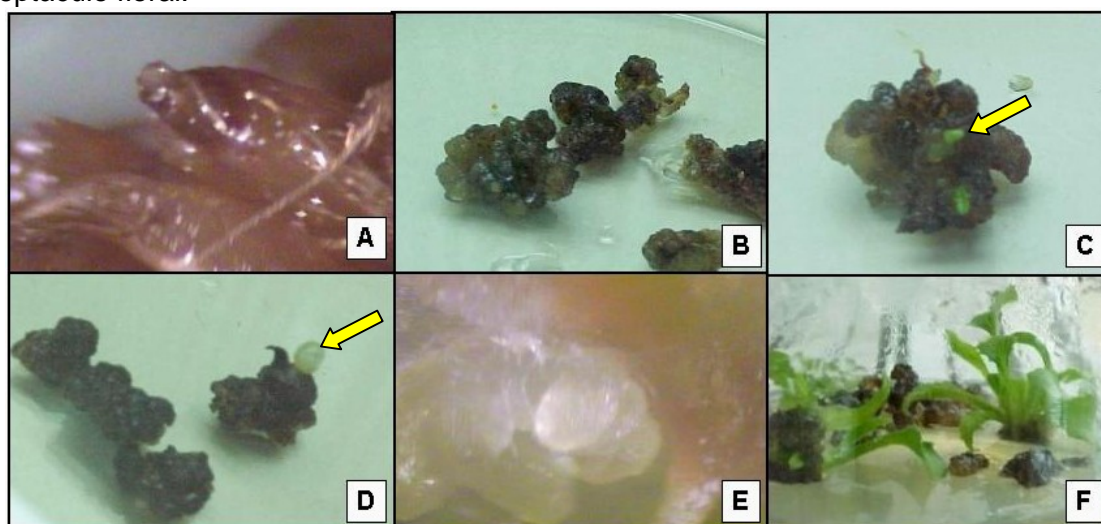
Aos 15 dias de cultivo a porcentagem de contaminação e oxidação observada no genótipo GC1 foi de zero e 83,3%, respectivamente. Já para o genótipo GC2 observou-se 8,3% de contaminação e 15% de oxidação. Estas taxas foram observadas sem levar em consideração o meio de cultura utilizado. As altas taxas de oxidação podem estar relacionadas com a liberação de certas substâncias pela planta no meio. Segundo George

(1993) muitos tecidos vegetais, quando seccionados, liberam certas substâncias como as fitoalexinas, fitoantipicinas e compostos fenólicos que tornam o meio oxidado, além destas substâncias apresentarem atividades antimicrobianas.

Aos 30 dias observou-se uma alta taxa de explantes necrosados em ambos os genótipos quando cultivados no meio de cultura MI2 (65% no genótipo GC1 e 57% no genótipo GC2), o que pode ter sido ocasionado pela falta de reguladores e inadequada absorção de nutrientes do meio de cultura. De acordo com George (1993) a necrose em cultivo de tecidos pode ocorrer por vários fatores como o acúmulo de substância fenólica, meio com ausência de reguladores, inadequada absorção dos nutrientes do meio pelo explante ou pela não translocação destes, devido a alta umidade que limita a transpiração e consequentemente a translocação via xilema.

Em todos os tratamentos, após os 30 dias, foi observado inicialmente o entumescimento dos explantes, principalmente da parte floral, o que também foi observado por Radice & Marconi (1998) e Arello *et al.* (1991) ao micropropagarem gérbera por capítulos florais. Tais flores entumescidas em poucos dias oxidavam e quando manipulados se soltavam. Ao mesmo tempo, os explantes provenientes dos capítulos de tamanho DA começaram a formar calos inicialmente escuros, oxidados que, com o tempo, tornaram-se verdes. Observou-se também uma diferença do tempo necessário para o desenvolvimento de estruturas nos genótipos utilizados, sendo que o GC1 teve um desenvolvimento mais rápido quando comparado ao GC2. Pierik *et al.* (1982) e Arello *et al.* (1991), relatam o efeito do genótipo no comportamento morfogenético *in vitro*, enfatizando a formação de vários tipos de calos conforme o genótipo utilizado. As estruturas descritas podem ser visualizadas na Figura 1.

Dentre as combinações de genótipo x meio de cultura x diâmetro do capítulo utilizadas, a combinação GC1, MI1 e DA foi a que proporcionou regeneração de brotação (Figura 1). Tal regeneração foi obtida aos 120 dias, e provavelmente originaram-se das zonas meristemáticas axiais das brácteas involucrais, fato que vem confirmar o que foi observado por Radice & Marconi (1998) ao micropropagarem gérberas através de capítulos florais. Estes observaram a existência de zonas meristemáticas nas axilas das brácteas involucrais, em cortes longitudinais realizados em capítulos de gérbera. Porém, segundo Arello *et al.* (1991) e Laliberté *et al.* (1985) tais brotações podem também ter se originado da reorganização tanto de tecidos meristemáticos das inflorescências como do tecido do receptáculo floral.



**Figura 1.** Diferentes estruturas formadas por explantes de gérbera dos genótipos GC1 e GC2: A) Flores entumescidas; B) Calos; C) Calo com meristemóide (seta); D) Calo com embrióide (seta); E) Calos embriogênicos; F) Brotações regeneradas do genótipo GC1 no meio MI1.

Os melhores resultados para a regeneração de gérbera através de capítulos jovens foram obtidos quando utilizou-se o genótipo de corte Solemio (GC1), capítulos com diâmetro entre 2,0 e 2,5 cm (DA) e meio MI1.



Os resultados encontrados neste trabalho reforçam que a micropropagação de gérbera a partir de capítulos florais é possível, porém é um processo lento e que oferece baixas taxas de regeneração sendo necessário realizar mais estudos para encontrar um protocolo que possibilite maior eficiência na micropropagação de gérbera.

#### LITERATURA CITADA

ARELLO, E. F.; PASQUAL, M.; PINTO, J. E. B. P.; BARBOSA, M. H. P. Estabelecimento *in vitro* de explantes e regeneração de plântulas de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook em cultura de tecidos. **Pesq. agropec. Bras**, Brasília, v.26, n.2, p. 269-273, fev. 1991.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: in practice**. Part. II. England: Exegetics, 1993. 1361p.

HELLER, R. Recherche sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. **Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg.** 11<sup>th</sup> Ser., v.14, p. 1-223, 1953.

HUANG, M. C.; CHU, C. A scheme for commercial multiplication of Gerbera (*Gerbera* híbrida Hort.) through shoot tip culture. s.n.t., 1985.

JERZY, M.; LUBOMSKI, M. Adventitious shoot formation on ex vitro derived leaf explants of *Gerbera jamesonii*. **Scientia Horticulturae**, s.l., v. 47, p. 115-124, 1991.

MIYOSHI, K.; ASAKURA, N. Callus induction, regeneration of haploid plant and chromosome doubling in ovule cultures of gerbera (*Gerbera jamesonii*). **Plant Cell Report**, s.l., v. 16, p.1-5, 1996.

PIERIK, R. L. M.; STEGMANS, M.H.; MARELIS, J. J. Gerbera plantlets from in vitro cultivated capitulum explants. **Sci.Hort.**, s.l., v. 1, p. 117-119, 1973.

PREIL, W.; HUNKE, W.; ENGELHARDT, M.; HOFFMANN, M. Haploide bei *Gerbera jamesonii* aus in vitro-Kulturen von Blütenköpfchen. **Z. Pflanzenzüchtg**, s.l.,v. 79, p. 167-171, 1977.

RADICE, S., MARCONI, P. L. Clonación in vitro de diversos cultivares de *Gerbera jamesonii* a partir de capítulos florales. **Revista de la facultad de Agronomía**, La Plata, v. 103, n. 2, p.111-118, 1998.

REYNOIRD, J. P.; CHRIQUI, D.; NOIN, M.; BROWN, S. Plant regeneration from in vitro leaf culture of several Gerbera species. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, s. l., v. 33, p.203-210, 1993.

SEVERIN, C.; GONZALEZ, M.; MURRAY, R. Micropropagación de *Gerbera* spp. a partir de diferentes explantes. **Revista FAVE**, Argentina, v. 14, n. 1, p. 67-71, 2000.

TOSCA, A., ARCARA, L.; FRANGI, P. Effects of genotype and season on gynogenesis efficiency in Gerbera. **Plant Cell, Tissue and Organ**, Italy, v. 59, n.1, p. 77-80, 1999. Resumo n. 262444 em Kluwer Academic Publishers. Disponível em: [www.kluweronline.com](http://www.kluweronline.com)

**Palavras-chave:** *Gerbera* sp, cultura de tecidos vegetais, propagação vegetativa.

**Agradecimento:** À Cooperativa Agrária Mista de Entre Rios (PR) pela doação dos genótipos de gérbera utilizados neste experimento.

## Formação de calo em explantes foliares de *Cattleya schilleriana* (ORCHIDACEAE) *in vitro*.

Cristine Luciana de Souza Rescarolli<sup>1</sup>; Tatiane Micheletti Ribeiro Silva<sup>2</sup>; Gilmar Roberto Zaffari<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica de Ciências Biológicas – ênfase em Biotecnologia da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Itajaí, Santa Catarina. (47)3341-7949, e-mail: [cristine.bio@gmail.com](mailto:cristine.bio@gmail.com); <sup>2</sup> Acadêmica de Ciências Biológicas – ênfase em Biotecnologia da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Itajaí, Santa Catarina (47)3341-7949, e-mail: [tati\\_micheletti@yahoo.com.br](mailto:tati_micheletti@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador Responsável pelo Laboratório de Cultivo Celular, CTTMar, bloco 20, UNIVALI, Itajaí, Santa Catarina. (47)3341-7949, e-mail: [zaffari@univali.br](mailto:zaffari@univali.br)

A família Orchidaceae tem ocorrência em todo o mundo, porém o maior número de gêneros ocorre nas regiões tropicais, onde predominam as formas epífitas e rupícolas. *Cattleya sicllleriana* Reichback é uma orquídea epífita de pequeno porte, endêmica do estado do Espírito Santo, restrita basicamente a Bacia do Rio Jucu, em uma altitude que varia de 200 à 800m. É uma espécie muito procurada por extrativismo, pois suas flores são muito apreciadas por colecionadores. Por esse motivo e pela destruição da Mata Atlântica, ela está entre as nove espécies de orquídeas Brasileiras ameaçadas de extinção segundo o IBAMA. Com a finalidade de obtenção de propágulos *in vitro* para conservação dessa espécie, foram utilizados cortes de folhas de uma planta matriz e realizada uma pré-asepsia com lavagem em detergente por duas vezes, seguida de imersão em solução desinfestante contendo benlate, manzate e estreptomina com três gotas de detergente e sob agitação durante 80 minutos. As folhas foram levadas para a câmara de fluxo e submetidas a um processo de asepsia iniciado por imersão em etanol 70% por 4,5 minutos, seguido de duas lavagens em água esterilizada. Posteriormente realizou-se uma imersão em hipoclorito de sódio 1,2% durante 20 minutos e duas lavagens em água esterilizada. Após esse processo, as folhas foram inoculadas em diferentes meios de cultura, sendo que o explante inoculado em meio sólido Knudson C modificado e complementado com 3mg/L de KIN, 3mg/L de BAP e 2mg/L de 2,4-D iniciou o processo de formação e desenvolvimento de calo em aproximadamente 45 dias após a inoculação.

### PALAVRAS-CHAVES

*Cattleya sicllleriana*; Orchidaceae; asepsia; cultivo *in vitro*; formação de calo.

## Efeito de diferentes auxinas e de giberelina na indução de brotos estiolados *in vitro* de abacaxi Imperial para propagação clonal por segmentos nodais.

Santos, Micaele da Costa<sup>1</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>2</sup>; Copati, Luiz Augusto Souza<sup>3</sup>; Lédo, Ana da Silva<sup>4</sup>; Siqueira, Sammara Cristhiane Almeida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bolsista do Deagro/Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, fone (79) 3219 1144, e-mail: [micacostal@hotmail.com](mailto:micacostal@hotmail.com); <sup>2</sup>Pesquisadora do Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, SE, fone (79) 4009 1362, e-mail: [sarah@cpatc.embrapa.com.br](mailto:sarah@cpatc.embrapa.com.br); <sup>3</sup>e-mail: [luizcopati@uol.com.br](mailto:luizcopati@uol.com.br), fone (61) 3383 1832; <sup>4</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: [analedo@cpatc.embrapa.br](mailto:analedo@cpatc.embrapa.br).

As variedades de abacaxizeiro utilizadas em plantios comerciais no Brasil são susceptíveis a fusariose. O abacaxi Imperial é uma cultivar que foi desenvolvida pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, resistente a fusariose, e sendo esta doença responsável por elevadas perdas na produção, a utilização de genótipos resistentes é de grande importância para o sucesso da cultura. A micropropagação de novos materiais utilizando segmentos nodais é citada como uma das técnicas da cultura de tecidos de plantas que reduzem o aparecimento de variantes durante a multiplicação *in vitro*. Este trabalho teve o objetivo de contribuir para a otimização de um protocolo de micropropagação por meio de secções nodais estioladas. Caules de brotos de abacaxi Imperial com 5 a 7 cm de comprimento de parte aérea, desenvolvidas *in vitro* a partir de gemas axilares foram utilizados como explantes. O meio de cultura básico foi o MS, gelificado com agar a 7 g.L<sup>-1</sup>, pH ajustado para 5,8 e autoclavado por 15 minutos a 120°C. O delineamento foi inteiramente ao acaso com seis tratamentos (sem fitorregulador; ácido naftaleno acético (ANA) 1,86 mg.L<sup>-1</sup>; ácido indolacético (AIA) 1,75 mg.L<sup>-1</sup>; ácido indolbutírico (AIB) 2,03 mg.L<sup>-1</sup>; ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) 1,73 mg.L<sup>-1</sup>; GA<sub>3</sub> 0,86 mg.L<sup>-1</sup>) e três repetições com cinco explantes por repetição. A manipulação dos explantes ocorreu em condições assépticas e a inoculação feita em tubos de ensaio envoltos em papel alumínio e mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C. Foram avaliados: número de brotos estiolados por explante, comprimento de brotos e número de nós por broto. Aos 30 dias de cultivo o número de brotos estiolados por explante variou de 1,21 a 2,0 e o comprimento de brotos de 2,02 a 2,82, não mostrando diferença significativa entre os tratamentos para cada variável avaliada. No mesmo período, em meio de cultura sem fitorregulador e em presença de ANA 1,86 mg.L<sup>-1</sup> e GA<sub>3</sub> 1,73 mg.L<sup>-1</sup> obteve-se maior número de nós por broto. Aos 60 dias de cultivo o comprimento médio de brotos (5,13 cm) e o número médio de nós por brotos (4,0) foram superiores em todos os tratamentos quando comparado àqueles obtidos aos 30 dias. Em meio de cultura MS acrescido de GA<sub>3</sub> 0,86 mg.L<sup>-1</sup>, aos 60 dias de cultivo, obtém-se melhores resultados para o estiolamento *in vitro* de abacaxi Imperial.

### PALAVRAS-CHAVES

*Ananas comosus*; cultivo *in vitro*; regulador de crescimento; secções nodais

## **Estimativa da taxa de multiplicação de brotos em secções caulinares de uma nova cultivar de abacaxi, no primeiro ciclo de estiolamento e proliferação de gemas *in vitro*.**

Santos, Micaele da Costa<sup>1</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>2</sup>; Viegas, Pedro Roberto Almeida<sup>3</sup>; Copati, Luiz Augusto Souza<sup>4</sup>; Ledo, Ana da Silva<sup>5</sup>; Leite, Nadjma Souza<sup>1</sup>; Souza, Roberto Rodrigues de<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista do Deagro/Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, fone (79)32191144, e-mail: micacostal@hotmail.com; nadjmasouza@hotmail.com <sup>2</sup>Pesq Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, CP 44, CEP 49025-040, Aracaju, SE, fone (79)40091362, e-mail: sarah@cpatc.embrapa.com.br; <sup>3</sup>Prof. UFS, fone (79)32126929, e-mail:pviegas@ufs.br; rrsouza@ufs.br; <sup>4</sup>e-mail: luizcopati@uol.com.br, fone (61)33831832; <sup>5</sup>Pesq da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: analedo@cpatc.embrapa.br

### **INTRODUÇÃO**

O abacaxi Imperial é uma cultivar nova que apresenta resistência a fusariose, principal doença da cultura, tendo evidenciado bom desempenho agrônômico em três ciclos de produção. É resultante do cruzamento do abacaxi Perolera com o Smooth Cayenne (Cabral & Matos, 2005).

Na propagação clonal *in vitro* a proliferação de gemas axilares e formação de gemas adventícias na base do explante ocorrem simultaneamente e são desejáveis desde que a formação de calo seja mínima. A utilização de secções nodais estioladas para micropropagação e conservação da estabilidade genética foi demonstrada para algumas culturas (Kiss, et al., 1995). O método tem a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, impedindo a formação de calo e com isso é possível que proporcione menores taxas de variabilidade que outros protocolos mais convencionais. A técnica é uma alternativa para a produção rápida de mudas de novas cultivares.

Pesquisas relacionadas a métodos de propagação que possibilitem a multiplicação rápida com menores taxas de variabilidade genética são de grande importância para a produção de mudas de novos materiais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes fitorreguladores na indução de gemas e na taxa de multiplicação de brotos em secções nodais estioladas, para a propagação clonal de uma nova cultivar de abacaxi.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa/CPATC, em Aracaju, SE. Em condições assépticas segmentos nodais estiolados *in vitro* da cultivar Imperial, após serem retiradas as raízes e o meristema apical, foram colocados em meio de cultura MS, gelificado com 7 mg.L<sup>-1</sup> de agar, pH a 5,8 e autoclavado por 15 minutos a 120°C. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2°C.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com oito tratamentos (sem fitorregulador; benzilaminopurina (BAP) 1,0 mg.L<sup>-1</sup>; BAP 2,0 mg.L<sup>-1</sup>; BAP 1,0 mg.L<sup>-1</sup> + ácido naftaleno acético (ANA) 0,93 mg.L<sup>-1</sup>; BAP a 2,0 mg.L<sup>-1</sup> + ANA 1,86 mg.L<sup>-1</sup>; cinetina (CIN) 5,4 mg.L<sup>-1</sup>; CIN 7,5 mg.L<sup>-1</sup> e CIN a 9,7 mg.L<sup>-1</sup>) e sete repetições, com três brotos estiolados por repetição.

Aos 30 e 60 dias após inoculação foi avaliado o número de nós que apresentavam proliferação gemas. Após a última avaliação, todo material foi transferido para meio MS sem regulador de crescimento para alongamento dos brotos, mantendo-se a informação do tratamento onde ocorreu proliferação de gemas. Aos 50 dias procedeu-se a avaliação da taxa de multiplicação por nó e por secção estiolada, no primeiro ciclo de cultivo (estiolamento, proliferação e alongamento de brotos em secções nodais - seis meses).

Tomando por base o número de brotos obtidos em cada tratamento, no final do primeiro ciclo, foi calculado o número teórico de mudas que seriam produzidas por explante inicial (broto desenvolvido de gema axilar) e por muda do tipo filhote. Em cada muda filhote foram retiradas, em média, 13 gemas axilares.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em cada segmento nodal estiolado, o número de nós que proliferaram gemas variou dentro e entre tratamentos, aos 30 e 60 dias após inoculação (Tabela 1). Gemas axilares podem não apresentar a mesma razão de multiplicação *in vitro*; enquanto algumas gemas apresentam maior e mais rápido potencial de multiplicação, outras têm potencial de multiplicação mais lento (Grattapaglia & Machado, 1998). A dificuldade em quebrar a dominância apical dos brotos estiolados para indução de gemas foi observada por Moreira et al. (2003) que propõem a individualização de cada nó.

Tabela 1 – Efeito de diferentes tratamentos na proliferação de gemas em segmentos nodais estiolados de abacaxi Imperial, aos 30 e 60 dias após inoculação <sup>(1)</sup>

Tratamentos para Proliferação de Gemas	Número de nós com proliferação de gemas	
	Aos 30 dias	Aos 60 dias
Sem fitorregulador	1,0 d	1,7 c
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup>	2,1 bc	2,8 bc
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup>	2,6 ab	3,0 b
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 0,93 mg.L <sup>-1</sup>	2,6 ab	3,0 b
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 1,86 mg.L <sup>-1</sup>	3,2 a	4,0 a
CIN 5,4 mg.L <sup>-1</sup>	1,0 d	1,1 d
CIN 7,5 mg.L <sup>-1</sup>	1,7 c	1,9 c
CIN 9,7 mg.L <sup>-1</sup>	1,7 c	2,1 c
CV	27	20

<sup>(1)</sup>Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

O uso de BAP isolado ou combinado com ANA foi eficiente para indução e proliferação de gemas, independente da concentração utilizada. A cinetina foi pouco efetiva obtendo-se, aos 60 dias, resultados estatisticamente iguais aqueles observados em meio de cultura sem fitorregulador (Tabela 1). As taxas de multiplicação por nó e por segmento estiolado foram superiores quando se adicionou BAP isolado ou combinado com ANA (Tabela 2).

Tabela 2 – Taxa de multiplicação média, de abacaxi Imperial, por nó (TMN) e por segmento nodal estiolado (TMS) em diferentes tratamentos para no primeiro ciclo de cultivo.

Tratamentos para Proliferação de Gemas	Taxa de multiplicação	
	TMN	TMS
Sem fitorregulador	0,4 de	2,5 de
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup>	1,3 cd	8,2 cd
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup>	1,7 c	10,9 c
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 0,93 mg.L <sup>-1</sup>	4,1 b	23,0 b
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 1,86 mg.L <sup>-1</sup>	6,9 a	34,0 a
CIN 5,4 mg.L <sup>-1</sup>	0,3 e	1,4 e
CIN 7,5 mg.L <sup>-1</sup>	0,4 de	2,2 de
CIN 9,7 mg.L <sup>-1</sup>	0,4 de	2,2 de
CV	36	35

<sup>(1)</sup>Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

Quando se aumentou as concentrações de BAP e ANA ocorreu a formação de massas de gemas por nó, o que indica a formação de gemas adventícias (Kiss et. al., 1995), proporcionando um incremento nas taxas de multiplicação. Em presença de CIN as taxas de multiplicação por nó e por segmento caulinar estiolado foram bastante reduzidas, não justificando sua utilização para multiplicação da variedade Imperial, nas concentrações utilizadas.

Barboza et. al. (2005) submeteram dois genótipos de abacaxi, a cultivar Smooth Cayenne e o híbrido PE x SC-52, a diferentes combinações de fitorreguladores para multiplicação *in vitro*, utilizando o método de micropropagação convencional e obtiveram variação nas taxas de multiplicação dos genótipos em um mesmo tratamento, sugerindo diferenças genotípicas na resposta à indução morfogenética *in vitro*. A interação entre genótipo e concentração de fitorreguladores presentes no meio de cultura foi observada neste trabalho, obtendo-se ao final do primeiro e segundo ciclo de cultivo (aos 6 e 12 meses, respectivamente) maior número de brotos quando se utilizou BAP 2 mg.L<sup>-1</sup> + ANA 1,86 mg.L<sup>-1</sup> (Tabelas 2 e 3).

Tabela 3 – Brotos que seriam produzidos por gema axilar inicialmente inoculada e por muda do tipo filhote, em cada tratamento, tomando como base a taxa de multiplicação por segmento nodal estiolado.

Tratamentos para Proliferação de Gemas	Rendimento em Brotos	
	Gema Axilar	Muda Filhote
	Aos seis meses (primeiro ciclo)	
Sem fitorregulador	5	65
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup>	16	208
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup>	22	283
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 0,93 mg.L <sup>-1</sup>	46	598
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 1,86 mg.L <sup>-1</sup>	68	884
CIN 5,4 mg.L <sup>-1</sup>	3	36
CIN 7,5 mg.L <sup>-1</sup>	4	57
CIN 9,7 mg.L <sup>-1</sup>	4	57
	Aos doze meses (segundo ciclo)	
Sem fitorregulador	12	162
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup>	134	1.748
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup>	237	3.089
BAP 1 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 0,93 mg.L <sup>-1</sup>	1.058	13.754
BAP 2 mg.L <sup>-1</sup> + ANA 1,86 mg.L <sup>-1</sup>	2.312	30.056
CIN 5,4 mg.L <sup>-1</sup>	4	51
CIN 7,5 mg.L <sup>-1</sup>	10	126
CIN 9,7 mg.L <sup>-1</sup>	10	126

A utilização de ANA 0,93 mg.L<sup>-1</sup> combinado com BAP 1 mg.L<sup>-1</sup> dobrou a taxa de multiplicação e conseqüentemente o número de brotos que seriam obtidos em presença apenas BAP 2 mg.L<sup>-1</sup> (Tabelas 2 e 3). A elevação da concentração de ANA para 1,86 mg.L<sup>-1</sup> e de BAP para 2 mg.L<sup>-1</sup> proporcionou um incremento de aproximadamente 68% em relação aos valores obtidos em menor concentração desses fitorreguladores. Na multiplicação *in vitro* de *Cattleya x mesquitae* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares, Ramos & Carneiro (2007) relatam um aumento de 75% na produção de novos explantes em meio suplementado com BAP 0,5 mg.L<sup>-1</sup> comparativamente aquele em ausência de fitorreguladores.

Estes resultados indicam que segmentos nodais estiolados *in vitro* quando cultivados em presença de diferentes concentrações e reguladores de crescimento apresentam diferentes potenciais de proliferação de gemas e desenvolvimento de brotos. Aplicando-se as taxas de

multiplicação obtidas nos diferentes tratamentos no primeiro ciclo de estiolamento, proliferação de gemas e alongamento de brotos, em mais um ciclo de cultivo, verifica-se que do total de brotos produzidos em todos os tratamentos 61 % foram provenientes do meio suplementado com ANA 1,83 mg.L<sup>-1</sup> + BAP 2 mg.L<sup>-1</sup> (Tabela 3).

Para a produção de mudas *in vitro* em escala comercial os acréscimos obtidos na taxa de multiplicação e no rendimento em brotos são fatores de grande importância para uma tomada de decisão quanto ao tipo e concentração de citocinina a ser utilizada.

## CONCLUSÕES

A taxa de proliferação de gemas por nó e por segmento nodal estiolado *in vitro* de abacaxi Imperial varia em presença de diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento. Em meio de cultura MS suplementado com ANA 1,83 mg.L<sup>-1</sup> + BAP 2 mg.L<sup>-1</sup> obtém-se maior taxa de multiplicação por nó e por segmento estiolado e conseqüentemente maior rendimento em brotos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S.; SOUZA, L. A. C. Micropropagação do abacaxizeiro híbrido PExSC-52 e da cv. Smooth Cayenne. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.8, p. 725-733, ago. 2004.
- CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. Imperial, nova cultivar de abacaxi. **Comunicado Técnico**, 4p. Cruz das Almas, dez. 2005.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C. ; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, Brasília, EMBRAPA-SPI, EMBRAPA-CNPQ, 1998, v.1, p. 183-260.
- MOREIRA, M. A.; PASQUAL, M. ; CARVALHO, J. G. de; FRÁGUAS, C. B. Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n.5, p. 1002-1006, set./out., 2003.
- KISS, J.; HESZKY, L. E. ; KISS, E. ; GYULAI, G. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n.1, p. 127-129, 1995.
- RAMOS, T. V.; CARNEIRO, I. F. Multiplicação *in vitro* de *Cattleya x mesquitae* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n.1, p. 10-15, mar., 2007.

## PALAVRAS-CHAVE

*Ananas comosus*; proliferação de gemas; reguladores de crescimento; cultivo *in vitro*.

## Efeitos do silicato de cálcio e diferentes concentrações do meio de cultura MS no desenvolvimento *in vitro* de gérbera

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>4</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>5</sup>; Silva Junior, Jessé Marques<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>5</sup>Mestrandos em Fisiologia Vegetal (UFLA).

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera jamesonii*) é uma espécie ornamental que apresenta flores com boa durabilidade e uma gama de cores que pode satisfazer os mercados mais exigentes. Nesse contexto, estudos vêm sendo realizados buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial desta espécie.

O uso das técnicas de micropropagação permite que se consiga, em um curto espaço de tempo, grande número de plantas com qualidade superior. O emprego da cultura de tecidos tem sido crescente para a gérbera, tornando-se uma alternativa bastante viável para sua propagação assexual.

As primeiras tentativas nesse sentido foram feitas por Pierik & Segers (1973), na Holanda, estudando os fatores que afetavam a formação de raízes adventícias, utilizando, como explante, nervuras de folhas jovens. Os resultados deste trabalho foram básicos para os posteriores estudos do cultivo *in vitro* de gérbera.

Entre os principais benefícios do Si nas plantas destacam-se: aumento da tolerância ao estresse hídrico, aumento da capacidade fotossintética, redução no acamamento e redução na transpiração (Ma et al., 2001).

O objetivo deste trabalho é pesquisar a eficiência do uso de silicato de cálcio nas plantas de gérbera com objetivo de maior resistência da planta e tentar minimizar o custo com o uso meio nutritivo utilizando concentrações menores dos seus sais.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar cream já estabelecidas foram multiplicadas em meio MS sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>) H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido nicotínico 0,5mg L<sup>-1</sup>) com adição de Mio inositol (10mg L<sup>-1</sup>) e tiamina (1mg L<sup>-1</sup>) e com acréscimo de BAP (6-benzilaminopurina) na concentração de 10mg L<sup>-1</sup>, utilizando como explantes brotações com 2 ou 3 folhas sendo cada frasco inoculado com duas brotações, até obter a quantidade necessária para implementar os experimentos.

Os explantes utilizados foram brotações que apresentavam 2 folhas e mediam entre 4 e 6 cm. O meio de cultura utilizado foi o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com diferentes concentrações (25%, 50%, 75% e 100%) dos seus sais e suplementado com diferentes concentrações (0, 0,25; 0,5; 0,75; 1mg L<sup>-1</sup>) o Silicato de Cálcio (CaSiO<sub>3</sub>) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado em 6 g L<sup>-1</sup> de agar, tendo seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1. Foram inoculados em frasco com 50 ml de meio de cultura. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com os tratamentos



disposto em um esquema 4x5, totalizando 20 tratamentos com 5 repetições cada, contendo dois explante em cada recipiente (Tabela 1).

A esterilização dos meios de cultura foi feita por autoclave, à temperatura de 121°C e à pressão de 1,05 kg.cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos. As plantas foram subcultivadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2 °C, e irradiância de fótons de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

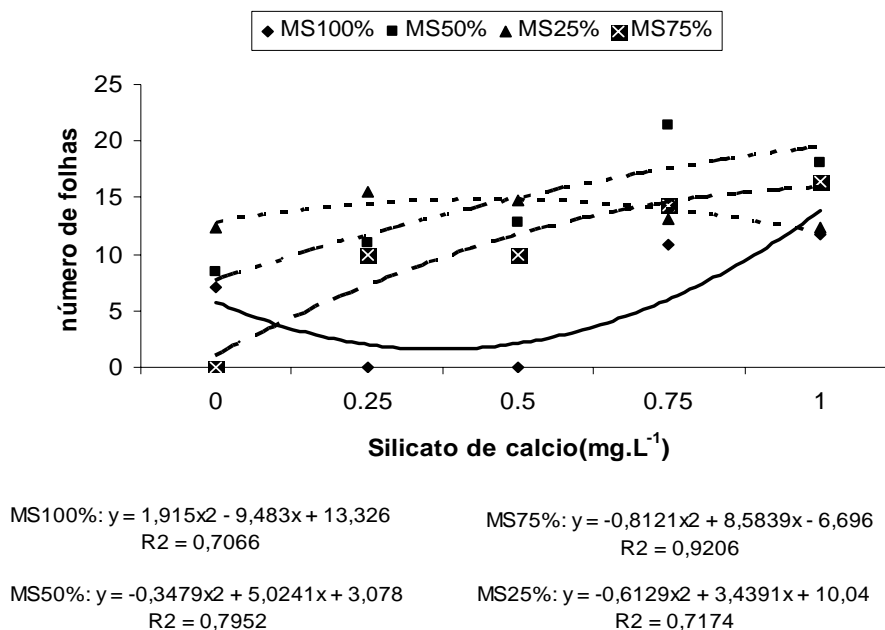
As características avaliadas após 45 dias foram: altura da maior brotação, número de brotação, número de folhas e presença de raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a característica número de folhas, as variáveis meio de crescimento e concentrações de silicato de cálcio isoladamente foram significantes sendo em meio de crescimento MS50% e MS25% obtiveram as melhores medias e na variavel dose de silicato de cálcio os melhores resultados foram os tratamentos 0,75mg L<sup>-1</sup> e 1 mg L<sup>-1</sup> obtendo as maiores medias.

No gráfico abaixo mostra na interação meio de crescimento e concentrações de silicato de cálcio uma tendência de aumento nos meios MS75% e MS50%, no meio MS25% um pequeno crescimento mas depois um pequena queda e no meio MS100% uma grande queda mas a depois um grande aumento, todas as curvas mostra uma tendência quadratica.(gráfico 1).

Figura 1. Número de folhas no desdobramento de meio de cultura e silicato de cálcio. UFLA, 2007.

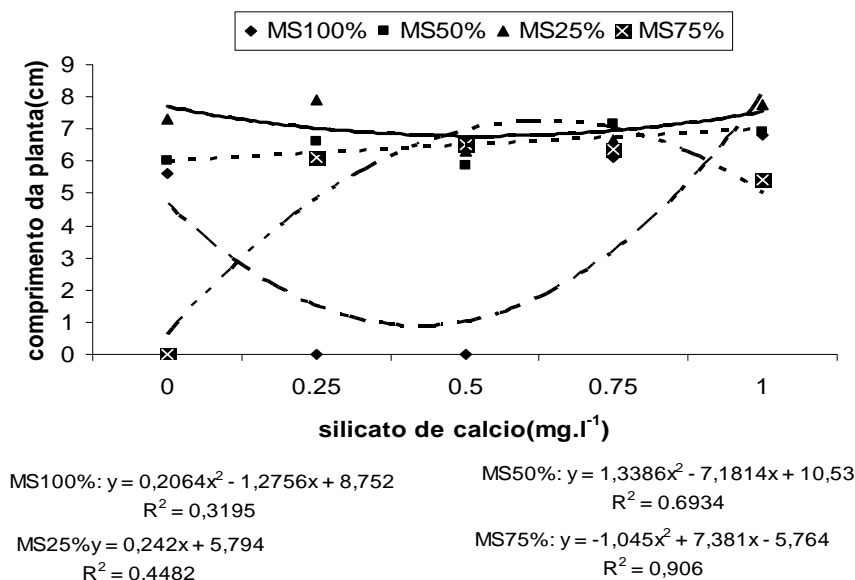


Para a característica altura da Planta o meio de crescimento MS25% mostrou o melhor resultado isoladamente. Na variável dose de silicato de sódio isolado mostra que os tratamentos 0,75 mg L<sup>-1</sup> e 1 mg L<sup>-1</sup> apresentaram as melhores media com a característica número de folhas.

Na interação do desdobramento meio de cultura e silicato de cálcio mostra que no meio MS25%apresentou uma tendência constante onde não ouve diferença entre as concentrações, sua curva teve tendência linear como mostrado no gráfico abaixo. no meio MS100%, como na característica número de folhas, ouve uma queda brusca no começo e depois ouve um crescimento sendo um dos melhores resultados. No meio MS 50% apresentou pouco efeito mostrando uma tendência linear de seus

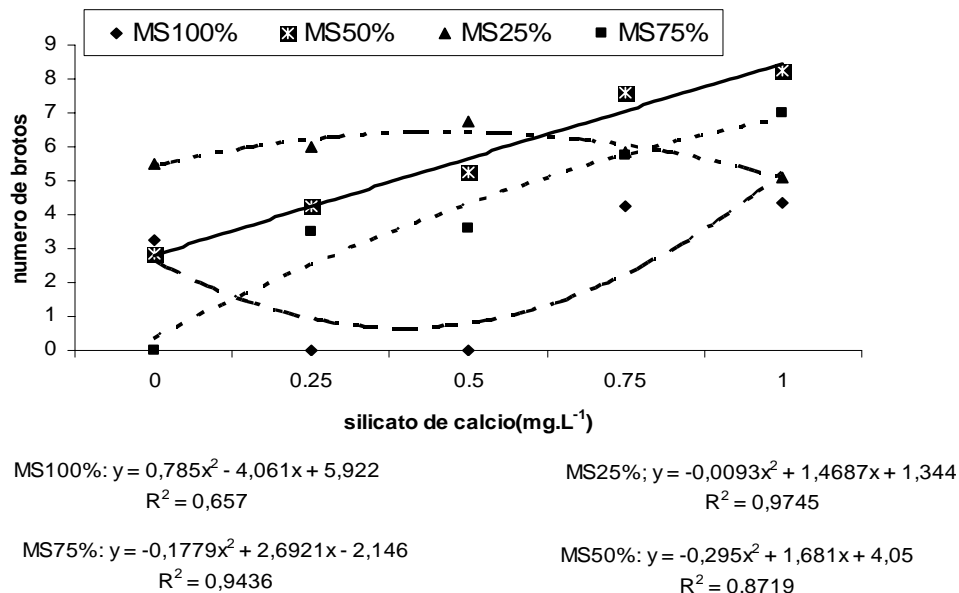
resultados mas a curva teve uma tendência quadrática. Já no meio MS75% ouve um grande aumento com uma queda no final da curva.

Figura 2: Comprimento da planta no desdobramento de meio de cultura e silicato de cálcio. UFLA, 2007.



Na característica número de brotos as variáveis isoladamente foram significantes sendo que no meio de crescimento os meios MS50% e MS25% de seus sais apresentaram as melhores medias e para concentrações de silicato de cálcio os melhores tratamentos foram 0,75 mg L<sup>-1</sup> e 1 mg L<sup>-1</sup> como nas duas características.

Figura 3: número de brotos no desdobramento de meio de cultura e silicato de cálcio. UFLA, 2007

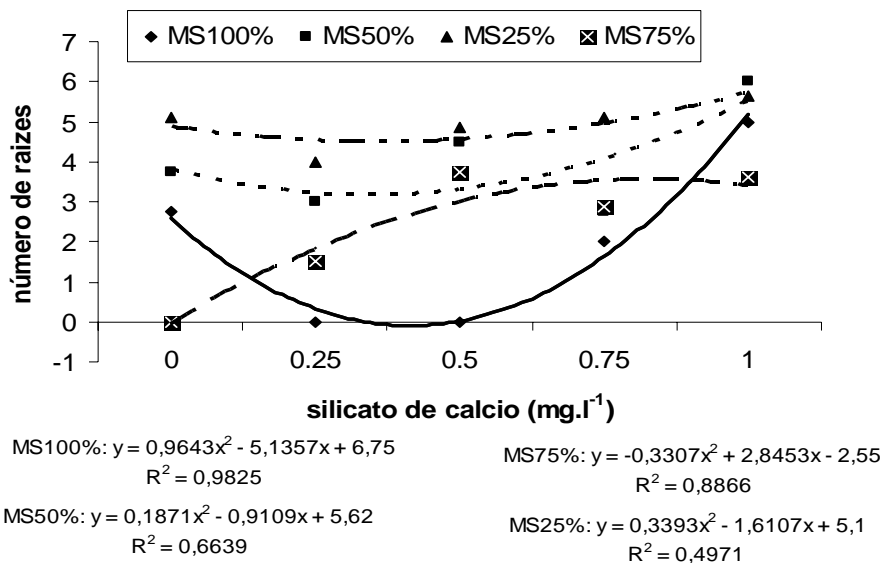


Na interação o meio MS100% demonstrou a mesma características dos outras duas retas onde ouve uma grande queda e depois ouve um crescimento. Nos meios MS75% e MS50% crescente aumento de sua curva e o MS25% um aumento e um queda no final da curva. Todas as curvas foram de tendência quadrática. (figura 3).

No número de raízes os melhores meios de crescimento, isoladamente, foram MS50% e MS25% dos seus sais. E o melhor tratamento, também isoladamente, foi o tratamento 1 mg L<sup>-1</sup>.

No desdobramento da interação o meio MS100% apresentou novamente a característica de uma queda brusca e depois um crescimento em sua curva. Os meios MS50% e MS25% apresentaram uma pequena queda e depois um aumento. E o meio MS75% há um aumento depois uma pequena queda na sua curva. Todas as curvas apresentaram tendência quadrática. (figura 4).

Figura 4: número de raízes no desdobramento de meio de cultura e silicato de cálcio. UFLA, 2007



## CONCLUSÕES

O silicato de cálcio foi efetivo no desenvolvimento de brotações de gérbera, nos meios houve uma crescente ao aumento das concentrações do silicato de sódio em sua grande maioria.

Os melhores meio foram os meios MS50% e MS75% apresentando as maiores medias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L. E. , SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.) **Silicon in agriculture**. Elsevier Science, 2001. p. 17-39.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

PIERIK, R. L. M.; SEGERS, T. A. *In vitro* culture of midrib explants of gerbera: adventitious root formation and callus induction. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 69, n. 3, p. 204-212, 1973

## PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii*; cultivo *in vitro*; silício

## Efeito de diferentes concentrações de ácido silícico e do meio de cultura MS no desenvolvimento *in vitro* de gérbera

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>4</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>1</sup>; Nogueira, Rairys Cravo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>5</sup>Pós-doutoranda (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br)

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera jamesonii*) é uma espécie ornamental de grande expressão na Europa, Estados Unidos e Ásia, onde é utilizada predominantemente como flor de corte. Destacam-se, nesse contexto, Holanda, França e Itália, na Europa e Japão, na Ásia, como grandes produtores.

A propagação natural de gérbera pode ser feita por meio de sementes ou por divisão de touceiras. Ambos os métodos são inconvenientes quando se pensa em propagação em âmbito comercial, pois, suas sementes originam progênes desuniformes pela alogamia da espécie e a divisão de touceiras dissemina e acumula doenças por meio de sucessivas gerações.

O uso das técnicas de micropropagação permite que se consiga, em um curto espaço de tempo, grande número de plantas com qualidade superior. O emprego da cultura de tecidos tem sido crescente para a gérbera, tornando-se uma alternativa bastante viável para sua propagação assexual.

O uso do silício é um dos mecanismos estudados pra aumentar a resistência da planta contra ataque de doenças pragas, e também na maior resistência contra tombamento e maior tempo pos colheita. O silício em micropartículas tem sido veiculado junto ao adubo NPK e o seu efeito no controle de doenças de folhagens tem sido constatado por diversos autores (Stumpf & Heath, 1985; Carver et al., 1987; Menzies et al., 1991; Fosket, 1994). Mas não existem trabalhos sobre a utilização de silício *in vitro*.

Objetivou-se nesse trabalho testar a funcionalidade do ácido silícico no cultivo *in vitro* de Gérbera para verificar sua eficiência no desenvolvimento da planta *in vitro* e também a concentração do meio de cultura diminuindo, assim, os gastos na produção de Gérberas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar cream foram multiplicadas em meio MS sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>) e H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido nicotínico 0,5mg L<sup>-1</sup>), com adição de Mio- inositol (10mg L<sup>-1</sup>) e tiamina (1mg L<sup>-1</sup>) e suplementação com BAP (6-benzilaminopurina) na concentração de 10mg L<sup>-1</sup>, utilizando como explantes brotações com 2 ou 3 folhas. Foram inoculadas duas brotações por frasco, até obter a quantidade necessária para implementar os experimentos.

Os explantes utilizados foram brotações que apresentavam 2 folhas e mediam entre 4 e 6 cm. O meio de cultura utilizado foi o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com diferentes concentrações dos seus sais (25%, 50%, 75% e 100%) e suplementado com diferentes concentrações de ácido silícico (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>) (0, 0,25; 0,5; 0,75; 1mg L<sup>-1</sup>) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado em 6 g L<sup>-1</sup> de agar, tendo seu pH ajustado para 5,8 ± 0,1. Foram inoculados em frasco com 50 mL de meio de cultura. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com os tratamentos disposto em um esquema

quatro (meio de cultura) x cinco (ácido silícico), totalizando 20 tratamentos com cinco repetições, cada repetição contendo dois explante por recipiente.

A esterilização dos meios de cultura foi feita por autoclave, à temperatura de 121°C e à pressão de 1,05 kg.cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos. As plantas foram inoculadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C, e irradiância de fótons de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

As características avaliadas após 45 dias foram: altura da maior brotação, número de brotação, número de folhas e presença de raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável número de folhas, isoladamente, as variáveis meio de crescimento e doses de ácido silícico foram significantes ao nível de 5% sendo que em meio MS 25% obteve-se a melhor média (8,67 folhas por explante) e em ácido silícico o melhor resultado foi o tratamento T2 (0,25mg L<sup>-1</sup>) obtendo a maior média.

Na interação meio de cultura e concentração de ácido silícico houve uma tendência quadrática com um pequeno aumento e depois diminuição do número de folhas para os meios MS 75%, MS 50%, MS 25%; já no meio MS 100% observou-se que seus valores diminuíram à medida que aumentou a concentração de ácido silícico (Figura 1).

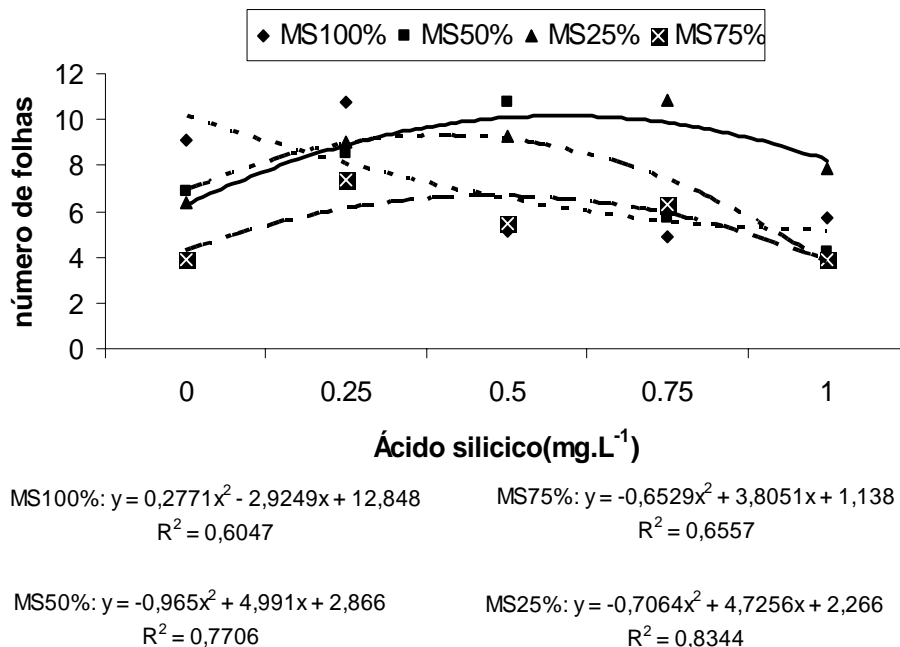


Figura 1. Número de folhas no desdobramento de meio de cultura e ácido silícico.

Para a variável altura da planta as variáveis meio de crescimento e ácido silícico foram significativo, isoladamente, mostrando, como na característica número de folhas, para o meio de cultura MS 25% apresentou a melhor media. Já a concentração de ácido silícico, a melhor média foi obtida na dose 0,75 mg L<sup>-1</sup>. A interação meio de crescimento e doses de ácido silícico não foi significativo para o nível de 5%.

O número de brotos, assim como nas características anteriores, o meio de cultura com os melhores resultados foi o MS25%, e para o ácido silícico a melhor concentração foi a 0,25 mg L<sup>-1</sup> (T2).

No desdobramento, os resultados foram muito parecidos com os obtidos no número de folhas onde os meios MS75%, MS50%, MS25%, apresentaram um pequeno crescimento e depois uma diminuição das médias e para o meio MS100% uma queda brusca sem haver crescimento.

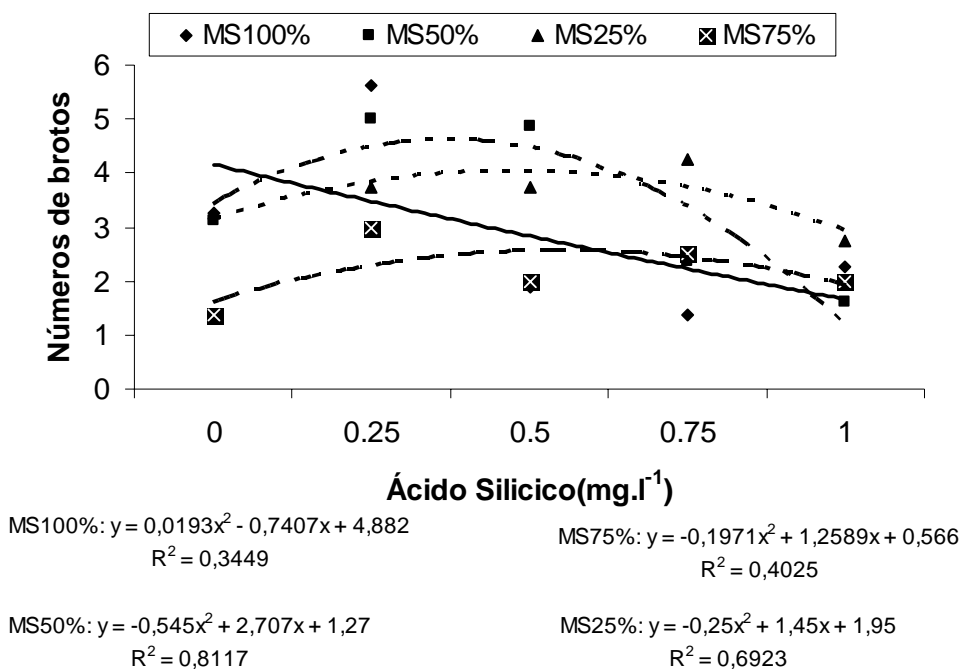


Figura 2. Número de brotos no desdobramento de meio de cultura e ácido silícico.

Para o número de raízes, novamente, a melhor média foi obtido no meio MS 25%, enquanto que a ausência de ácido silícico (T1) apresentou o melhor resultado obtido isoladamente.

Na interação, os resultados foram parecidos com os das outras características avaliadas onde ocorre pequeno aumento e depois a queda para os meios MS 75%, MS 50% e MS 25% e para meio MS 100% uma queda brusca da curva do desdobramento.

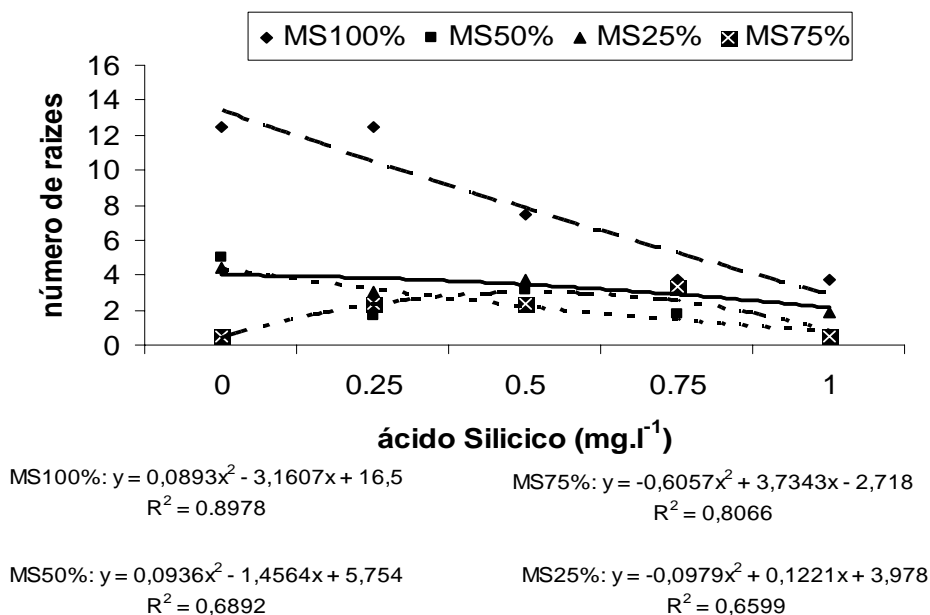


Figura 3. Número de raízes no desdobramento de meio de cultura e ácido silícico.

## CONCLUSÕES

O meio que apresenta as melhores médias é o meio de cultura MS25%.

O ácido silícico não se mostrou eficiente para o desenvolvimento de plantas de Gérbera. Sendo até maléfico em altas concentrações no meio MS75%,MS50% e MS25%e totalmente para o meio MS100% onde houve uma queda brusca em todas as características avaliadas no trabalho. Mas na concentração de 0,5 de silício promoveu um incremento nas características avaliadas, com exceção do número de raízes. Mas somente na presença de meio MS com concentrações inferiores a 75%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVER, T. L. W.; ZEYEN, R. J.; AHLSTRAND, G. G. The relationship between insoluble silicon and success or failure of attempted primary penetration by powdery mildew (*Erysiphe graminis*) germinating on barley. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 31, n. 1, p. 133-148, July 1987.

FOSKET, D. E. **Plant growth and development: a molecular approach**. San Diego: Academic Press, 1994. 580 p.

MENZIES, J. G.; EHRET, D. L.; GLASS, A. D. M.; HELMER, T.; KOCH, C.; SEYWARD, F. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n.2, p. 84-99, Feb. 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

STUMPF, M. A.; HEATH, M. C. Cytological studies of the interactions between the cowpea rust fungus and silicon-depleted French bean plants. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 27, p. 369-385, 1985.

## PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii* ; cultivo *in vitro*; silício.

## Efeito do AIB e BAP na organogênese *in vitro* de moringa (*Moringa oleifera* L.)

Lédo, Ana da Silva<sup>1</sup>; Machado, Caroline Araújo<sup>2</sup>; Freire, Karla Cristina Santos<sup>3</sup>; Oliveira, Lucas Fonseca Menezes<sup>4</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: analedo@cpatc.embrapa.br; <sup>2</sup>Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: carol@cpatc.embrapa.br; <sup>3</sup>Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, email: karla@cpatc.embrapa.br; <sup>4</sup>Estagiário UFS/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: lucas@cpatc.embrapa.br; <sup>5</sup>Pesquisadora do Deagro, email: sarah@cpatc.embrapa.br

Dentre as espécies do gênero *Moringa*, destaca-se a *Moringa oleifera*, devido às mais diversas utilizações. Trata-se de uma planta perene, amplamente distribuída nos países da Ásia e da África. Esta espécie pode, ainda, ser encontrada nas Américas Central, do Norte e do Sul. No Brasil foi introduzida na década de 50 e é encontrada na região Nordeste, principalmente nos Estados do Maranhão, Piauí e Ceará. É cultivada devido ao seu valor alimentar; forrageiro; medicinal; condimentar, culinário e na indústria de cosméticos, melífero; combustível e no tratamento de água para o consumo humano. A obtenção de métodos de propagação mais eficientes visando à multiplicação de genótipos promissores de moringa torna-se necessária. Neste contexto a multiplicação *in vitro* é uma alternativa para a rápida produção de mudas em curto espaço de tempo e com alta qualidade fitossanitária. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do ácido indolbutírico (AIB) e benzilaminopurina (BAP) na indução de organogênese em segmentos nodais de moringa. Os explantes foram excisados de plântulas assépticas obtidas a partir da germinação *in vitro* de sementes de moringa. Os segmentos nodais foram inoculados meio de cultura MS, com 3% de sacarose, 0,6% de agar suplementados com diferentes combinações de AIB e BAP: T1- 0,05 mg L<sup>-1</sup> AIB e 0,05 mg L<sup>-1</sup> BAP; T2- 0,05 mg L<sup>-1</sup> AIB e 0,1 mg L<sup>-1</sup> BAP; T3- 0,1 mg L<sup>-1</sup> AIB e 0,05 mg L<sup>-1</sup> BAP e T4- 0,1 mg L<sup>-1</sup> AIB e 0,1 mg L<sup>-1</sup> BAP. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e nove repetições. Cada parcela foi constituída de um frasco contendo dois segmentos nodais. Foram avaliados aos 30 dias a porcentagem de explantes com calos e o número de brotações adventícias/explante. Não houve efeito significativo dos tratamentos para os caracteres avaliados. Nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram observados 100; 88,9; 77,7 e 66,7% de explantes com calo e 1,67; 1,55; 1,77 e 1,55 brotações adventícias/explante, respectivamente. No tratamento T1 foi observada a indução de raiz em 22,22% dos explantes. Estudos adicionais serão conduzidos para determinação do intervalo de subcultivos, rendimento e avaliação do vigor das culturas.

### PALAVRAS-CHAVES

*Moringa oleifera* L.; Moringaceae; cultivo *in vitro*; organogênese.



## **Aclimação de cultivares de bananeira, influenciada por alterações no ambiente de cultivo *in vitro*.<sup>1</sup>**

Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>; Miyata, Luzia Yuriko<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970, Rio Branco, AC.

### **INTRODUÇÃO**

A técnica de micropropagação constitui, atualmente, a base da propagação massal de material propagativo certificado de bananeira. Relatos das primeiras aplicações desta técnica na multiplicação de espécies do gênero *Musa* datam da década de 1960. Desde então, houve uma intensificação nas pesquisas visando à utilização de técnicas mais eficientes, produtivas e menos onerosas. Dentre os avanços obtidos para a diminuição dos custos de produção, a substituição das lâmpadas fluorescentes, comumente utilizadas nas salas de crescimento pela luz natural, associada ou não à redução nos níveis exógenos de sacarose, é um dos mais importantes (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Rocha, 2005).

Efeitos benéficos da utilização da luz solar, associada a algumas modificações na composição nutricional e física dos meios de cultura, foram observados para a micropropagação das cultivares de bananeira ‘Grande Naine’ (AAA) e ‘Maçã’ (AAB), com redução nos custos de produção das mudas de até 90% (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Sendin, 2001). Contudo, as informações e o entendimento sobre os efeitos da luz natural sobre as plantas cultivadas *in vitro* e, mais ainda, sobre sua subsequente aclimação, ainda são incipientes, o que dificulta a aceitação e aplicação desta fonte de luz pelas biofábricas. Além disso, modificações nas concentrações exógenas de carboidratos nos meios de cultivo podem ser determinantes para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência de plantas na aclimação (Calvete, 1998), já que influenciam vários processos metabólicos nas culturas, com efeitos diretos sobre o crescimento e a diferenciação dos tecidos (George, 1996).

Objetivou-se avaliar a influência do ambiente de cultivo e de concentrações de sacarose sobre a aclimação de bananeiras, em condições de casa de vegetação.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Brotações axilares de bananeira (com cerca de 2,0 a 3,0 cm), originadas da fase de multiplicação e mantidas a 16 horas de irradiância ( $42 \text{ W.m}^{-2}$ ) e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , foram utilizadas. Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962),  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético) e  $6 \text{ g.L}^{-1}$  de ágar, com pH 5.8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento. Os tratamentos consistiram de duas concentrações de sacarose ( $15$  e  $30 \text{ g.L}^{-1}$ ), duas cultivares de bananeira [Caipira (AAA) e Pacovan (AAB)] e dois ambientes de cultivo (sala de crescimento – artificial e casa de vegetação – natural). O cultivo foram realizados em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio e selados com filme transparente.

O ambiente artificial foi constituído de uma sala de crescimento, possuindo iluminação fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial), com irradiância média de  $42 \text{ W.m}^{-2}$ , fotoperíodo de 16 horas e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . O ambiente natural consistiu de uma casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns) e sombreamento de 70%, apresentando os seguintes parâmetros ambientais: (temperaturas máximas, mínimas e médias de  $26^\circ\text{C}/32^\circ\text{C}$ ;  $16^\circ\text{C}/16^\circ\text{C}$  e  $20^\circ\text{C}/23^\circ\text{C}$ ) e (irradiâncias máximas, mínimas e médias de  $93,95 \text{ W.m}^{-2}/199,69 \text{ W.m}^{-2}$ ;  $11,13 \text{ W.m}^{-2}/10,66 \text{ W.m}^{-2}$  e  $49,38 \text{ W.m}^{-2}/99,43 \text{ W.m}^{-2}$ ), referentes a dias nublado e

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

claro típicos do período de experimentação. Dados de radiação solar diurna, incidente na altura dos frascos, foram obtidos por sensores de radiação (LI-200SA, Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Li-cor.Neb), a intervalos de meia hora, enquanto os dados de temperatura foram obtidos com termo-higrógrafo.

Para a aclimatização, plantas submetidas aos tratamentos acima foram inicialmente removidas dos frascos, submetidas a lavagem de suas raízes e transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos pela mistura de terra de subsolo (abaixo de 40 cm):Plantmax<sup>®</sup> HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples. Em seguida, foram mantidas sob as condições de casa de vegetação anteriormente descritas e sistema de nebulização intermitente. Ao final de 60 dias da transferência *ex vitro*, foram avaliados: a altura da parte aérea (APA), o número de folhas expandidas (NF'EXP) e de raízes (NR), o comprimento médio de raízes (CR), o diâmetro do pseudocaulo (DP) (1,0 cm acima do coleto), a massa seca de raízes (MS'R), da parte aérea (MS'PA) e total (MS'T) das plantas. Adicionalmente, a sobrevivência foi registrada aos 30 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x2, com sete repetições por tratamento, cada uma representada por 3 plantas. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos às análises de variâncias individuais (para cada ambiente de cultivo), realizando-se em seguida, o teste de homogeneidade de variância e a análise conjunta. Para isso, utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo Teste F ( $P < 0,05$ ). A sobrevivência das plantas foi obtida por observação visual e expressa pela razão entre o número de plantas desenvolvidas e o total de plantas transferidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência foi de 100% em plantas enraizadas *in vitro* sob ambiente natural em detrimento da condição artificial, em ambas as concentrações de sacarose e cultivares. Por outro lado, perdas foram verificadas em plantas oriundas do ambiente artificial, com 72,0% a 100% de sobrevivência, sendo as maiores perdas em plantas cultivadas com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela 1).

**Tabela 1.** Percentual de sobrevivência de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (natural e artificial) e sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 30 dias de aclimatização. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Ambiente	Caipira		Média	Pacovan		Média
	15	30		15	30	
Natural	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Artificial	72,0	93,7	82,9	83,3	100,0	91,7
Média	86,0	96,9		91,7	100,0	

Dados não analisados estatisticamente devido ao reduzido número de plantas por parcela.

Alto percentual de sobrevivência em plantas oriundas do cultivo *in vitro* sob luz natural foi obtido por Talavera et al. (2005) para a espécie *Cocos nucifera*. Quanto a sacarose, resultados similares foram observados por Folliot & Marchal (1992), que avaliando a influência da sacarose (40, 70, 100 e 130 g.L<sup>-1</sup>) na fase de enraizamento, não tiveram dificuldades na aclimatização de plantas de 'Grande Naine', com maiores médias de sobrevivência com 40 g.L<sup>-1</sup> (85 %). Porém, efeitos negativos da remoção parcial ou total da sacarose sobre o crescimento *ex vitro* foram observados por Fuentes et al. (2005) e Skrebsky et al. (2004) para *Cocos nucifera* L. e *Ginseng brasileiro* cultivadas *in vitro*.

Interação significativa entre os três fatores estudados foi observada para o NF'EXP, NR, APA e DP. Para o NF'EXP, as melhores respostas para a cv. Caipira foram notadas em plantas oriundas de ambiente natural com 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. Já o ambiente artificial com 30 g.L<sup>-1</sup> promoveu os melhores resultados para a 'Pacovan', embora, no geral, não tenham sido verificadas diferenças para o fator sacarose ( $P < 0,05$ ) (Tabela2). Possivelmente, a exposição das plantas a condições mais próximas ao ambiente *ex vitro*, na fase antecedente a transferência *ex vitro*, reduziu o estresse após sua remoção dos frascos, permitindo a rápida adaptação e emissão de novas folhas (transição).

Quanto ao NR, a 'Caipira' não foi significativamente influenciada pelos fatores estudados, diferentemente da 'Pacovan', em que maior número de raízes foi obtido em plantas provenientes do ambiente artificial, com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela 2). Efeitos negativos sobre o desenvolvimento de raízes na fase de aclimatização foram verificados por Fuentes et al. (2005), em *Cocos nucifera* L. cultivada em meio desprovido ou contendo baixa concentração de sacarose. Nesse mesmo sentido, George (1996) afirma ser fundamental a existência de uma fonte de energia para a formação de raízes em plantas micropropagadas.

**Tabela 2.** Número de folhas expandidas (NF'EXP) e de raízes (NR), altura da parte aérea (APA) e diâmetro do pseudocaule (DP) de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (natural e artificial) e sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 75 dias de aclimatização. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Ambiente	Caipira		Média	Pacovan		Média
	15	30		15	30	
<b>Número de folhas expandidas</b>						
Natural	4,4 Aa	4,8 Aa	4,6 a	5,1 Aa	4,3 Bb	4,6 a
Artificial	3,8 Ab	3,9 Ab	4,6 a	5,1 Aa	5,4 Aa	4,6 a
Média	4,6 A	4,6 A		4,6 A	4,6 A	
CV (%)			7,18			
<b>Número de raízes</b>						
Natural	5,3 Aa	6,0 Aa	5,5 b	5,8 Aa	5,0 Bb	5,5 b
Artificial	5,5 Aa	6,1 Aa	6,0 a	5,9 Aa	6,7 Aa	6,0 a
Média	5,6 A	6,0 A		5,6 A	6,0 A	
CV (%)			11,43			
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>						
Natural	12,8 Ba	15,0 Aa	13,3 b	13,6 Aa	11,7 Bb	13,3 b
Artificial	12,5 Ba	14,9 Aa	14,1 a	13,5 Ba	15,5 Aa	14,1 a
Média	13,1 B	14,3 A		13,1 B	14,3 A	
CV (%)			8,07			
<b>Diâmetro do pseudocaule (cm)</b>						
Natural	0,65 Ba	0,74 Aa	0,68 a	0,73 Aa	0,62 Bb	0,68 a
Artificial	0,61 Bb	0,67 Ab	0,69 a	0,72 Ba	0,76 Aa	0,69 a
Média	0,68 B	0,70 A		0,68 B	0,70 A	
CV (%)			3,24			

Médias seguidas por letras distintas, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Para a APA e DP, na cultivar Caipira, nenhum efeito significativo do ambiente foi observado quanto APA, em ambas as concentrações de sacarose, enquanto que resultados significativos para DP foram verificados em plantas provenientes de luz natural. Para a 'Pacovan', melhores resultados para a APA e DP foram obtidos para o ambiente artificial com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, embora resultados satisfatórios tenham sido verificados com 15 g.L<sup>-1</sup>, em ambos os ambientes de cultivo ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). Acrescenta-se ainda que, para o comprimento de raízes, resultados significativamente superiores na cultivar Caipira foram observados para o ambiente natural e 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. Na 'Pacovan', as plantas provenientes do meio contendo 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose tiveram resposta superior, porém, nenhum efeito significativo do ambiente de cultivo foi observado (dados não mostrados).

## CONCLUSÕES

O enraizamento *in vitro* em ambiente de luz natural promove 100% de sobrevivência e satisfatório crescimento *ex vitro* das plantas de bananeira 'Caipira' e 'Pacovan', tornando-se uma alternativa às lâmpadas fluorescentes, além de contribuir para a redução dos custos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALVETE, E. O. **Concentração de sacarose *in vitro* e seleção de substratos para aclimatização *ex vitro* de morangueiro cv campinas (*Fragaria ananassa* Duch.).** 1998. 108 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3:** sistema de análise estatística. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.

FOLLIOT, M.; MARCHAL, J. Croissance *in vitro* des bananiers: influence de la concentration en saccharose du milieu de culture sur le développement des plants du cultivar Petite naine. **Fruits**, Paris, v. 47, n. 6, p. 565-571, Nov./Dec. 1992.

FUENTES, G.; TALAVERA, C.; OROPEZA, C.; DESJARDINS, Y.; SANTAMARÍA, J. M. Exogenous sucrose can decrease *in vitro* photosynthesis but improve field survival and growth of coconut (*Cocos nucifera* L.) *in vitro* plantlets. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Wallingford, v. 41, n. 1, p. 69-76, Jan./Feb. 2005.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. 1361 p. Part 2: In Practice.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 66, n. 1, p. 67-71, 2001.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1999.

MARCHAL, J.; SENS, I.; TEISSON, C. Influence des sucres et de facteurs bioclimatiques sur la culture *in vitro* du bananier. **Fruits**, Paris, v. 47, n. 1, Jan./Feb. 1992.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SENDIN, A. P. P. M. **Micropropagação de bananeira dos cultivares Maçã e Grande Naine visando a produção de mudas de baixo custo**. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRÃO, G. da E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set./out. 2004.

TALAVERA, C.; CONTRERAS, F.; ESPADAS, F.; FUENTES, G.; SANTAMARÍA, J. M. Cultivating *in vitro* coconut palms (*Cocos nucifera*) under glasshouse conditions with natural light, improves *in vitro* photosynthesis nursery survival and growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 83, n. 3, p. 287-292, Dec. 2005.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; luz natural; cultivo heterotrófico; ambiente *ex vitro*.

## Efeito residual de diferentes fontes de silício e concentrações de MS na aclimatização de gérbera (*Gerbera jamesonii*) cultivadas *in vitro*

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>4</sup>; Nogueira, Rairys Cravo<sup>5</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>5</sup>Pós-doutoranda (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [vanessastein@ibest.com.br](mailto:vanessastein@ibest.com.br)

### INTRODUÇÃO

A gérbera é uma espécie ornamental de grande expressão na Europa, onde os maiores produtores são a Holanda, França e Itália perfazendo um total de 62% do total da produção no oeste europeu. Na França representa 20% do total de 40 espécies ornamentais propagadas *in vitro* e na Inglaterra 16% de um total de 10 espécies propagadas *in vitro*. Outros países como Polônia, Austrália, Nova Zelândia, países da Américas do norte, do sul, e central também produzem gérbera através da cultura de tecidos (Bouzigues, 1987; Pierik, 1991)

A micropropagação vem sendo aplicada com sucesso para a propagação em larga escala de um grande número de espécies ornamentais, podendo ser realizada por organogênese (formação de órgão) ou embriogênese somática (formação de embrião).

A micropopagação pode se dividida em etapas, sendo elas: estabelecimento *in vitro*, multiplicação e enraizamento.

Após a etapa de enraizamento, as brotações devem ser aclimatizadas para terem condições de sobreviver em ambiente com alta luminosidade e baixa umidade. A aclimatização envolve o transplântio da plântula da condição *in vitro* para a casa de vegetação que, geralmente, consiste de uma fase crítica e que pode ser um fator limitante para o processo de micropropagação de algumas espécies (Torres et al., 1998).

Recentes pesquisas têm sido divulgadas com resultados positivos do uso de fontes solúveis de silício (Si) aplicadas via foliar e em soluções nutritivas para cultivo hidropônico.

Todavia a essencialidade do Si para as plantas superiores foi demonstrada apenas para algumas espécies, apesar de ser um constituinte majoritário dos vegetais (Epstein, 1994; Marschner, 1995).

Wagner (1940) observou uma relação direta entre a deposição de ácido silícico nos sítios de infecção de míldio e o grau de resistência da planta. O mesmo autor notou que houve uma silicificação das células epidérmicas, inferindo que a penetração do tubo infectivo foi impedida pelo Si, agindo, assim, como uma barreira física. Desse modo, uma menor porcentagem de esporos, germinando na epiderme foliar, obteve sucesso na penetração e posterior colonização. Esta foi a primeira menção formal especulando a respeito do modo de ação do Si sobre a redução da severidade de uma doença.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de silício de diferentes fontes de silício e concentrações do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) na aclimatização de gérbera cultivadas *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Brotações multiplicadas *in vitro* na presença de diferentes fontes de silício (silicato de sódio, silicato de potássio, silicato de cálcio e ácido silícico) em diferentes concentrações (0,

0,25, 0,5, 0,75 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) e diferentes concentrações do meio de cultura MS(Murashige & Skoog, 1962) (25%, 50%, 75% e 100%) foram utilizadas como material vegetal.

As brotações foram transferidas para tubetes contendo o substrato comercial Plantmax®.

Após a transferência, as brotações foram cobertas com sacos plásticos para manter a umidade semelhante à encontrada nas condições *in vitro*, e mantidas em sala de aclimatização sob fotoperíodo de 12 horas e irradiância de fótons igual a 60μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

A avaliação foi feita após 30 dias e a cada 7 dia foi cortado um pedaço do saco plástico ate que no vigésimo primeiro dia o saco foi retirado completamente. As plantas foram aguçadas uma vez a cada 7 dias após ser transplantadas para os tubetes.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído por cinco repetições. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se regressão polinomial, com significância fixada em 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum dos tratamentos foram significativos, mas os meios MS 25% e MS 100% apresentaram maiores medias em todas as concentrações das fontes de silício.

Em relação as diferentes fontes de silício, as fontes mais promissoras foram os silicatos de Cálcio e de Potássio onde apresentaram melhores medias na maioria das concentrações do silicato.

O silicato de Sódio e o ácido silícico foram menos favoráveis mostrando uma grande divergência de valores em diferentes concentrações.

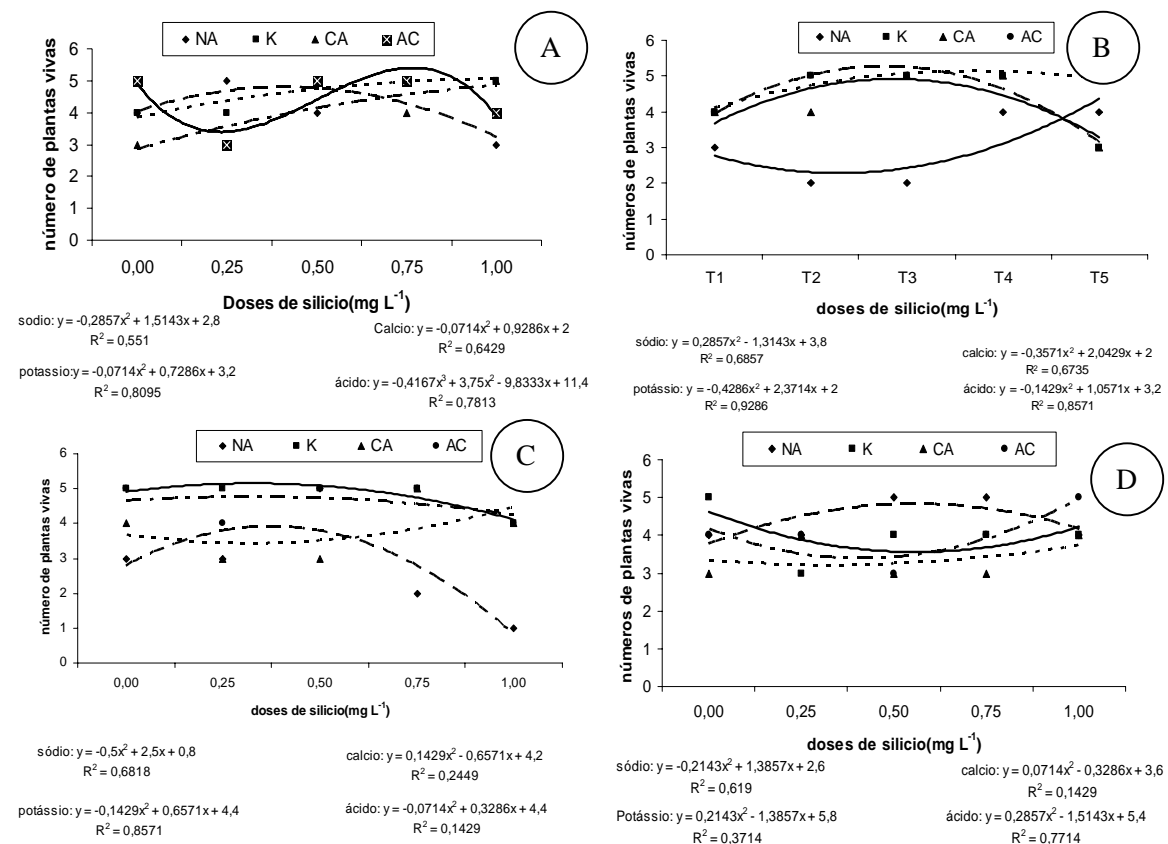


Figura 1. Número de plantas vivas em meio de cultura MS25%(A), MS50%(B), MS75%(C) e MS100%(D) em função de diferentes fontes e concentrações de silício.

## CONCLUSÕES

A maior sobrevivência de plantas ocorre nos meios MS100% e MS 25% constituído de silicato de Cálcio e Potássio nas concentrações de 0,25 e 0,50 mg L<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOUZIGUES, P. La production de vitroplants pour l'horticulture ornamentale em France. **Revue Horticole**, Paris, 277:15-23, 1987.

EPSTEIN, E. Photosynthesis, inorganic plant nutrition, solutions, and problems. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 46, n. 1/2, p. 37-39, Nov. 1995.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. New York: Academic Press, 1995. 887 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; FERREIRA, A. T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 11-20.

PIERIK, R.L.M. Commercial production in Poland and other Eastern European Countries. In : **Micropropagation Technology and application**. Netherlands: Klumer Academic Publishers, 1991.p.167-171.

WAGNER, H. K. Die Bedeutung der Kieselsäure für das Wachsthum einiger Kulturpflanzen, ihren Nährstoffhaushalt und ihre Anfälligkeit gegen echte Mehltäupilze. **Phytopathology** v. 12, p.427-479, 1940.

## PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii*, silício, micropropagação.

## Alterações anatômicas em plantas de bananeira 'Japira' (AAAB) cultivadas *in vitro* e durante a aclimatização.<sup>1</sup>

Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Schervinski<sup>3</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Oliveira, Cynthia de<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC.

### INTRODUÇÃO

O cultivo de ápices caulinares e meristemas utilizando técnicas de cultura de tecidos constitui a base da propagação clonal massal de bananas e plátanos. Todavia, estudos têm demonstrado que plantas cultivadas *in vitro*, normalmente, apresentam certas características morfoanatômicas e fisiológicas intrínsecas ao ambiente de cultivo, tais como reduzida deposição de cera epicuticular e diferenciação do mesofilo, além de feixes vasculares rudimentares e conexão vascular entre as raízes e parte aérea deficiente ou inexistente (Acuña, 1995; Romano & Martins-Loução, 2003; Sandoval et al., 1994). Todas estas alterações têm sido consideradas como resultado de complexas e peculiares condições do ambiente *in vitro*, que incluem reduzida intensidade luminosa, presença de uma fonte exógena de carbono prontamente disponível, baixa disponibilidade de CO<sub>2</sub>, alta umidade relativa e reduzidas trocas gasosas (Preece & Sutter, 1991).

Entretanto, embora essas modificações perdurem até os primeiros dias da transferência para as condições *ex vitro*, as novas folhas desenvolvidas terão características de transição, sendo, portanto, mais adaptadas e eficientes nos processos concernentes ao desenvolvimento vegetal. Além disso, após serem transferidas para as condições de campo, normalmente, todas as alterações induzidas *in vitro* desaparecem (Sandoval et al., 1994). Nesse contexto, estudos acerca das modificações que ocorrem nas plantas micropropagadas, após sua exposição às condições *ex vitro*, têm contribuído significativamente para o desenvolvimento de técnicas mais eficientes de aclimatização (Gonçalvez et al., 2000).

Assim, objetivou-se estudar as alterações na anatomia foliar em plantas micropropagadas de bananeira cultivadas *in vitro* e durante a aclimatização.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal consistiu de plantas micropropagadas de bananeira da cultivar Japira (AAAB), um híbrido resistente às principais doenças que acometem a cultura da banana. Para a obtenção das plantas, brotações axilares oriundas da fase de multiplicação foram enraizadas/alongadas em meio básico de MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de 1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L<sup>-1</sup> de agar, a pH 5,8. O cultivo foi feito em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio e selados com filme transparente, os quais foram mantidos à 25 ± 2°C e 16 horas de irradiância (42 W.m<sup>-2</sup>), fornecida por meio lâmpadas fluorescentes tubulares do tipo luz do dia especial (Osram 20W), por 35 dias.

A aclimatização foi realizada em tubetes de 0,3 L, sob condições de casa de vegetação, coberta com filme de polietileno transparente (150 microns), sombreamento de 70% (Sombrence<sup>®</sup>) e sistema de irrigação por nebulização intermitente. Como substrato base foi utilizada a mistura de terra de subsolo (abaixo de 40 cm):Plantmax<sup>®</sup> HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples.

Os tratamentos foram constituídos por plantas sob diferentes períodos de aclimatização (0, 21, 42, 63, 84 e 120 dias após a transferência *ex vitro*). As avaliações consistiram de características anatômicas, obtidas por meio de observações de microscopia

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



de luz de seções transversais (folha e raiz) e paradérmicas foliares, obtidas em micrótomo de mesa manual e à mão livre, com auxílio de lâmina de aço inox (Gillette®).

Para isso, foram utilizadas cinco plantas por tratamento, as quais foram previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen, 1940), por 72 horas e, posteriormente, conservadas em álcool etílico 70%, até a realização dos cortes. Para as seções transversais, utilizou-se o azul de astra-safranina, sendo as medições dos tecidos realizadas em microscópio Ken-a-vision 2100, equipado com ocular micrométrica e objetiva de 40X, com três medições em cada folha, na região após o terceiro feixe lateral, totalizando 15 repetições para cada tratamento, exceto para a espessura da nervura (saliência). Já os cortes paradérmicos foram realizados no terço médio foliar, em ambas as faces das folhas, sendo a coloração feita com safranina 1% e as observações estomáticas realizadas em microscópio Olympus CBB (objetiva de 40X), com auxílio de câmara clara, segundo metodologia descrita por Labouriau *et al.* (1961), em quatro campos da região mediana de 5 folhas provenientes de 5 plantas distintas, num total de 20 campos/repetições por tratamento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico Sisvar 4.3 (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação às epidermes, menor espessura para a epiderme da *face adaxial* foi observada em plantas provenientes do cultivo *in vitro* (0 dias). Após este período, houve espessamento significativo até os 42 dias de aclimatização, período em que se constatou maior espessamento (23,2  $\mu\text{m}$ ). Por outro lado, a espessura da epiderme da *face abaxial* mostrou-se menos influenciada pelo período de aclimatização, uma vez que diferenças significativas apenas foram notadas entre plantas *in vitro* e as demais (21, 42, 63, 84 e 120 dias) (Tabela 1). Esses resultados discordam dos obtidos por Pereira (2004), em plantas micropropagadas de *Uncaria guianensis*, em que nenhuma diferença foi verificada para a espessura da epiderme da *face abaxial* com o tempo de aclimatização. Já em relação à espécie *Uncaria tomentosa*, a espessura da epiderme *abaxial* foi significativamente influenciada.

**Tabela 1.** Espessura da epiderme das faces adaxial (EP/AD) e abaxial (EP/AB), parênquima paliçádico (P.PAL) e esponjoso (P.ESP), hipoderme da face adaxial (HIP/AD) e abaxial (HIP/AB) e da nervura na região central (SALI) de plantas micropropagadas de bananeira cv. Japira (AAAB) sob a influência do período de aclimatização. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Período (dias)	EP/AD	EP/AB	P.PAL	P.ESP	HIP/AD	HIP/AB	SALI
	----- (μm) -----						
0	15,9 d	11,3 b	39,0 e	65,3 d	50,4 c	50,9 d	428,2 f
21	19,4 c	15,0 a	66,0 d	75,5 c	83,0 a	68,5 b	539,5 e
42	23,2 a	15,3 a	70,2 d	75,2 c	87,8 a	60,6 c	600,9 d
63	22,2 b	16,6 a	75,7 c	94,2 b	79,2 b	74,1 a	684,3 c
84	21,6 b	16,2 a	96,5 a	108,0 a	75,7 b	75,2 a	890,1 a
120	21,9 b	16,0 a	87,3 b	103,7 a	76,5 b	64,5 b	834,6 b
CV (%)	7,61	13,69	12,69	10,99	13,09	11,81	9,23

Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável avaliada, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

Foi observado, ainda que, em geral, a epiderme da *face adaxial* sempre apresentou maior espessura em relação à epiderme da *face abaxial* (Tabela 1), conforme reportado em plantas micropropagadas de *Uncaria guianensis* e *U. tomentosa* (Pereira, 2004).

Quanto aos parênquimas paliçádico e esponjoso, verificou-se tendência de incremento da espessura com o tempo de aclimatização, tendo a menor e a maior espessuras sido observadas em plantas *in vitro* (39,0 e 65,3  $\mu\text{m}$ ) e aclimatizadas por 84 dias (96,5 e 108,0  $\mu\text{m}$ ). Comportamento semelhante ao verificado para o espessamento dos parênquimas foi notado para a espessura da saliência (nervura central) (Tabela 1). A

ocorrência de células paliçádicas mais alongadas constitui um padrão clássico de resposta e de adaptação das plantas à alta intensidade de luz (Lee et al., 2000) e evidencia a plasticidade adaptativa da planta ao novo ambiente.

Espessamento dos parênquimas paliçádico e esponjoso com o período de aclimatização foi reportado por Pereira (2004), em espécies micropropagadas pertencentes ao gênero *Uncaria*. Estes resultados concordam com os de Romano & Martins-Loução (2003), segundo os quais, maior diferenciação do mesófilo em folhas de *Quercus suber* L. foi verificada naquelas desenvolvidas após a transferência das plantas para o substrato, as quais apresentaram estrutura foliar característica de plantas de sol, com pequenos espaços intercelulares, alta densidade de células paliçádicas, com 2 ou 3 camadas.

Para a hipoderme, verificou-se que, em relação à face adaxial, houve incremento da espessura deste tecido até os 42 dias de aclimatização, período em que foi registrado o maior espessamento ( $P < 0,05$ ). Períodos superiores a este mostraram tendência de redução no espessamento e nenhuma diferença significativa foi observada. Já em relação à hipoderme abaxial, espessamento significativo ocorreu em plantas aclimatizadas por 63 e 84 dias, tendo as folhas *in vitro* apresentado a menor espessura ( $P < 0,05$ ). Acrescenta-se, ainda, que, de modo geral, as análises anatômicas revelaram que supostas folhas de transição (21 dias) e aquelas oriundas de plantas aos 42 dias tiveram pouca ou nenhuma diferença, quando comparadas às plantas *in vitro*, como observado para os parênquimas clorofilianos e hipoderme adaxial (Tabela 1). Modificações na espessura e organização da anatomia foliar foram também reportadas por Sandoval et al. (1994) em plantas micropropagadas de bananeira sob diferentes etapas (*in vitro*, aclimatizadas e em campo).

Em relação aos estômatos, maior densidade estomática da face adaxial da epiderme (D. EST/AD) foi observada aos 0, 21 e 42 dias, os quais não diferiram entre si, porém, foram superiores aos 63, 84 e 120 dias ( $P < 0,05$ ). Para a epiderme da face abaxial, maior número de estômatos por  $\text{mm}^{-2}$  (D. EST/AB) também foi observado nas plantas *in vitro* ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, os demais períodos foram significativamente semelhantes entre si (Tabela 2). Respostas semelhantes quanto à densidade de estômatos em plantas micropropagadas foram verificadas por Lee et al. (1988) e Pereira (2004).

**Tabela 2.** Densidade estomática (número de estômatos por  $\text{mm}^2$ ) da epiderme das faces adaxial (D. EST/AD) e abaxial (D. EST/AB) de plantas micropropagadas de bananeira cv. Japira (AAAB) sob a influência do período de aclimatização. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Período (dias)	D. EST/AD	D. EST/AB
0	27,6 a	106,6 a
21	22,1 a	82,1 b
42	22,7 a	88,8 b
63	15,9 b	74,1 b
84	14,7 b	84,5 b
120	14,7 b	90,7 b
CV (%)	40,98	15,84

Médias seguidas por letras distintas, dentro de cada variável avaliada, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

## CONCLUSÕES

Alterações significativas na anatomia foliar de plantas micropropagadas de bananeira 'Japira' são induzidas durante o processo de aclimatização, com maiores modificações em relação aos parênquimas clorofilianos, a hipoderme e densidade de estômatos. A aclimatização de plantas micropropagadas de bananeira cv. Japira, sob as condições deste trabalho, é obtida a partir de 63 dias em casa de vegetação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACUÑA, P. I. Micropropagación de banana a partir de ápices vegetativos. **Corbana**, v. 17, p. 9-12, 1995.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA;DEX, 2000. Software.

GONÇALVEZ, J. C.; DIOGO, G.; COELHO, M. T. Changes in leaf morphology and anatomy of *in vitro*-cultured chestnut plantlets during acclimatization. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 520, p. 183-193, 2000.

JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

LABOURIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. G.; SALGADOLABOURIAU, M. L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-257, jun. 1961.

LEE, N.; WESZTEIN, Y.; SOMMER, H. E. Quantum flux density effects on the anatomy and surface morphology of *in vitro*-and *in vivo* developed sweetgum leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 113, n. 1, p. 167-171, Jan. 1988.

LEE, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipeterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PEREIRA, R. de C. A. **Anatomia foliar comparada de *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel. e *Uncaria tomentosa* (Willdenow Ex Roemerr & Schultes) como subsídio ao estudo de micropropagação *in vitro***. 2004. 133 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation technology and applications**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 71-93.

ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Water Loss and Morphological Modifications in Leaves during Acclimatization of Cork Oak Micropropagated Plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 616, p. 439-442, 2003.

SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. **Fruits**, Paris, v. 49, n. 1, p. 37-46, Jan./Feb. 1994.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp., cultivo *in vitro*, anatomia, endurecimento *ex vitro*.

## **Efeito do hormônio BAP em meristemas apicais de duas cultivares de Maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) em meio MS com diferentes vitaminas.**

Souza, L. M<sup>1</sup>; Andrade, S. R. M<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70910-900, Asa Norte – DF, Fone (61) 3307 2022, e-mail: [leandroms83@yahoo.com.br](mailto:leandroms83@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da EMBRAPA Cerrados, BR 020, km 18, Rodovia Brasília/Fortaleza, Caixa postal 08223, CEP 73310-970, Planaltina – DF, Fone (61) 3388-9866, e-mail [solange@cpac.embrapa.br](mailto:solange@cpac.embrapa.br).

O Brasil é o maior produtor mundial de Maracujazeiro-azedo, produzindo cerca de 450000 toneladas por ano. No entanto, a produtividade tem apresentado queda principalmente por fatores fitossanitários, mudas de baixa qualidade e contaminadas com patógenos, manejo incorreto do solo, irrigação, incidência de pragas e ausência de polinização manual. A necessidade de protocolos específicos para cada cultivar dificulta a utilização do cultivo *in vitro* de explantes, mas, uma vez que medidas tradicionais de controle de viroses não têm tido sucesso, o estabelecimento de explantes meristemáticos *in vitro* se apresenta como uma possibilidade real para realização de limpeza clonal. O presente projeto visa estudar o efeito de diferentes concentrações de BAP e dois tipos de vitaminas. Os explantes utilizados neste trabalho foram meristemas apicais de duas cultivares, com tamanho de aproximadamente 1,5 milímetros, coletados em plantas da coleção de maracujazeiros da Embrapa Cerrados. A desinfecção dos explantes foi feita com imersão em álcool 70% (5 minutos), solução de hipoclorito de sódio 1% (15 minutos) e posterior tríplice lavagem em água destilada e autoclavada por 5 minutos cada. Os ápices foram acondicionados em potes de vidro contendo cerca de 25ml de meio e 4 explantes, sendo levados à câmara de crescimento com análises e troca de meio a cada 21 dias. Foram testadas as vitaminas MS e B<sub>5</sub> e as concentrações de BAP de 0, 1 e 3 mg/l, formando os seguintes tratamentos: meio MS + vitamina MS 1mg/L + 0 mg/L, meio MS + vitamina MS 1mg/L + 1 mg/L, meio MS + vitamina MS 1mg/L + 3 mg/L, o mesmo foi feito com a vitamina B<sub>5</sub>. As avaliações de desenvolvimento e cor foram realizadas aos 21, 42 e 63 dias após transferência para o meio sem BAP. Não foram observadas diferenças significativas no desenvolvimento em função do tratamento, exceto por alguns explantes isolados. Esses resultados podem ser devido ao curto período de tempo de avaliação após indução com BAP, uma vez que trabalhos sobre o efeito do meio de cultura no desenvolvimento apical de maracujá obtiveram respostas aos 60, 90 e 120 dias após a indução.

## Efeito de diferentes concentrações de BAP e Cinetina na micropropagação *in vitro* das variedades RB867515 e RB855156 de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*).

Vieira, Rafael Augusto<sup>1</sup>; Silva, Clandio Medeiros da<sup>2</sup>; Souto, Eliezer Rodrigues de<sup>3</sup>; Machado, Maria de Fátima Pires da Silva<sup>4</sup>; Hata, Fernando Teruhiko<sup>5</sup>; Marcuz, Fernanda Santos<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Graduando em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Agronomia, Av. Colombo, 5.790, CEP 87020-900, Maringá-PR, fone: (044) 99345186, e-mail: [rfavieira@msn.com](mailto:rfavieira@msn.com); <sup>2</sup> Professor Doutor, e-mail: [clandiomedeiros@uol.com.br](mailto:clandiomedeiros@uol.com.br); <sup>3</sup> Professor Doutor, e-mail: [ersouto@uem.br](mailto:ersouto@uem.br); <sup>4</sup> Professora Doutora, Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Biologia Celular e Genética, Av. Colombo, 5.790, CEP 87020-900, Maringá-PR, e-mail: [mfpsmachado@uem.br](mailto:mfpsmachado@uem.br); <sup>5</sup> Graduando em Agronomia, e-mail: [prox\\_fdinhu@hotmail.com](mailto:prox_fdinhu@hotmail.com); <sup>6</sup> MSc. em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, email: [fernandamarcuz@yahoo.com.br](mailto:fernandamarcuz@yahoo.com.br);

### INTRODUÇÃO

A micropropagação é a principal técnica de cultura de tecidos com potencial de utilização na agricultura. A aplicação da propagação *in vitro* em cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) é uma alternativa vantajosa em programas de melhoramento para a multiplicação de variedades, devido à economia de tempo em relação às técnicas convencionais (Lee, 1984). Aliado a isso, obtêm-se mudas de excelente qualidade fitossânitaria, geneticamente uniformes e idênticas ao material vegetal de origem.

No entanto, para que o uso prático tenha viabilidade econômica, faz-se necessária a otimização das condições de cultivo para cada espécie e/ou variedade que se deseja multiplicar. Dentre os fatores relevantes à otimização do protocolo de micropropagação e que possuem relação direta com o desenvolvimento dos explantes, a relação das concentrações de fitohormônios suplementados no meio de cultura tem papel destacado.

Em Amoreira-preta cv. Tupy, a utilização de 6-benzilaminopurina promove aumento na taxa de multiplicação até a concentração de 5,1µM (Erig et al., 2002). Porém, para outras frutíferas, como as da família *Prunaceae*, tais como a Ameixeira 'Santa Rosa' e o pessegueiro, a literatura indica uma correlação negativa entre o aumento da concentração de BAP e o alongamento dos brotos (Rogalski et al., 2003)

Segundo George & Sherrington (1984), o crescimento e a morfogênese *in vitro* são fatores regulados pela interação e balanço dos fitohormônios existentes no meio de cultura, principalmente citocininas e auxinas. As citocininas são utilizadas para quebrar a dominância apical dos brotos, e aumentar a taxa de multiplicação. Deste modo, ocorre um grande número de brotações por meio do crescimento de meristemas laterais.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de meristemas apicais da variedade RB867515 e brotações da variedade RB855156 de cana-de-açúcar, em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com nove diferentes concentrações das citocininas 6-benzilaminopurina e cinetina, e aperfeiçoar o protocolo de micropropagação empregado para a obtenção de mudas de cana-de-açúcar.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Estadual de Maringá – PR, com material vegetal fornecido pela Usina de Álcool e Açúcar USASIGA, localizada em Cidade Gaúcha – PR.

Para o Experimento I, as gemas da variedade RB867515, foram individualizadas e lavadas em hipoclorito de sódio comercial a 20% (v/v) por 40 minutos. Em seguida, enxaguou-se as gemas em água corrente e plantou-se em substrato estéril por 25 dias a 30°C. Ao atingirem cerca 20-25 cm de altura, segmentos

do colmo com cerca de 50 mm, foram extraídos e esterilizados durante 1 minuto em álcool 70% (v/v), 20 minutos em solução de hipoclorito a 20% (v/v) e por fim lavados por três vezes em água destilada autoclavada. Após o processo de assepsia, sob condições estéreis, isolou-se os ápices caulinares em câmara de fluxo laminar com o auxílio de lupa e inoculou-se em tubos de ensaio contendo o meio de cultura próprio de cada tratamento. Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso com, em média, quatro repetições por tratamento. A cultura *in vitro* foi realizada em meio MS ajustado para pH 5.8, suplementado com 1,0 mg/L de tiamina, 100,0 mg/L de inositol, 20.000 mg/L de sacarose e nove diferentes associações de concentrações das citocininas 6-benzilaminapurina e cinetina (Meio 1: Sem adição de fitohormônios; Meio 2: 0,1 mg/L BAP; Meio 3: 0,2 mg/L BAP; Meio 4: 0,1 mg/L KIN; Meio 5: 0,1 mg/L BAP e 0,1 mg/L de KIN; Meio 6: 0,2 mg/L BAP e 0,1 mg/L KIN; Meio 7: 0,2 mg/L KIN; Meio 8: 0,1 mg/L BAP e 0,2 mg/L KIN; Meio 9: 0,2 mg/L BAP e 0,2 mg/L KIN;). A cultura de tecidos foi conduzida em sala de crescimento com temperatura de 25°C, intensidade luminosa de 1.500 lux e fotoperíodo de 12 horas de luz. Foi realizada a avaliação visual dos tratamentos aos 21 dias de desenvolvimento e usou-se como critérios de avaliação, o crescimento lateral e apical dos meristemas, comparando entre os tratamentos e com o meio usual de cultura de tecidos para a cana-de-açúcar (Meio 6; Testemunha).

No Experimento II, obteve-se por micropropagação nos meios 5 e 6, brotações da variedade RB855156. Com aproximadamente 60 dias em câmara de crescimento, as brotações foram transferidas para meio de cultura desprovido de fitohormônios (Meio 1), onde permaneceram por 14 dias. Feito isso, os brotos foram individualizados em câmara de fluxo laminar, pesados, e inoculados nos respectivos meios de cultura regulados para pH 4.0. Após 18 dias em câmara de crescimento, sob as mesmas condições do Experimento I, os propágulos foram pesadas novamente. Portando desses dados, foi calculado o percentual de ganho de massa fresca para os tratamentos. Os percentuais correspondentes foram submetidos à análise de variância e Tukey a 5%. A análise dos percentuais de ganho de massa dos tratamentos foi realizada no programa SASM-Agri (Godoy, 2001). O delineamento foi inteiramente ao acaso, com seis repetições por tratamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento foi observado que o aumento da concentração de BAP e KIN na cultura *in vitro* da cana-de-açúcar não possui relação diretamente proporcional com o desenvolvimento dos meristemas apicais de cana-de-açúcar. Dessa forma, pode-se inferir que o balanço das concentrações dos reguladores de crescimento é um fator relevante na morfogênese e multiplicação de meristemas em cana-de-açúcar. Os meios 5 e 6 propiciaram desenvolvimento superior, sendo, portanto os mais recomendados para cultura de meristemas da variedade RB867515 (Quadro 1).

Quadro 1. Avaliação comparativa de crescimento lateral e apical dos ápices caulinares nos nove tratamentos aos 21 dias de cultura *in vitro*.

Meio de cultura	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Grau de Desenvolvimento	**	**	**	*	***	***	*	*	*

(\*) Grau 1: Desenvolvimento fraco; (\*\*) Grau 2: Desenvolvimento regular; (\*\*\*) Grau 3: Desenvolvimento bom.

No entanto, o meio 5 apresentou maior grau de desenvolvimento, comparado aos demais tratamentos, superando inclusive o meio usual (Meio 6) quanto ao crescimento lateral e apical. (Figura 1)

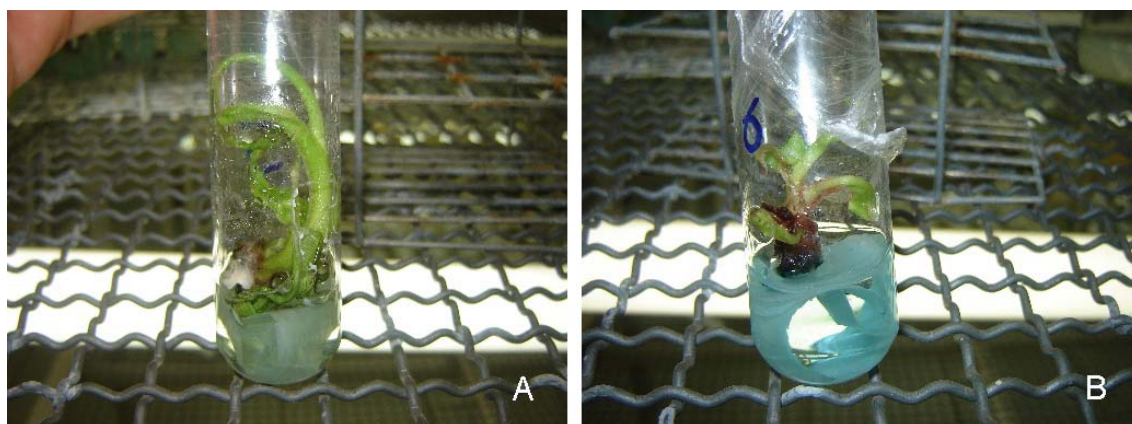


Figura 1. Desenvolvimento de meristema apical de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) variedade RB867515 no meio 5 (A) e no meio 6 (B).

No segundo experimento, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos a níveis de 1% e 5% no teste F (Quadro 2). Segue no Quadro 3 as médias dos percentuais de ganho de massa fresca dos nove meios testados.

Quadro 2. Análise de variância para o segundo experimento.

Causa da Variação	G.L	S.Q.	Q.M.	F	F (5%)	F (1%)	
Tratamento	8	4617,157	577,145	2,108	2,187	3,006	Ns
Resíduo	39	10679,973	273,845				
Total	47	15297,130					
C.V.							30,52%

Quadro 3. Percentual de ganho de massa fresca por tratamento.

Meio de Cultura	1	2	3	4	5	6	7	8	9
% de ganho de massa fresca	36,80	67,42	60,63	44,86	59,18	68,35	47,54	54,58	50,59

## CONCLUSÕES

Os meios 5 e 6 são os mais adequados para a cultura de meristemas de cana-de-açúcar variedade RB857515, pois propiciaram a melhor interação e balanço fitohormonal, favorecendo o crescimento e a morfogênese do explante.

O aumento das concentrações de fitohormônios no meio de cultura não implicou necessariamente no melhor desenvolvimento, tanto para meristemas quanto

para as brotações, confirmando que a interação e o balanço das citocininas 6-benzilaminopurina e Cinetina tem efeito sob a cultura *in vitro* de cana-de-açúcar.

Para as brotações da variedade RB855156, os meios de cultura não apresentaram diferença significativa de ganho de massa fresca. No entanto, foi observado maior número de brotações laterais no meio 6.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ERIC, A.C.; DE ROSSI, A.; FORTES, G.R.L. 6- Benzilaminopurina e ácido indolburítico na multiplicação *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus idaeus* L.) cv. Tupy. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, n.5, p.765-770, 2002.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. *Plant propagation by tissue culture*. Eversley : Exegetics, 1984. 709p.

GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação*, v.1, n.2, p.18-24. 2001.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCTP/Embrapa, p.99-169, 1990.

LEE, T.S.G. Micropropagação de cana-de-açúcar através de cultura de meristema apical. *Saccharum APC*, v.7, p. 36-39, 1984.

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

ROGALSKI, M.; GUERRA, M. P.; DA SILVA, A. L. Multiplicação *in vitro* da ameixeira Santa Rosa: Efeito da citocinina BAP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 365-367, 2003.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Saccharum spp.*; cultivo *in vitro*; citocininas;



## Luz natural no cultivo *in vitro* de *Musa* spp.: uma alternativa a utilização de lâmpadas fluorescentes na fase de enraizamento.<sup>1</sup>

Fontes, Zacharias Dannyel de Alencar Guedes<sup>2</sup>; Santos, Adriene Matos dos<sup>3</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>3</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>3</sup>.

<sup>2</sup> Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, Departamento de Biologia, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [zacariasdannyl@terra.com.br](mailto:zacariasdannyl@terra.com.br); <sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG.

### INTRODUÇÃO

Dentre os avanços obtidos para diminuição dos custos de produção, a substituição das lâmpadas fluorescentes comumente utilizadas nas salas de crescimento pela luz natural ou solar, associado ou não a redução nos níveis exógenos de sacarose, são um dos mais importantes (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Sendin, 2001; Rocha, 2005). Isso porque os gastos com iluminação artificial nas salas de cultivo representam cerca de 65% do total de energia elétrica (Standaert de Metsenaere, 1991). Adicionalmente, modificações nas concentrações exógenas de carboidratos nos meios de cultivo podem promover efeitos benéficos ou deletérios as culturas *in vitro*, já que influenciam vários processos metabólicos nas plantas, com efeitos diretos sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos (George, 1996), além de ser fator determinante para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência de plantas na aclimatização (Calvete, 1998).

Efeitos benéficos da luz solar associada a algumas modificações na composição nutricional e física dos meios de cultura foram observadas para a micropropagação das cultivares de bananeira Grande Naine (AAA) e Maçã (AAB), com redução nos custos de produção das mudas de até 90% (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Sendin, 2001). Contudo, a existência de informações e de entendimento sobre os efeitos advindos das modificações no ambiente de cultivo *in vitro*, especialmente pelo uso da luz natural, sobre as plantas cultivadas *in vitro* ainda são incipientes. Assim, objetivou-se avaliar a influência do ambiente de cultivo e concentrações de sacarose sobre o crescimento e anatomia de cultivares de bananeira na fase de enraizamento *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Brotações axilares de bananeira (2,0 a 3,0 cm), originadas da fase de multiplicação e mantidas a 16 horas de irradiância ( $42 \text{ W.m}^{-2}$ ) e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , foram utilizadas como explantes. Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962),  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético) e  $6 \text{ g.L}^{-1}$  de ágar, com pH 5,8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento, que consistiram de duas concentrações de sacarose ( $15$  e  $30 \text{ g.L}^{-1}$ ), duas cultivares de bananeira [Caipira (AAA) e Pacovan (AAB)] e dois ambientes de cultivo (sala de crescimento – artificial e casa de vegetação – natural), em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2$ . O cultivo foram realizados em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio e selados com filme transparente.

O ambiente artificial foi constituído de uma sala de crescimento, possuindo iluminação fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial), com irradiância média de  $42 \text{ W.m}^{-2}$ , fotoperíodo de 16 horas e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . O ambiente natural consistiu de uma casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns) e sombreamento de 70%, apresentando os seguintes parâmetros ambientais: (temperaturas máximas, mínimas e médias de  $26^\circ\text{C}/32^\circ\text{C}$ ;  $16^\circ\text{C}/16^\circ\text{C}$  e  $20^\circ\text{C}/23^\circ\text{C}$ ) e (irradiâncias máximas, mínimas e médias de  $93,95 \text{ W.m}^{-2}/199,69 \text{ W.m}^{-2}$ ;  $11,13 \text{ W.m}^{-2}/10,66 \text{ W.m}^{-2}$  e  $49,38 \text{ W.m}^{-2}/99,43 \text{ W.m}^{-2}$ ), referentes a dias nublado e claro típicos do período de experimentação. Dados de radiação solar diurna, incidente na

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

altura dos frascos, foram obtidos por sensores de radiação (LI-200SA, Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Li-cor.Neb), a intervalos de meia hora, enquanto os dados de temperatura foram obtidos com termo-higrógrafo.

Decorrido 45 dias de enraizamento *in vitro*, foram avaliados: altura da parte aérea, número de folhas senescentes e massa seca total. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições e quatro explantes por parcela. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos às análises de variâncias individuais (para cada ambiente de cultivo), realizando em seguida o teste de homogeneidade de variância e a análise conjunta dos ambientes. Para isso, o programa estatístico SISVAR 4.3 (Ferreira, 2000) foi utilizado, sendo as médias comparadas pelo Teste F a 5 % de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhuma interação significativa entre os três fatores estudados (Ambiente x Sacarose x Cultivar) foi observada. Por outro lado, efeito significativo ocorreu somente entre as interação A x S e C x S para a variável NF'SEN (Tabelas 1) e NF'SEN, APA e MST (Tabelas 1 e 2), respectivamente. Influência do ambiente de cultivo sobre as cultivares (A x C) foi ainda observada, neste caso para APA e MST (Tabela 2).

Para o número de folhas senescentes (NF'SEN), resultado significativamente superior foi verificado em plantas enraizadas em ambiente natural, tanto com 15 g.L<sup>-1</sup> quanto 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. Entre as cultivares, diferenças significativas foram observadas apenas para 'Caipira', com maior senescência foliar na concentração de 15 g.L<sup>-1</sup> (Tabela 1). Essa maior senescência foliar em ambiente natural é benéfica para a qualidade das plantas, favorecendo inclusive seu posterior desenvolvimento *ex vitro*. Isso porque as novas folhas emitidas sob luz solar estão mais sujeitas à influência de flutuações ambientais (temperatura, irradiância e umidade), as quais são mais parecidas às condições do ambiente *ex vitro*, fato que pode possibilitar rustificação das plantas e conseqüentemente menor estresse no momento do transplantio para a casa de vegetação.

**Tabela 1.** Número de folhas senescentes (NF'SEN) de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (Natural e Artificial) e da sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 45 dias de enraizamento *in vitro*. UFLA, Lavras-MG, 2007.

Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )	Ambiente		Média	Cultivar		Média
	Natural	Artificial		Caipira	Pacovan	
15	1,9 Aa	0,4 Ba	1,2 a	1,2 Aa	1,2 Aa	1,2 a
30	1,4 Ab	0,6 Ba	1,0 a	0,7 Bb	1,3 Aa	1,0 a
<b>Médias</b>	1,7 A	0,5 B		0,9 B	1,2 A	
<b>CV (%)</b>	20,57					

Médias seguidas por letras distintas, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Quanto ao suprimento exógeno de sacarose, é sugerido que as folhas formadas *in vitro*, na presença deste carboidrato, iniciam um importante papel na fotossíntese, contribuindo para a emissão e expansão de novas folhas *in vitro* e durante o posterior desenvolvimento *ex vitro* (Yué et al., 1993). No entanto, apesar das folhas formadas *in vitro* mostrarem função nutritiva transitória, o subsequente crescimento *ex vitro* pode ser suportado somente pelas folhas formadas após o transplantio (Grout & Millam, 1985).

Em relação à altura da parte aérea, maiores médias para a cultivar Caipira foram obtidas em ambiente artificial com 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, enquanto que para a 'Pacovan' o cultivo em ambiente artificial e a concentração de 15 g.L<sup>-1</sup> foi o tratamento que promoveu resultados significativamente superiores (Tabela 2). A menor altura em plantas sob ambiente natural já era esperada, uma vez que as brotações utilizadas neste trabalho foram obtidas de ambiente com níveis de irradiância inferiores àqueles verificados no ambiente de casa de vegetação, fato que possivelmente favoreceu a senescência de folhas e o maior estresse das brotações. Por outro lado, brotações submetidas ao ambiente artificial não aparentaram apresentar estresse ambiental, como a senescência das folhas

advindas da fase de multiplicação, pois continuaram sob o mesmo nível de irradiância, favorecendo assim seu contínuo crescimento.

**Tabela 2.** Altura da parte aérea e massa seca total de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (Natural e Artificial) e da sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 45 dias de enraizamento *in vitro*. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Cultivar	Ambiente		Média	Sacarose		Média
	Natural	Artificial		15	30	
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>						
Caipira	4,2 Ba	6,6 Aa	5,4 a	5,3 Ab	5,5 Aa	5,4 a
Pacovan	3,7 Bb	6,8 Aa	5,3 a	5,8 Aa	4,8 Bb	5,3 a
<b>Médias</b>	4,0 B	6,7 A		5,5 A	5,1 B	
<b>CV (%)</b>	9,48					
<b>Massa seca total (g)</b>						
Caipira	0,11 Aa	0,10 Ab	0,10 b	0,10 Aa	0,11 Ab	0,10 b
Pacovan	0,12 Ba	0,15 Aa	0,13 a	0,11 Ba	0,16 Aa	0,13 a
<b>Médias</b>	0,11 A	0,13 A		0,11 B	0,13 A	
<b>CV (%)</b>	21,13					

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Outra possível razão para o reduzido crescimento das plantas em ambiente de luz natural pode ser atribuída as baixas temperaturas (16°C e 20°C) observadas nesta condição de cultivo. De acordo com Robinson (2003), a bananeira é uma espécie frutífera tropical, para a qual a temperatura ótima para emergência foliar é cerca de 31°C, e a temperatura global média para o ótimo crescimento (assimilação) e desenvolvimento (emergência foliar) é aproximadamente de 27°C.

Para a massa seca total, nenhum efeito significativo do ambiente de cultivo e sacarose foi notado para a cultivar 'Caipira', diferentemente da cultivar 'Pacovan', em que o ambiente artificial com 30 g.L<sup>-1</sup> proporcionou resultados superiores (Tabela 2). Esta ausência de diferenças observada para MS total na cultivar 'Caipira' demonstra que, embora as brotações crescidas em ambiente de luz natural tenham apresentado plantas com menor altura da parte aérea, possivelmente tenha havido menor acúmulo de água nos tecidos submetidos a esta condição, já que a massa seca representa o crescimento efetivo de quaisquer órgãos vegetais. Efeitos semelhantes do ambiente de cultivo foram também verificados por Rocha (2005), em que o meio de enraizamento acrescido com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose na condição de luz natural e artificial, possibilitou os maiores valores para a variável massa seca total (MS'T), com 0,46 g e artificial 0,31 g. Navarro et al. (1994), trabalhando com a cv. 'Grande Naine' (AAA), observaram que após 30 dias de cultivo *in vitro* o rendimento de massa seca sob alta intensidade luminosa (240 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) foi 2,3 vezes superior ao tratamento controle (30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>).

Efeitos positivos da adição exógena de sacarose e do aumento na intensidade luminosa foram anteriormente reportados por Marchal et al. (1992), com a banana cv. 'Grande Naine' (AAA), os quais demonstraram que o aumento da intensidade luminosa de 45 para 340 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, com 40 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, promoveu ganho de massa fresca (1,89 e 3,87 g) e seca (0,12 e 0,24 g) das plantas, além de causar redução quanto a altura da parte aérea (3,33 e 2,88 cm). Respostas benéficas advindas do uso da luz natural (estufa) foram também reportadas por Talavera et al. (2005) em plantas de *Cocos nucifera* L, que tiveram maior taxa fotossintética do que àquelas cultivadas em sala de crescimento convencional. Em termos de crescimento, as condições de estufa foram ligeiramente superiores quanto ao acúmulo de massa fresca e seca das plantas, assim como para número de folhas.

## CONCLUSÕES

Com exceção da altura da parte aérea, o cultivo *in vitro* das brotações sob ambiente de luz natural e meio contendo 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose proporciona as melhores respostas para a cultivar Caipira. Para a cultivar Pacovan o cultivo sob luz artificial sob 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose possibilita melhores resultados; embora a luz natural pode ser satisfatoriamente utilizada. É

possível o uso da luz natural em detrimento das lâmpadas fluorescentes para o enraizamento *in vitro* de bananeira.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALVETE, E.O. **Concentração de sacarose *in vitro* e seleção de substratos para aclimatização *ex vitro* de morangueiro cv campinas (*Fragaria ananassa* Duch.)**. 1998. 108f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA;DEX, 2000. Software.
- GEORGE, E.F. **Plant Propagation by Tissue Culture**. 2. Ed., Edington: Exegetics, 1996. 1361 p. Part 2: In Practice.
- GROUT, B.; MILLAM, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. **Annals of Botany**, v. 55, p. 129-131, 1985.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1999.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 66, p. 67-71, 2001.
- KOZAI, T.; KUBOTA, C.; BYOUNG, R.J. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 51, p. 49-56, 1997.
- MARCHAL, J.; SENS, I.; TEISSON, C. Influence des sucres et de facteurs bioclimatiques sur la culture *in vitro* du bananier. **Fruits**, v. 47, n. 1, 1992.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NAVARRO, C.; TEISSON, C.; CÔTE, F.; GANRY, J. Effects of light intensity and CO<sub>2</sub> concentration on growth of banana plants (*Musa* AAA, cultivar 'Petite Naine') *in vitro* and subsequent growth following acclimatization. **Scientia Horticulturae**, v. 60, p. 41-54, 1994.
- ROBINSON, J.C. **Bananas and plantains**. Wallingford: CAB International. v. 5, p. 48-69, 2003. 238 p.
- ROCHA, H.S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas**. 2005. 98p. :il. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SENDIN, A.P.P.M. **Micropropagação de bananeira dos cultivares Maçã e Grande Naine visando a produção de mudas de baixo custo**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 2001. 72 p.
- STANDAERT-DE-METSANAERE, R.E.A. Economic considerations. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. **Micropropagation technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 131-140.
- TALAVERA, C.; CONTRERAS, F.; ESPADAS, F.; FUENTES, G.; SANTAMARÍA, J.M. Cultivating *in vitro* coconut palms (*Cocos nucifera*) under glasshouse conditions with natural light, improves *in vitro* photosynthesis nursery survival and growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 83, p. 287-292, 2005.
- YUÉ, D.; GOSSELIN, A.; DESJARDINS, Y. Re-examination of the photosynthetic capacity of *in vitro*-cultured strawberry plantlets. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 118, p. 419-424, 1993.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; níveis de irradiância; sacarose; micropropagação.

## Micropropagação do abacaxizeiro 'Imperial', em função do acréscimo de água de coco e BAP no meio de cultivo.<sup>1</sup>

Fontes, Zacharias Dannyel de Alencar Guedes<sup>2</sup>; Matos, Adriene Matos<sup>3</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>3</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>3</sup>.

<sup>2</sup> Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, Departamento de Biologia, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [zacariasdannnyel@terra.com.br](mailto:zacariasdannnyel@terra.com.br); <sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG.

### INTRODUÇÃO

A cultivar Imperial, resultante do cruzamento de 'Perolera' com 'Smooth Cayenne', foi lançado pela *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, em 2003, para plantio em regiões adequadas a abacaxicultura, especialmente onde a fusariose é fator limitante para a produção. Além de ser resistente a fusariose, a planta apresenta como principais características o porte médio, folha sem espinhos nas bordas, fruto de boa qualidade e com reação de resistência ao escurecimento interno (tanto sob armazenamento em temperaturas de 10°C e 14°C quanto em condições de temperatura ambiente). No entanto, possui lento crescimento e produz apenas entre 3 a 9 mudas tipo filhote e somente 1 tipo rebentão (Cabral & Matos, 2005), o que é considerado um fator limitante a sua rápida validação entre os produtores rurais. De acordo com Sá (2001) as taxas de multiplicação geralmente obtidas pelo uso de técnicas convencionais de propagação (seccionamento do caule, rebentos, etc) são consideradas baixas, especialmente quando o objetivo é difundir clones superiores recentemente lançados por programas de melhoramento genético.

Nesse contexto, diversos trabalhos têm reportado a importância da multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro como uma valiosa ferramenta para a rápida propagação clonal de material propagativo de elevado padrão genético e fitossanitário, em curto espaço de tempo (Barboza et al., 2004; Sá, 2001; Teixeira et al., 2001). Em geral, a propagação *in vitro* de plantas é altamente dependente da adição exógena de substâncias reguladoras de crescimento (citocininas, auxinas, etc), assim como também de substâncias ditas complexas como a água de coco, que irão exercer grande influência sobre o crescimento e desenvolvimento das culturas. No caso da água de coco, é documentado que seu acréscimo ao meio de cultura, entre 3 a 15% (v/v), tem ampla utilização em diversas espécies *in vitro*, agindo sobre diversas respostas morfogênicas, o que é atribuído ao fato de conter sais minerais, mio-inositol e citocinina(s), bem como outros compostos orgânicos (Caldas et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas *in vitro* de brotações axilares de abacaxizeiro cv. Imperial sob o efeito de concentrações de BAP e água de coco.

### MATERIAL E MÉTODOS

Brotações axilares de abacaxizeiro 'Imperial', provenientes do cultivo *in vitro* em meio basal de MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, foram utilizadas como explantes. Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio de mesma constituição acima, com pH 5.8, onde foram aplicados os tratamentos. Os tratamentos consistiram de quatro concentrações de BAP (6-benzilaminopurina) (0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg.L<sup>-1</sup>) e quatro concentrações de água de coco (0; 150; 200 e 250 mL.L<sup>-1</sup>), num total de 16 tratamentos. Os cultivos foram realizados em frascos de 250 mL contendo 60 mL de meio, selados com filme transparente e mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C e 16 horas de irradiância (42 W.m<sup>-2</sup>).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4, com quatro repetições e quatro explantes por parcela. As avaliações foram realizadas após quarenta e cinco de cultivo, considerando as seguintes variáveis: altura da parte aérea,

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

número de brotos e raízes. Para a análise de variância utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Interação significativa entre os fatores estudados (BAP e água de coco) foi observada apenas para o número de brotos e raízes. Já em relação à altura da parte aérea, os fatores influenciaram de maneira isolada.

Os melhores resultados para a altura da parte aérea foram observados em meio acrescido de 150 mL.L<sup>-1</sup> (15%) de água de coco ou desprovido de BAP ( $P<0,05$ ) (Tabela 1). Efeito positivo do acréscimo de água de coco no crescimento de espécies *in vitro* foi reportado por Simões et al. (1999) para meristemas de *Epidendrum* sp. e *Dendrobium* sp. (Orchidaceae).

Já quanto ao número de brotos, nenhuma diferença significativa entre as concentrações de água de coco foi observada em meio suplementado com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP ou desprovido deste regulador, diferentemente das demais concentrações de BAP (0,5 e 1,5 mg.L<sup>-1</sup>). Contudo, maior número médio de brotos (8,86) foi verificado pela combinação entre 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 200 mL.L<sup>-1</sup> (20%) de água de coco ( $P<0,05$ ) (Tabela 1). Este efeito benéfico advindo da combinação entre BAP e água de coco pode ser atribuído ao fato da água de coco ter em sua constituição citocinina(s), bem como outros compostos orgânicos e minerais (Caldas et al., 1998), favorecendo assim a maior proliferação de brotos. Já em relação à aplicação exógena de BAP, diversos trabalhos têm reportado sua relevância na produção de brotos *in vitro* de abacaxi (Almeida et al., 2002; Barboza et al., 2004), sendo a concentração utilizada genótipo-dependente.

**Tabela 1.** Altura da parte aérea e número de brotos e de raízes em abacaxizeiro 'Imperial' em função do acréscimo de BAP e água de coco ao meio de cultivo, após x dias de multiplicação *in vitro*. UFLA, Lavras, MG (2006).

BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	Água de coco (mL.L <sup>-1</sup> )				Média
	0	150	200	250	
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>					
0,0	2,22	3,08	2,33	2,41	2,51 a
0,5	1,83	2,16	1,97	1,84	1,95 b
1,0	1,58	1,71	1,69	1,39	1,59 c
1,5	1,28	1,41	1,46	1,48	1,41 c
<b>Média</b>	1,73 B	2,09 A	1,86 B	1,78 B	
<b>Número de brotos</b>					
0,0	0,56 Aa	0,81 Ab	0,25 Ac	0,38 Ab	0,50 c
0,5	6,38 Aa	4,60 Aa	1,50 Bc	4,31 Aa	4,20 b
1,0	3,31 Ab	3,43 Aa	5,84 Ab	4,81 Aa	4,35 b
1,5	4,06 Bb	5,69 Ba	8,86 Aa	5,25 Ba	5,96 a
<b>Média</b>	3,58 A	3,63 A	4,11 A	3,69 A	
<b>Número de raízes</b>					
0,0	2,88 Ca	5,50 Ba	6,31 Aa	5,19 Ba	4,97 a
0,5	0,31 Ab	0,73 Ab	0,25 Ab	0,13 Ab	0,35 b
1,0	0,00 Ab	0,04 Ab	0,06 Ab	0,25 Ab	0,09 b
1,5	0,25 Ab	0,00 Ab	0,00 Ab	0,06 Ab	0,08 b
<b>Média</b>	0,86 B	1,57 A	1,66 A	1,41 A	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em relação ao número de raízes, efeitos significativos das concentrações de água de coco somente foram verificados na ausência de BAP, com maior número de raízes em meio suplementado com 200 mL.L<sup>-1</sup> (20%) ( $P<0,05$ ) (Tabela 1).

Os resultados aqui obtidos também estão em concordância com Sim et al. (2007), que avaliando os efeitos da suplementação do meio de cultivo com água de coco em

protocormos *in vitro* de *Dendrobium Madame* (Orchidaceae) verificaram a eficiência deste componente sobre a indução de hastes florais, raízes e brotos axilares comparado ao controle (sem água de coco). Já em abacaxizeiro nenhum relato foi encontrado sobre a utilização de água de coco visando induzir repostas morfogênicas.

## CONCLUSÕES

A suplementação do meio MS apenas com 15% ou 20% de água de coco promove efeitos positivos sobre a altura da parte aérea e número de raízes em abacaxizeiro 'Imperial'. Maior resposta para a produção de brotações axilares é obtida pela combinação de BAP (1,5 mg.L<sup>-1</sup>) e água de coco (200 mL.L<sup>-1</sup>).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, W.A.B. de; SANTANA, G.S.; RODRIGUEZ, A.P.M.; COSTA, M.A.P. de C. Optimization of a protocol for the micropropagation of pineapple. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 24, n. 2, p. 296-300, 2002.
- BARBOZA, S.B.S.; CALDAS, L.S.; SOUZA, L.A.C. Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 725-733, 2004.
- CABRAL, J.R.S.; MATOS, A.P. de. **Imperial, Nova Cultivar de Abacaxi**. Cruz da Almas, BA: Embrapa-CNPMF, 2005. 4p. (Embrapa-CNPMF. Comunicado Técnico, 114).
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, v. 1. p. 87-132, 1998.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.
- MURASHIGE, T.; SKOOG F. A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- SÁ, M.E.L. de. Propagação *in vitro* de diferentes genótipos de abacaxizeiro por meio de seccionamento de plântulas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 23, n. 1, p. 017-020, 2001.
- SIMÕES, F.C.; PAIVA, P.D.O.; RODRIGUES, T.M. Efeito de diferentes meios de cultura, água de côco e carvão ativado na propagação *in vitro* de meristemas de *Epidendrum* sp. e *Dendrobium* sp. In: 12<sup>a</sup> Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, Jaboticabal. Anais...1999. p.109.
- SIM, G.E.; LOH, C.S.; GOH, C.J. High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium Madame Thong-In* (Orchidaceae). **Plant Cell Reports**, v. 26, p. 383-393, 2007.
- TEIXEIRA, J.B.; CRUZ, A.R.R.; FERREIRA, F.R.; CABRAL, J.R.S. **Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através da micropropagação**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 26p. (Documentos, 70).

## PALAVRAS-CHAVE

*Ananas comosus* L.; compostos orgânicos; regulador de crescimento; cultivo *in vitro*.

## **Clonagem e Estudo Funcional do Promotor do Gene DREB de Mamona –*Ricinus communis* L.**

**Morais, Anjélica Taveira<sup>1</sup> ; Aragão, Francisco José Lima<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Caixa Postal 04457, CEP 70910-970, Brasília, Distrito Federal, fone (61) 3307-2828, e-mail: [angelicataveira@gmail.com](mailto:angelicataveira@gmail.com); <sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa-Cenargen), Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W5 Norte (final), Caixa Postal 02372, CEP 70770-900, Brasília, Distrito Federal, Fone: (61) 3448-4700 ,e-mail: [aragao@cenargen.embrapa.br](mailto:aragao@cenargen.embrapa.br).

Um dos principais estresses que restringem a capacidade e a eficiência da planta realizar os processos bioquímicos importantes é a falta de água. As conseqüências para o vegetal vão desde alterações no volume celular à desnaturação de importantes proteínas, e dependendo da intensidade do estresse, poderá ocasionar a morte da planta. Com isso, as plantas apresentam mecanismos bioquímicos que respondem ao estresse hídrico. Estas respostas envolvem as funções de muitos genes que podem ocorrer em segundos ou levar horas, conferindo ao vegetal a capacidade de tolerar aquela condição desfavorável. Um dos mecanismos gênicos envolvidos na geração de respostas ao estresse hídrico em plantas, é mediado pela expressão do gene *DREB-CBF* (Dehydration-responsive element binding protein/C-repeat-binding factor). Este gene codifica para uma proteína regulatória, proteína DREB, um fator de transcrição que está envolvido na ativação de outros genes relacionados à tolerância ao estresse hídrico. Trabalhos indicaram que uma maior expressão do gene *DREB* de arroz em plantas transgênicas de *Arabidopsis*, aumentaram a tolerância deste por períodos de falta de água. Então, temos trabalhado para a clonagem do gene *DREB* de mamona, conhecidamente uma planta com grande tolerância a seca, e superexpressá-lo em plantas de tabaco e assim estudar as respostas de tolerância à seca nesta planta modelo. Para isso, clonamos a região completa do promotor, e estamos concluindo o seqüenciamento da região codante. Esperamos no futuro extrapolar os melhores resultados, em caso positivo, para culturas de maior importância.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Estresse hídrico; *DREB*; *Ricinus communis* L.



## Efeito do BAP e ANA no cultivo *in vitro* de pequiizeiro.

<sup>1</sup>Martinotto, Cristiano; <sup>2</sup> Paiva, Renato; <sup>3</sup> Marques Jr., Jessé; <sup>4</sup> Rodrigues, Marcelo; <sup>5</sup> Santos, Breno Régis Santos; <sup>6</sup> França, André Cabral;

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Prof. Dr. DBI-UFLA e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [jesseagronomo@yahoo.com.br](mailto:jesseagronomo@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Bolsista de iniciação científica, e-mail: [marcelo@cbiologicas.ufla.br](mailto:marcelo@cbiologicas.ufla.br); <sup>5</sup>Dr. em Fisiologia Vegetal, e-mail: [brenors@yahoo.com.br](mailto:brenors@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Doutorando em Fitotecnia, DAG(UFLA), e-mail: [cabralfranca@yahoo.com.br](mailto:cabralfranca@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

O pequiizeiro (*Caryocar brasiliense*) é uma espécie que vem se destacando pelo seu alto valor econômico, porém, está em risco de extinção devido à destruição em ritmo acelerado das vegetações nativas pelo avanço das fronteiras agrícolas e pelo extrativismo de seus frutos. Por ser uma espécie de grande potencial social econômico e ambiental, tem-se grande interesse em produção em larga escala para emprego em programas de recuperação de áreas degradadas (Melo, 1987), torna-se necessário uma produção contínua e em grande número de mudas. Por apresentar dormência em suas sementes, a propagação do pequiizeiro necessita de estudos para a obtenção de mudas por via assexuada.

Técnicas de cultura de tecidos têm sido utilizadas principalmente quando a propagação sexuada é insatisfatória e a reprodução por sementes não ocorrer naturalmente. O cultivo *in vitro* é uma ferramenta útil para a propagação do pequiizeiro e, pelo conhecimento de seu processo de crescimento e desenvolvimento, pode-se favorecer a formação de mudas em quantidade suficiente para atender à demanda do mercado, além de contribuir para o aumento de populações degradadas pelo extrativismo.

O sinergismo entre auxinas e citocininas é determinante no controle da morfogênese *in vitro*. Elevadas concentrações de citocininas e baixas de auxinas induzem, em geral, a formação de gemas em detrimento da formação de raízes e, invertendo-se esta relação, as gemas são inibidas havendo indução de raízes (Santana, 2003).

Martinotto (2004) relata que as plantas nativas do cerrado vêm sendo amplamente utilizadas em estudos de micropropagação, para a multiplicação rápida de plantas selecionadas, conservação e transporte de germoplasma.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito dos reguladores BAP e ANA no cultivo *in vitro* de pequiizeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras.

Foram utilizados como explantes iniciais, brotações de pequiizeiro de um centímetro, obtidas pelo cultivo *in vitro* segundo protocolo desenvolvido por Santos et al. (2006).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 15 repetições, sendo cada repetição constituída por um tubo de ensaio.

Para verificar o efeito da interação entre BAP e ANA (ácido naftalenoacético), o meio de cultivo WPM foi acrescido de 7g L<sup>-1</sup> de ágar, 400mg L<sup>-1</sup> de PVP, 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, e diferentes concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0, 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg L<sup>-1</sup>), e as suas possíveis interações totalizaram 24 tratamentos (Tabela 1).

**TABELA 1.** Combinação entre os reguladores de crescimento BAP e ANA.

Reguladores de crescimento			Reguladores de crescimento		
TRAT	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	TRAT	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	BAP (mg L <sup>-1</sup> )
T1	0,0	0,0	T13	0,0	1,0
T2	0,5	0,0	T14	0,5	1,0
T3	1,0	0,0	T15	1,0	1,0
T4	2,0	0,0	T16	2,0	1,0
T5	4,0	0,0	T17	4,0	1,0
T6	8,0	0,0	T18	8,0	1,0
T7	0,0	0,5	T19	0,0	2,0
T8	0,5	0,5	T20	0,5	2,0
T9	1,0	0,5	T21	1,0	2,0
T10	2,0	0,5	T22	2,0	2,0
T11	4,0	0,5	T23	4,0	2,0
T12	8,0	0,5	T24	8,0	2,0

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15 mL de meio, sendo o pH do meio de cultivo ajustado para 5,8 e, posteriormente, autoclavado a 121°C por 20 minutos.

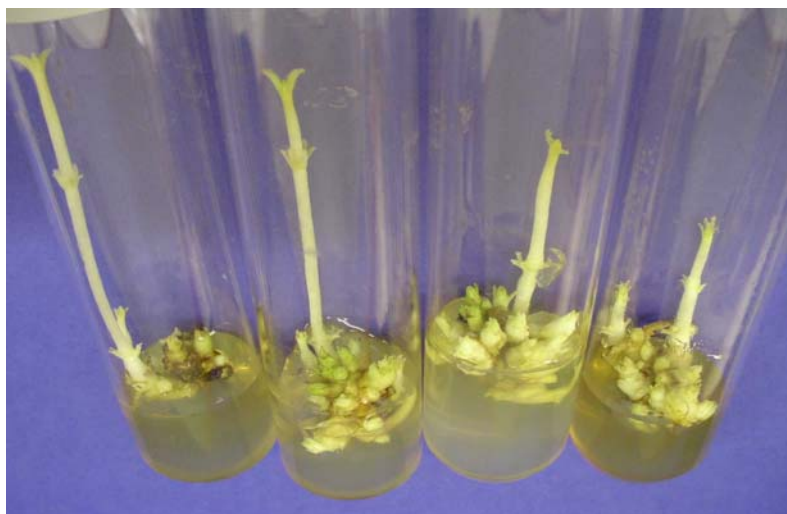
Após a inoculação, os tubos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de 25±1°C no escuro (provocar estiolamento).

Aos 45 dias de cultivo, foram avaliados o número de brotações comprimento médio das três maiores brotações.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

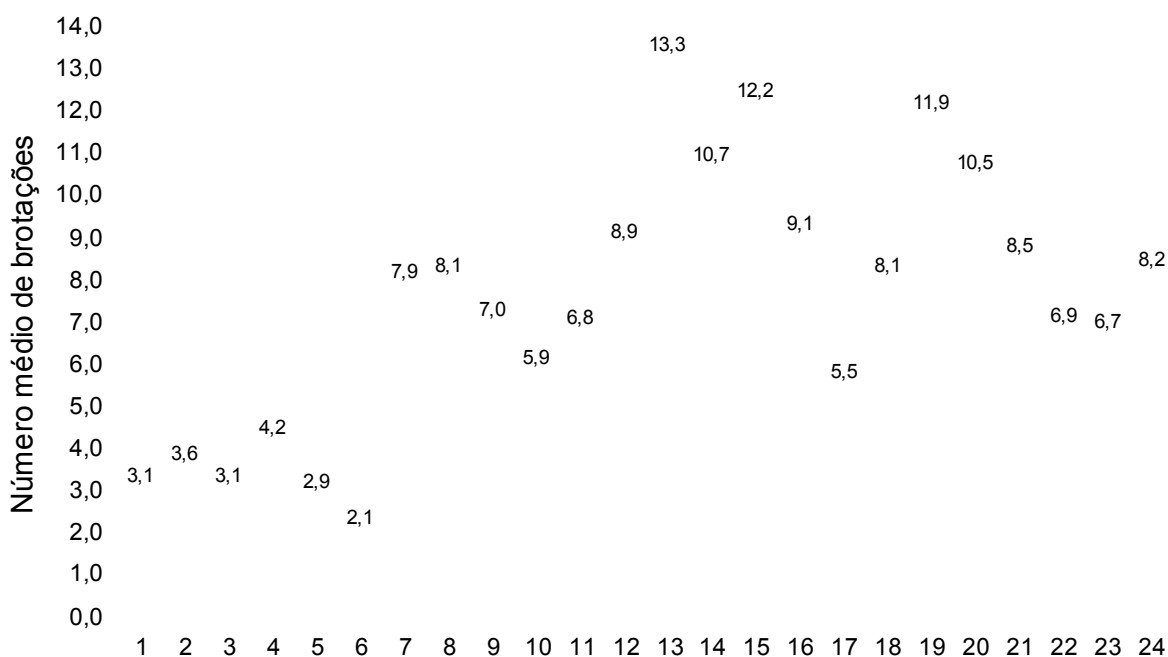
De acordo com a análise de variância realizado, houve diferença significativa a nível de 5% pelo teste de Scott-Knott (1974) para o número de brotações e comprimento médio das três maiores brotações.

Os melhores resultados para número de brotações foram obtidos com os tratamentos 13, 15, 19, 14 e 20 (Tabela1) com 13,3, 12,2, 11,9, 11,7 e 10,5 brotações respectivamente, os quais não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de médias aplicado (Figura 3). Estes resultados mostram-se bem superiores aos obtidos por Santos et al. (2006), o qual obteve 6 brotações por explante utilizando 0,75 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de ANA cultivando na presença de luz. Esta diferença também pode estar associada à origem do explante, uma vez que este autor utilizou brotações de plântulas germinadas *in vitro*, sendo que neste trabalho foram utilizadas brotações obtidas pelo protocolo desenvolvido por Santos et al. (2006). Maran et. al. (2004) obtiveram maior biomassa seca e fresca de parte aérea e de raiz e maior área foliar na micropropagação do morangueiro à medida que foi subcultivado *in vitro*, indicando que plantas estabelecidas a mais tempo *in vitro* respondem diferente do que plantas recém estabelecidas.



**FIGURA 2.** Aspecto das brotações obtidas durante o experimento.

Para o comprimento médio das três maiores brotações, o melhor resultado foi obtido pelo tratamento 7 com 22,9 mm de comprimento seguido do tratamento 13 com 16,2mm, os quais diferiram significativamente entre si (Fig 4). No melhor tratamento, a média das três maiores brotações foi cerca de duas vezes maior do que o melhor tratamento obtido por Santos et al. (2006). Além do fator fonte do explante citado anteriormente, podemos inferir que o cultivo no escuro proporcionou um maior desenvolvimento em altura no cultivo *in vitro* de pequizeiro em função do estiolamento das brotações (Taiz & Zeiger, 2004). O estiolamento pode ser útil na micropropagação de plantas, proporcionando uma maior quantidade de explantes e uma maior taxa de multiplicação entre repicagens (Kiss et al., 1995).



**FIGURA 3.** Número médio de brotações.

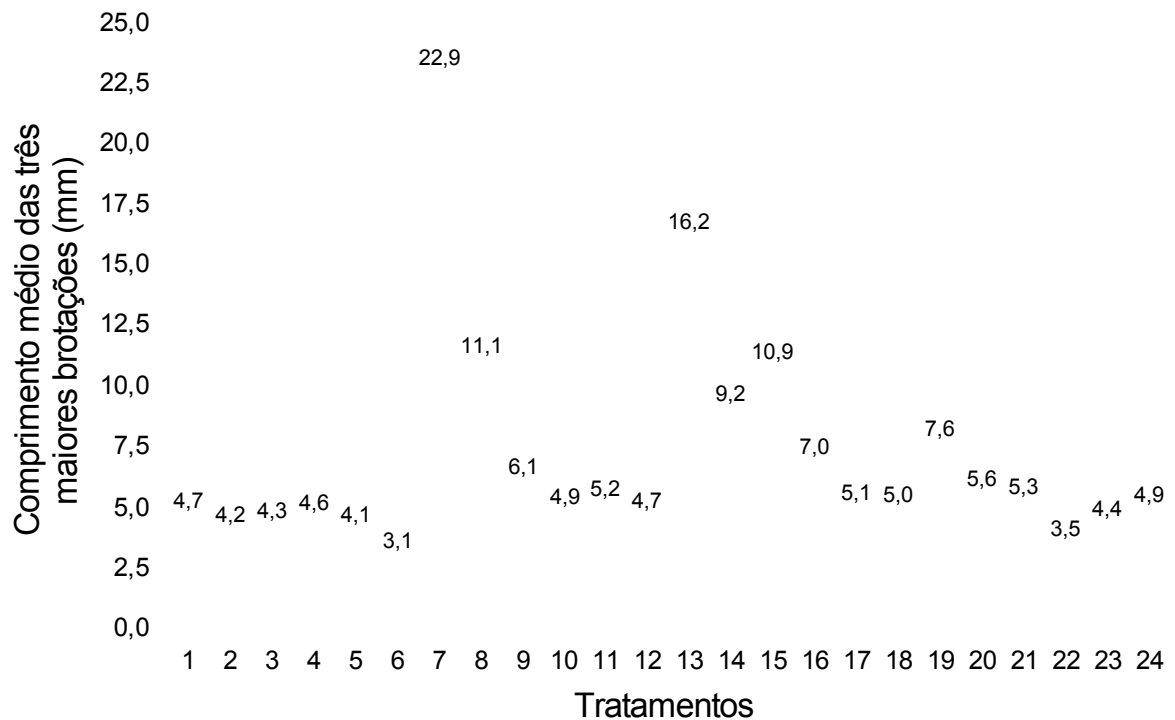


FIGURA 4. Comprimento médio das três maiores brotações.

## CONCLUSÃO

As melhores concentração de BAP/ANA para número de brotações foram 1,0/0,0; 1,0/1,0; 2,0/0,0; 1,0/0,05 e 2,0/0,5 respectivamente;

A concentração de BAP/ANA para o maior comprimento médio das três maiores brotações (22,9 mm) foi 0,5/0,0, seguido de 1,0/0,0.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L.E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.127-129, 1995.

MARAN, Ricardo ; CALVETE, Eunice de Oliveira ; GOMIDE, Daniele Guerreiro ; GRANDO, Magali Ferrari ; SUZIN, Marilei . Influência do número de subcultivos no meio de multiplicação em plantas micropropagadas de morangueiro. In: XIV Mostra de Iniciação Científica-UPF, 2004, Passo Fundo. XIV Mostra de Iniciação Científica-UPF. Passo Fundo : Universidade de Passo Fundo, 2004.

MARTINOTTO, C. **Cultivo *in vitro* e aspectos morfofisiológicos de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.)**. 2004. 84 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MELO, J. E. T. **Fatores relacionados com a dormência de sementes do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1987. 92 p. Dissertação (Mestrado em ciências florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SANTANA, J. R. F. **Controle da morfogênese *in vitro* em algumas espécies de *annonaceae***. 2003. 237 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, Breno Régis et al . Micropropagation of "pequizeiro" (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, 2006.

SCOTT, A. J. & M. A. KNOTT. 1974. A cluster analysis methods for grouping mean in the analysis of variance. **Biometrics** 30: 507-512.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

Palavras-chave:

*Caryocar brasiliense*; micropropagação; brotações; citocinina; auxina; organogênese

Apoio: CNPq

## Micropropagação *in vitro* da pupunheira (*Bactris gasipaes* K.)\*

Zaidan, Humberto Actis<sup>1</sup>; Ahnert, Dário<sup>2</sup>; Oliveira, Ádson Santos<sup>3</sup>; Porto, John Silva<sup>4</sup>; Aboboreira Neto, Manoel<sup>5</sup>; Maia, Fábio Zenaide<sup>5</sup>; Ribeiral, Ricardo Araújo<sup>5</sup>; Silva, Maria das Graças C.P.C.<sup>6</sup>; Pinto, Cláudio M. Dessimoni<sup>7</sup>; Lima, Moacir Smith<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Pós-Doutorando UESC/DCB, Bolsista Fapesb (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia), Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, CEP 45662-000, Ilhéus-BA, fone (73) 3680-5055, e-mail: humbertozaidan@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professor Titular e Orientador, UESC/DCB, e-mail: dariao@uesc.br; <sup>3</sup>Graduando em Agronomia UESC, Bolsista IC Fapesb ; <sup>4</sup>Graduando em Agronomia UESC, Estagiário; <sup>5</sup>Inaceres Agrícola; <sup>6</sup>Pesquisadora Cepec/Ceplac, Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 22, 45600-970, Itabuna-BA; <sup>7</sup>Instituto Biofábrica de Cacau. \* Projeto apoiado pelo Termo de Cooperação Técnica N°15/2006 firmado entre UESC/CEPLAC/BIOFÁBRICA/INACERES.

Com apoio do Governo do Estado, existe a perspectiva de serem plantadas, na região cacaeira do sul da Bahia, cerca de 4.000 ha de pupunheiras, para contribuir com o processo de diversificação agrícola, diminuindo os efeitos negativos da monocultura do cacau, muito prejudicada pelo ataque da vassoura-de-bruxa. Atualmente, devido à inexistência de sementes melhoradas de pupunheiras, a expansão do plantio está sendo realizada por sementes sem origem genética definida, levando a consequências agrônômicas indesejadas, como plantas com pequeno número de perfilhos. Os plantios apresentam grande desuniformidade, sendo o agricultor e a indústria prejudicados pela insuficiente produtividade. Com a micropropagação, será possível acelerar a obtenção de cultivares melhorados, visto que, utilizando-se o processo convencional de melhoramento, o tempo mínimo é de aproximadamente sete anos, porque a pupunheira leva cinco anos para dar início à produção de sementes. Objetivando adaptar um protocolo para micropropagação de pupunheira foram montados experimentos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da CEPLAC/CEPEC/SEFIS. Os ápices caulinares de pupunheira foram produzidos e cedidos pela empresa INACERES Agrícola, sendo oriundos de perfilhos de plantas matrizes adultas em fase de produção de palmito. Foram inicialmente reduzidos a 3,0 cm de comprimento e desinfestados com várias substâncias germicidas e bactericidas (etanol 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio 1 e 3%, hipoclorito de cálcio 1%, Agrimicina 0,5 g/L no meio de cultura, Agrimicina 4g/L em solução de desinfestação) todos em agitação constante por 20 min. Após a desinfestação, os ápices foram novamente reduzidos a 5 mm, em câmara de fluxo laminar e inoculados em meios de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), contendo 3% de sacarose, 0,7% de ágar, pH 5,7. Os meios foram acrescidos de várias substâncias antioxidantes (carvão ativado 3g/L, PVP 0,1 g/L, caseína hidrolizada 1 e 2 g/L, carvão ativado+caseína hidrolizada 3+1 g/L), com várias combinações de reguladores de crescimento (BAP 1,8 e 3,0 mg/L, BAP+ANA 0,8+2,4 mg/L , TDZ 0,2 mg/L, TDZ+BAP 0,2+1,8 mg/L). A incubação foi feita em sala de crescimento a 25°C, com fotoperíodo de 16h. Concluiu-se que os melhores tratamentos foram: a)desinfestação: imersão dos ápices em Agrimicina 4g/L por 20 min, seguida de imersão em etanol 70% por 1 min e hipoclorito de sódio 1% por 20 min, proporcionou altas taxas de descontaminação; b) antioxidantes: carvão ativado + caseína hidrolizada (3+1 g/L) proporcionou baixos índices de oxidação dos ápices; c) reguladores de crescimento: quando se utilizou a combinação de TDZ+BAP (0,2+1,8 mg/L) com posterior transferência dos ápices para o meio contendo TDZ (0,2 mg/L), houve a formação de brotações múltiplas em pelo menos um dos ápices caulinares testados.

# **<sup>1</sup>Um novo sistema para micropropagação de *Baccharis trimera* tolerante ao cobre: conversão do ápice radicular em ápice vegetativo**

Termignoni, R.R.<sup>1</sup>; Weber, R.L.M.<sup>1,2</sup>; Maria Luiza Porto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professor Associado I, UFRGS, IB, Departamento de Botânica, Laboratório de Cultura de Tecidos e Desenvolvimento Vegetal, Av. Bento Gonçalves, 9500 prédio 43432, Campus do Vale, UFRGS, CEP 91501-970, Porto alegre, RS, Brasil, fone (51)3308-7572, (51) 3308-7576, email: [regtr@terra.com.br](mailto:regtr@terra.com.br); <sup>1,2</sup> estagiário, acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, atualmente aluno do PPG em Genética e Biologia Molecular/UFRGS, <sup>2</sup>Professor Colaborador convidado, IB, Departamento de Ecologia, Laboratório de Ecologia da Paisagem, email: [mlporto@ufrgs.br](mailto:mlporto@ufrgs.br).

## **INTRODUÇÃO**

*Baccharis trimera* é uma espécie da família Asteraceae com alta tolerância ao cobre tendo desenvolvido um ecótipo altamente adaptado às condições ambientais da Mina Volta Grande, em Lavras do Sul (RS) (Dal Piva, 2001). A multiplicação de indivíduos com estas características torna-se interessante, uma vez que um aumento do número de plantas deste ecótipo, altamente resistente a metais presentes nos dejetos da Mina, pode resultar no desenvolvimento de tecnologias visando a fitorremediação de áreas degradadas pela presença de metais pesados. A germinação *in vitro* de sementes coletadas de indivíduos desenvolvidos na área da Mina Volta Grande, em meio MS-62 suplementado com AIA (0,02 mg.l<sup>-1</sup>) e BAP (0,5 mg.l<sup>-1</sup>) mostrou, 20 dias após o início da germinação, embriões com uma parada no desenvolvimento da extremidade radicular, um intumescimento do extremo ápice e a posterior formação de um calo com a regeneração de gemas vegetativas, bem abaixo da coifa. À medida que ocorre o desenvolvimento das gemas a partir deste calo, ocorre uma perda do gravitropismo pela plântula em desenvolvimento, estabelecendo-se ainda, na extremidade oposta ao ápice radicular, agora alterado, uma multiplicação intensa das gemas axilares, que fazem parte da parte aérea da plântula ao longo de seu eixo. No final de 30 dias após a germinação, formam-se plântulas com duas extremidades vegetativas, sendo a extremidade radicular transformada em vegetativa, decorrente da neo-organogênese estabelecida no ápice radicular, e a outra, a extremidade aérea, vegetativa, original na planta, apresentando gemas axilares com uma intensa multiplicação. As gemas neoformadas apresentam uma alta taxa de multiplicação e quando subcultivadas em meio MS-62 sem reguladores de crescimento, enraízam facilmente. Este sistema apresentado aqui é uma boa alternativa para a micropropagação de genótipos de *Baccharis trimera* que se destacam pela elevada tolerância ao cobre, uma vez que cada semente germinada pode ser multiplicada *in vitro* por, no mínimo, 100 a 150 vezes, por cultura primária, resultando em 100 a 150 indivíduos com possível expressão fenotípica muito semelhante, ao que se refere à tolerância ao cobre.

## **PALAVRAS-CHAVES**

*Baccharis trimera*, regeneração *in vitro*, conversão do ápice radicular

## Enraizamento *in vitro* de brotações oriundas de plântulas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*).

Micheli Angélica Horbach<sup>1</sup>, Dilson Antônio Bisognin<sup>2</sup>, André Luís Lopes da Silva<sup>3</sup>, Michele Heberle<sup>4</sup>, Tiago Fick<sup>5</sup>

1. Eng. Florestal, mestranda do PPGEF, UFSM, Santa Maria, RS, CEP 97105-900. E-mail: michelihorbach@yahoo.com.br; 2. Professor do Departamento de Fitotecnia, UFSM; 3. Doutorando do PPGAPV-UFRP. E-mail:clonageinvitro@yahoo.com.br 4. Aluna do Curso de Graduação em Engenharia Florestal, UFSM; 5. Engenheiro Florestal, UFSM.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é uma espécie que apresenta dormência embrionária e tegumentar das sementes, tendo que passar por um período de estratificação para germinar. O cultivo de embriões surge como uma técnica capaz de acelerar o processo de germinação das sementes e também para obter um número maior de plantas pela multiplicação e posterior enraizamento *in vitro*. O objetivo deste trabalho foi testar diferentes concentrações de AIB e ANA e a presença de carvão ativado no enraizamento de brotações de erva-mate originadas de embriões cultivados *in vitro*. Para este experimento foram utilizadas brotações com aproximadamente 0,8 a 1cm de comprimento, provenientes do cultivo de embriões *in vitro* em meio com ¼ da concentração do MS (Murashige & Skoog, 1962). Foram utilizados frascos com 30 ml de meio de cultura ¼ MS suplementado com 3% de sacarose e 0,65% de ágar. Após a inoculação, os frascos com os explantes foram transferidos para sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo e temperatura de 25° ± 2° C. Os tratamentos constituíram-se de quatro concentrações de ANA (0; 0,1; 0,2 e 1mg L<sup>-1</sup>), quatro de AIB (0; 0,1; 0,2 e 1mg L<sup>-1</sup>) e sem ou com a adição 1,5% de carvão ativado ao meio de cultura, totalizando 14 tratamentos. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de um frasco com quatro explantes. Aos 45 dias de cultivo foi avaliado a percentagem de enraizamento, o número de raízes por explante, o comprimento da maior raiz, o número de brotos, o comprimento dos brotos, o número de folhas e a formação de calo na base dos explantes. A maior percentagem de enraizamento (75%) foi obtida quando se adicionou ao meio AIB nas concentrações de 1,0 mg L<sup>-1</sup> ou 0,2 mg L<sup>-1</sup>, sem a adição de carvão ativado. Já o tratamento sem regulador de crescimento e sem carvão ativado e o tratamento com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de AIB obtiveram médias de 50 % de enraizamento, enquanto que nos tratamentos com carvão ativado a formação de raízes ocorreu somente com 1mg L<sup>-1</sup> de ANA, em apenas 25% dos explantes. A maior formação de calo na base dos explantes ocorreu com a adição de 1mg L<sup>-1</sup> de ANA e sem carvão ativado. Tratamentos sem a adição de reguladores de crescimento não apresentaram calos. O tratamento sem carvão ativado e com 1mg L<sup>-1</sup> de AIB, obteve a maior média de raízes, com 7,7 raízes/explante e comprimento médio da maior raiz de 0,65 cm. Quanto ao número de brotos, a média obtida para todos os tratamentos foi de 1,2 brotos/explante, com comprimento de 0,41 cm e 3,9 folhas/explante. Conclui-se que a adição de 1mg L<sup>-1</sup> de AIB ao meio de cultura ¼ MS suplementado com 3% de sacarose e 0,65% de ágar promove o melhor enraizamento e raízes mais compridas de erva-mate; entretanto outros estudos devem ser conduzidos com concentrações mais elevadas de reguladores de crescimento.

### PALAVRAS-CHAVES

Propagação *in vitro*; cultivo *in vitro*; carvão ativado; AIB; ANA.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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



## Efeito de zeatina e concentração do meio de cultura MS na multiplicação *in vitro* de gérbera (*Gerbera jamesonii*)

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Moreira, Cleilton Vasconcelos<sup>1</sup>, Silva Júnior, Jessé Marques<sup>1</sup>; Nogueira, Raírys Cravo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>2</sup>Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: [pdoliveir@ufla.br](mailto:pdoliveir@ufla.br), fone (35) 3829-1786; <sup>3</sup>Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>5</sup>Pós-doutoranda (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A floricultura brasileira teve maior destaque como uma atividade economicamente lucrativa a partir dos anos 60. Com o passar dos anos essa atividade aumentou devido a grande participação de imigrantes vindo do Japão e da Holanda, quem vem contribuindo até hoje com a floricultura brasileira.

As técnicas de cultura de tecidos têm sido amplamente empregadas para a propagação de plantas, principalmente as ornamentais, entre estas se destacam a violeta e a gérbera, as quais são responsáveis por mais de 70% dentre quarenta espécies de plantas ornamentais produzidas pela França através de cultura de tecidos (Bouzigues, 1987).

Uma das maneiras que pode ser conduzida a micropropagação *in vitro* é pela multiplicação de brotações através de sucessivas subculturas, ou seja, as gemas auxiliares são estimuladas a crescerem formando tufo de brotos, os quais são subdivididos dando origem a novos explantes, que por sua vez repetem o mesmo processo.

Segundo Pierik et al (1982) é fundamental a utilização de citocininas no meio de cultura para obter ótimas taxas de multiplicação. No entanto, a escolha da citocinina e da concentração a ser utilizada, dependerá da cultivar considerada.

A gérbera (*Gerbera jamesonii*) é uma espécie ornamental que apresenta flores com boa durabilidade e uma gama de cores que pode satisfazer os mercados mais exigentes. Nesse contexto, estudos vêm sendo realizados buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial desta espécie.

O uso das técnicas de cultura de tecidos permite a obtenção em curto espaço de tempo, de uma grande quantidade de plantas uniformes e sadias. Para o sucesso da micropropagação em grande escala, três etapas, a saber, devem ser vencidas: (a) estabelecimento dos explantes primários em meio de cultura, (b) Adequação do meio ótimo para o cultivo, bem como com as condições externas, para obter altas taxas de multiplicação e (c) Indução de raízes e aclimatização das plantas após transferência para o solo.

Esse trabalho teve como objetivo testar a zeatina na indução de brotações *in vitro* de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar cream.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Plantas matrizes de *Gerbera jamesonii* cv. Jaguar cream já estabelecidas foram multiplicadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>) e H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido nicotínico 0,5mg L<sup>-1</sup>), e com adição de Mio inositol (10mg L<sup>-1</sup>) e tiamina (1mg L<sup>-1</sup>) e suplementado de BAP (6-benzilaminopurina) na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, utilizando, como explantes, brotações com 2 ou 3 folhas sendo cada frasco inoculado com duas brotações, até obter a quantidade necessária para implementar os experimentos.

As brotações foram subcultivadas e inoculadas em meio nutritivo MS sem as soluções G (Mio inositol 100mg L<sup>-1</sup>) e H (tiamina 1,0mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5mg L<sup>-1</sup> ácido

nicotínico  $0,5\text{mg L}^{-1}$ ), com adição de Mio inositol ( $10\text{mg L}^{-1}$ ) e tiamina ( $1\text{mg L}^{-1}$ ) em duas concentrações diferentes dos seus sais (50%, 100%) e acrescentado Zeatina (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e  $3,0\text{ mg L}^{-1}$ ), sacarose  $30\text{ g L}^{-1}$  e solidificado com  $6\text{ g L}^{-1}$  de agar, tendo seu pH ajustado para  $5,8 \pm 0,1$ . Foram inoculados em frasco de vidro com 50 mL de meio de cultura.

A esterilização dos meios de cultura foi feita em autoclave, à temperatura de  $121^\circ\text{C}$  e à pressão de  $1,05\text{ kg cm}^{-2}$ , durante 20 minutos.

As brotações foram inoculadas em câmaras de fluxo laminar horizontal em condições estéreis e transferidas para sala de crescimento por 45 dias com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , e irradiância de fótons de  $43\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ .

As características avaliadas após 30 dias foram as seguintes: altura da maior brotação, número de brotação e número de folhas.

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2 (concentração do meio de cultura) x 7 (concentrações de zeatina), totalizando 14 tratamentos com 4 repetições cada, contendo dois explante em cada recipiente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a característica número de folha somente a fonte de variação concentração de Zeatina foi significativa em nível de 5%. Os resultados demonstram um aumento do número de folhas até  $1,5\text{ mg L}^{-1}$ , como mostrado no gráfico abaixo (Figura 1). A curva apresentou tendência quadrática.

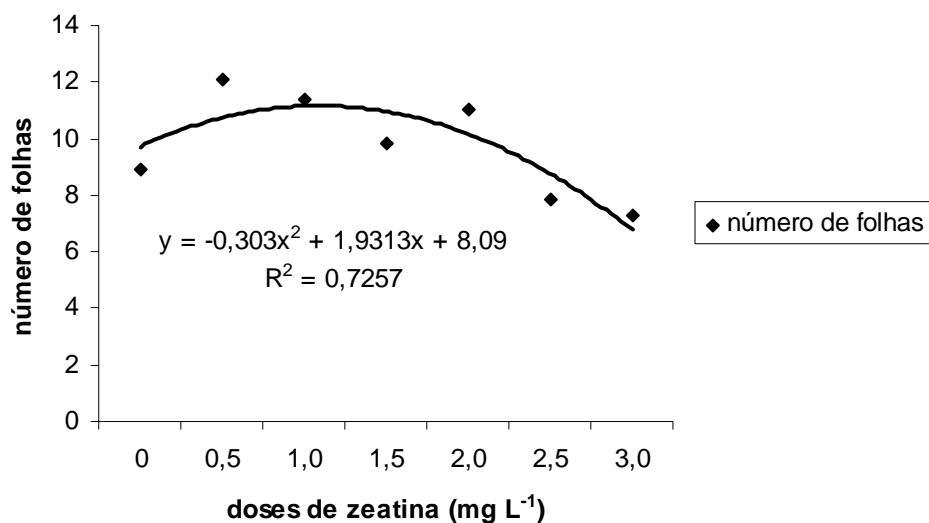


Figura 1. Números de folhas nas diferentes concentrações de Zeatina.

Para altura de brotações também apenas Zeatina foi significativa. Mas os resultados demonstraram uma queda nos valores de comprimento da brotação à medida que a concentração de Zeatina aumentava, como mostrado no gráfico abaixo (Figura 2). O gráfico apresentou uma tendência linear.

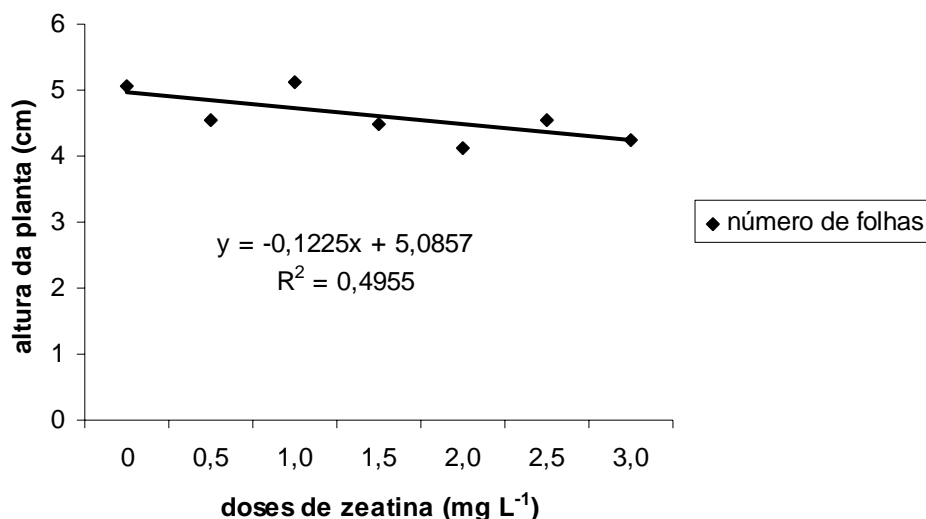


Figura 2. Comprimento das brotações nas diferentes concentrações de Zeatina.

Para a característica número de brotos, houve interação entre meio de cultura e concentração de Zeatina, onde o meio MS 100% obteve a maior média. Para o desdobramento da interação meio de cultura e concentração de zeatina apenas na dose de 0,5mg L<sup>-1</sup> o meio MS 100% obteve maior média (Figura 3).

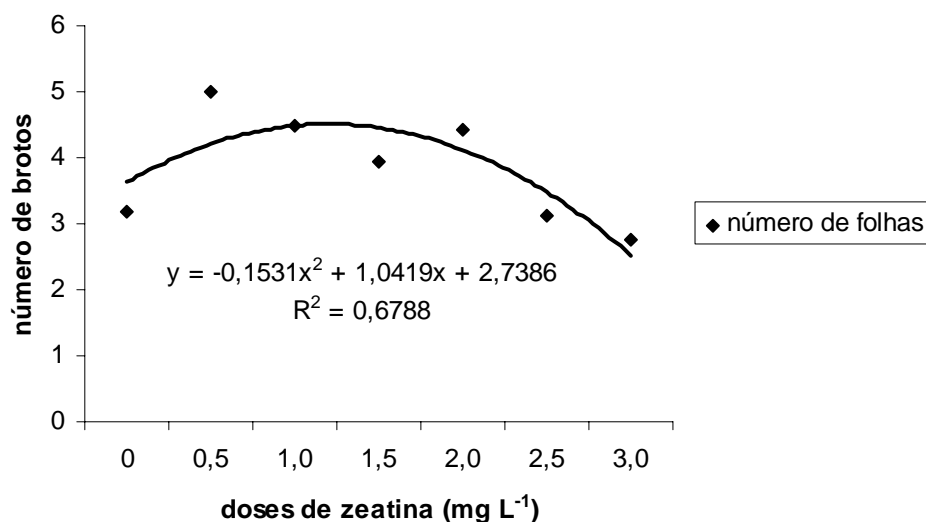


Figura 3. Números de brotos nas diferentes concentrações de Zeatina.

A Zeatina mostrou ser eficaz no desenvolvimento de brotações de Gérbera nas características de número de brotos, onde as concentrações medianas 0,5, 1,0, 1,5 mg L<sup>-1</sup> apresentaram os melhores resultados, e as altas concentrações foram negativas no desenvolvimento da planta nessas características.

A Zeatina demonstrou que, na característica comprimento da brotação, ela foi totalmente negativa, em todas as concentrações de zeatina e as médias diminuía à medida que se aumentava a concentração da Zeatina.

## CONCLUSÕES

Para a formação de maior número de folhas de gérbera recomenda-se a utilização de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de zeatina em qualquer das duas concentrações de MS.

Para a maior formação de brotos de gérbera, recomenda-se a utilização de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de zeatina em MS completo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOUZIGUES, P. La production de vitroplants pour l'horticulture ornamentale em France. Revue Horticole , Paris ,277:15-23, 1987.

MURASHIGE, T. ; SERPA, M.e JONES, J.B.; Clonal multiplication of gérbera through tissue culture. HortScience, Riverside, 9(3): 175-80, 1974.

PIERIK, R.L.M.; JANSEN, J.L.M.; MAASDAM, A. e BINNENDIJK, C., M. Opitimalization of gerbera plantlet production from excised capitulum explants. Scientia Horticultrae, Wageninge, 3(4): 351-7,1975.

#### PALAVRAS-CHAVE:

*Gerbera jamesonii*, brotação, citocinina.

## Estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares de *Curcuma alismatifolia*.

Rodrigues, Tatiana Michlovská<sup>1</sup>; Lino, Leandro de Oliveira<sup>2</sup>; Luz, José Magno Queiroz<sup>3</sup>  
Rodrigues, Carlos Ribeiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Engenheira Agrônoma, Dr<sup>a</sup> em Fitotecnia, Pós-doutoranda na Universidade Federal de Uberlândia/UFU - Instituto de Ciências Agrária/ICIAG, Av. Amazonas,s/n BL 2E, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlândia/MG, e-mail: [tatiana\\_mrodrigues@yahoo.com.br](mailto:tatiana_mrodrigues@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Agronomia da UFU-ICIAG; <sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr em Fitotecnia, Professor do Instituto de Ciências Agrária, UFU-ICIAG; <sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Agronomia da UFU-ICIAG; <sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr em Solos e Nutrição de Plantas, Pós-doutorando na UFU-ICIAG, e-mail: [carlos\\_rrodrigues@yahoo.com.br](mailto:carlos_rrodrigues@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A alta demanda do mercado de plantas ornamentais, tem tornado o cultivo de flores tropicais uma atividade agrícola cada vez mais importante no Brasil. As plantas tropicais vêm sendo muito utilizadas em projetos paisagísticos e principalmente como flores de corte, pela durabilidade pós-colheita, além de possuírem formas e cores muito atrativas e exóticas (Lamas, 2002).

A introdução de novos produtos na floricultura brasileira é importante para o crescimento deste setor que está em franca expansão. Dentre as famílias com potencial para expansão no mercado de ornamentais, a Zingiberaceae possui o gênero *Curcuma*. Esse gênero tem espécies que são utilizadas como tempero, apresentando propriedades medicinais, óleos essencial, além de serem utilizadas como flor de corte, de vaso e como plantas aplicadas no paisagismo. Como produto ornamental, a *C. alismatifolia*, também conhecida como açafraão-da-conchinchina, é comercializada no mercado externo como flor de corte e como rizoma, devido suas inflorescências e folhas altamente decorativas (Pinto & Graziano, 2003).

A propagação do gênero *Curcuma* é basicamente por divisão de touceiras rizomatosas. Devido a esta prática de propagação vegetativa tradicional, existe a preocupação de disseminação de doenças causadas principalmente por fungos, bactérias e acometidas por infestação de nematóides. (Thammakijawat, et al., 1999; Vudhivanich, 2002; Lins & Coelho, 2004). A propagação do gênero *Curcuma* é basicamente por divisão de touceiras rizomatosas. Devido a esta prática, propagação vegetativa tradicional, existe a preocupação de disseminação de doenças causadas pelos agentes *Ralstonia solanacearum* (Thammakijawat, et al., 1999; Vudhivanich, 2002), *Meloidogyne incognita*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani* (Lins & Coelho, 2004).

Neste contexto, com a propagação *in vitro*, estes problemas são minimizados, pois esta técnica possibilita a aquisição de material propagativo vegetal livre de fitopatógenos. Além de obter-se maior quantidade de mudas em um curto período de tempo.

Uma das etapas da micropropagação é o estabelecimento *in vitro* do material a ser multiplicado e para tanto, tem de se determinar o melhor meio de cultivo para o bom desenvolvimento dos explantes. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo de determinar a melhor concentração de meio e a melhor dose de sacarose, para um perfeito estabelecimento *in vitro* de *C. alismatifolia*.

### METODOLOGIA

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os rizomas foram lavados em água corrente, fazendo uso de detergente neutro e escova para retirada do excesso de solo, tomando cuidado para não danificar o tecido do rizoma. Posteriormente, foram lavados em água corrente e feito uma pré-asepsia que consistiu em imersão dos rizomas em água a 52 °C durante 10 minutos, reduzindo desta maneira a contaminação

bacteriana, em seguida foram levados para a câmara de fluxo laminar onde foram imersos em solução de álcool 70% por 2 minutos e em seguida, foram imersos em solução comercial de hipoclorito de sódio a 43% (v.v<sup>-1</sup>) por 40 minutos acrescido com 2 gotas de detergente neutro, por fim, foram lavados tres vezes com água destilada autoclavada.

Em cada explante foi realizada a eliminação dos primórdios foliares e extração do ápice caulinar, com o auxílio de uma lupa. Os ápices caulinares extraídos foram inoculados em meio de cultura de Murashige & Skoog (1962) (MS) contendo 2 mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP) acrescido de 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, com pH ajustado para 5,8. previamente autoclavado a 121 °C, 1 atm por 20 minutos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 7 com cinco repetições, sendo quatro concentrações do meio MS (0, 50, 100 e 150%) e sete concentrações de sacarose (0; 10; 15; 20; 25; 30 e 35 g L<sup>-1</sup>). Em que cada tubo de ensaio recebeu um explante, considerado uma parcela e cada repetição foi composta por cinco parcelas.

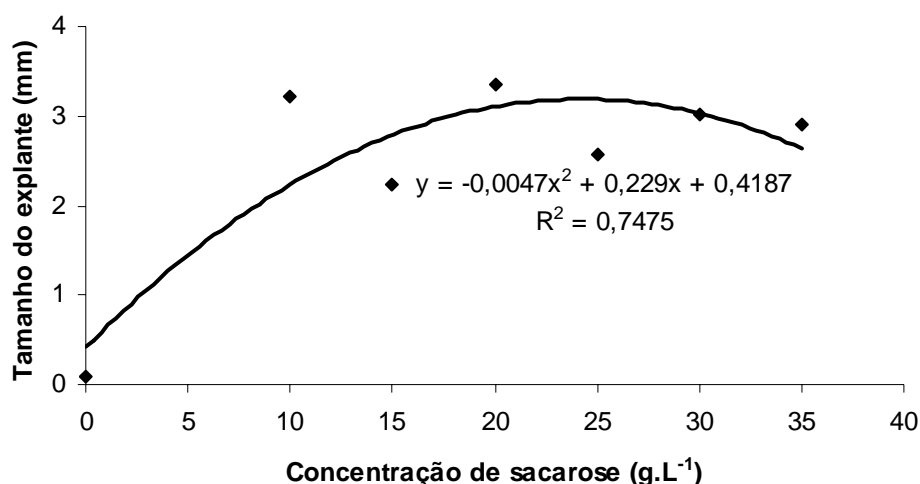
Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1 °C e com fotoperíodo de 16 horas de luz num período de 60 dias.

A variável analisada após 60 dias de inoculação foi o tamanho do explante, em que o resultado obtido foi submetido à análise de variância e regressão com o auxílio do programa SISVAR<sup>®</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de regressão, o teste de interação entre a concentração de meio MS e a concentração de sacarose teve efeito significância de 1% de probabilidade. O desdobramento mais adequado foi a concentração de sacarose dentro da concentração do meio MS.

Somente nos tratamentos em que a concentração do meio MS foi completa (100%), obteve-se a melhor resposta, com a significância de 1% de probabilidade e tendo uma curva quadrática. A concentração de sacarose que proporcionou melhor resultado de estabelecimento da *C. alismatifolia* foi em torno de 25 g.L<sup>-1</sup>, como mostra a Figura 2.



**FIGURA 2** – Tamanho do explante de *Curcuma alismatifolia* (ápice caulinar) em relação à concentração de sacarose na concentração de 100% do meio MS.

Realizando a derivação da equação  $y = -0,0047x^2 + 0,229x + 0,4187$  encontrou-se o ponto máximo da curva quadrática e seu valor no eixo x, que é referente à concentração de sacarose no meio de cultura, que foi de 24,36 g L<sup>-1</sup>, ou seja, este valor é a melhor concentração de sacarose a ser utilizada para o tratamento de estabelecimento de *C. alismatifolia*.

A fase de estabelecimento é muito importante para verificar realmente qual é a necessidade do explante em relação aos nutrientes consumidos e permite a utilização adequada e economia de reagentes utilizados na composição do meio de cultura.

O uso de qualquer meio muito concentrado faz com que o explante fique intoxicado devido ao excesso de nutrientes disponibilizados no meio de cultura e pode provocar a morte do explante, ou até mesmo o seu não desenvolvimento adequado, fazendo com que este apresente deformações como encarquilhamento, tecidos vegetais muito friáveis, translúcidos e retorcidos. A baixa concentração do meio de cultura também proporciona aos explantes deformações, encarquilhamentos, descoloração e até a morte do material vegetal. Isso ocorre, pois é insuficiente a disponibilidade de nutrientes contida no meio de cultura para que haja um bom desenvolvimento do explante.

## CONCLUSÕES

De acordo com o experimento realizado a melhor concentração de meio de cultura para a micropropagação de ápice caulinar de *C. alismatifolia* é de 100% (MS) e a dose de sacarose que proporcionou melhor resultado de estabelecimento da *C. alismatifolia* foi de 24,36 g L<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LAMAS, A.M. **Floricultura Tropical: Técnicas de Cultivo**. SEBRAE - PE. 2002.
- LEKAWATANA, S. & PITUCK, O. New floricultural crops in Thailand. **Acta Horticulturae**, n. 454, p.59-64, 1998.
- LINS, S. R. O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v 29, n. 3, Brasília, May/June, p. 332-335, 2004.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PINTO, A. C. R. & GRAZIANO, T. T. Potencial ornamental de *Curcuma*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 2, p.99-109, 2003.
- THAMMAKIJJAWAT, P.; THAVEECHAI, N.; PARADHONUWAT, A.; WANNAKAIROJ, S.; SUTHIRAWUT, S. Bacterial rhizome rot of patumma and detection of seed-borne rhizome. In: **37th Kasetsart University Annual Conference**, 3-5 February, 1999. Ed. Oates, C. G. Text and Journal Publication Co, Ltd, Bangkok, Thailand:. 295-302. [Thai]
- VUDHIVANICH, S. Effect of Soil Amendment with Urea and Calcium Oxide on Survival of *Ralstonia solanacearum*, the Causal Agent of Bacterial wilt or Rhizome Rot of Ginger. **The Kasetsart Journal (Natural Sciences)**, v. 36, p. 242-247, 2002.
- PALAVRAS-CHAVES:** *Curcuma alismatifolia*, micropropagação, Zingiberaceae, cultura de tecidos.

## **Germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de *Acanthostachys strobilacea* (Bromeliaceae) em diferentes concentrações de sacarose na presença e ausência de luz.**

Duval, Fernanda Gonçalves<sup>1</sup>; Fagundes, Daniel Barros<sup>2</sup>; Ribeiro, Carlos Alexandre Gomes<sup>3</sup>; Pereira, Gleicy<sup>3</sup>; Gomes, Lucas Rocha<sup>3</sup>; Vespoli, Luciano de Souza<sup>3</sup>; Fagundes, Rodrigo Nascimento<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Coordenadora e Professora do Curso de Biotecnologia (UNIPAC-MG), Campus Magnus, Instituto de Biociências, Rua Palma Bageto Viol s/n, Bairro Campolide, CEP 36200-000, Barbacena, Minas Gerais, fone (32) 3693-8230, fax (32) 3693-8231, email: [feduval@yahoo.com.br](mailto:feduval@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Técnico de Nível Superior, Laboratório de Biotecnologia, (UNIPAC-MG), Campus Magnus, email: [danielfagundes2005@yahoo.com.br](mailto:danielfagundes2005@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Estudantes de graduação em Biotecnologia (UNIPAC-MG), Campus Magnus.

Bromélias são plantas monocotiledôneas de hábitos terrestres, rupícolas, saxícolas ou epífitas, pertencentes à família Bromeliaceae. As bromélias têm recebido atenção de um número cada vez maior de pesquisadores e colecionadores. A importância econômica das bromélias está na sua crescente utilização em projetos paisagísticos, por causa da beleza de suas flores, resistência e praticidade no manuseio, além de formar um micro habitat para diversos tipos de organismos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* da espécie *Acanthostachys strobilacea* da subfamília Bromelioideae em diferentes concentrações de sacarose na presença e ausência de luz. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Biociências (InBio) da Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC), Barbacena - MG. As sementes foram lavadas com detergente comercial em água corrente e desinfestadas em álcool 70% por 1 minuto, em seguida, no hipoclorito de sódio 1% por 20 minutos. Foi inoculada uma semente por frasco em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 2 g/L de carvão ativado, 6 g/L de ágar e sacarose nas concentrações de 0; 2; 3 e 6% com pH ajustado para 5,8. O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas de luz, com a intensidade luminosa de 2500 Lux. Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado e o teste de Scott-Knott a nível significância de 5% para a comparação das médias. Foram 8 tratamentos, sendo 4 na presença de luz e 4 na ausência de luz com 6 repetições em cada. A avaliação do experimento foi procedida 30 dias após a inoculação das sementes, analisando os parâmetros: taxa de germinação; massa fresca; número de raízes e de folhas; comprimento da plântula (parte aérea + raiz), parte aérea e raiz. Em seis dias, a germinação (emissão da radícula) ocorreu em todos os frascos nos tratamentos com 0% de sacarose. Oito dias após a inoculação 100% das sementes germinaram, tanto no claro quanto no escuro. Considerando a presença e ausência de luz nos tratamentos, os parâmetros: número de raízes, comprimento de raiz, de parte aérea e das plântulas não houve diferença significativa. Maior número de folhas e massa fresca foram obtidos na presença de luz. Nos tratamentos com variações de sacarose, a concentração de 6% foi prejudicial para o desenvolvimento inicial, obtendo resultados inferiores nos parâmetros: massa fresca; comprimento da plântula, da raiz e da parte aérea, para os demais parâmetros não houve diferença significativa entre os tratamentos. Concluiu-se que a sacarose não foi essencial para a germinação de sementes de *A. strobilacea* e a presença de luz mostrou os melhores resultados para a formação das plântulas.

**PALAVRAS-CHAVE:**

*Acanthostachys strobilacea*; germinação *in vitro*; sacarose.



# Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização.<sup>1</sup>

Ferreira, Ester Alice<sup>2</sup>; Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>3</sup>; Pasqual, Moacir<sup>4</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>5</sup>; Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>6</sup>; Matos, Adriene Matos<sup>7</sup>

<sup>2</sup> Pesquisadora EPAMIG CTP Caixa Postal 351 - CEP: 38001-970 Uberaba MG. E-mail: [ester@epamig.br](mailto:ester@epamig.br);

<sup>3</sup> Doutorando em Fitotecnia, UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras-MG. E-mail: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br);

<sup>4</sup> Professor Titular DAG UFLA, Lavras-MG. E-mail: [mpasqual@uffa.br](mailto:mpasqual@uffa.br);

<sup>5</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC. E-mail: [jonny@cpafac.embrapa.br](mailto:jonny@cpafac.embrapa.br).

<sup>6,7</sup> Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

## INTRODUÇÃO

Embora o Brasil se destaque como segundo maior produtor mundial de banana, problemas fitossanitários como a sigatoka-negra tem trazido preocupações ao setor uma vez que, os danos provocados pela doença, reduzem significativamente a produção das cultivares que atualmente são plantadas e comercializadas. Na tentativa de resolver este entrave, novos genótipos de bananeira vêm sendo produzidos e introduzidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, entre os quais estão a 'Caipira' (AAA), 'Preciosa' (AAAB) e 'Japira' (AAAB) que são resistentes às principais sigatokas e ao mal-do-panamá.

O cultivo *in vitro* de ápices caulinares e meristemas, também denominado de micropropagação, constitui uma importante ferramenta para a rápida propagação massal de clones com alto padrão genético e fitossanitário, contribuindo para a distribuição de genótipos de bananeira recentemente lançados pelos programas de melhoramento genético (Gübbük & Pekmezci, 2004). Dentre as fases que compõem o processo *in vitro*, o enraizamento/alongamento é considerado fundamental para a maioria das espécies, uma vez que a obtenção de um sistema radicular funcional e uniforme em plantas micropropagadas é um requisito básico para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência na fase de aclimatização. Contudo, estudos evidenciam que a redução do período de enraizamento *in vitro*, ou mesmo sua eliminação, não prejudica a sobrevivência e o posterior desenvolvimento de determinadas espécies durante a aclimatização (Grattapaglia & Machado, 1998; Preece & Sutter, 1991), contribuindo significativamente para a redução dos custos de produção e do tempo para a comercialização (Cuzzuol et al., 1996; Debergh & Read, 1991). Soma-se a isto as afirmações de Grattapaglia & Machado (1998) e Woodhead & Bird (1998) de que, raízes mais curtas normalmente estão em fase de ativo crescimento, sendo mais adequadas ao transplante, por facilitar o manuseio, o pegamento e o posterior desenvolvimento *ex vitro* das plantas.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do tempo de permanência em meio de enraizamento sobre o crescimento *in vitro* e *ex vitro* de diferentes cultivares de bananeira.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal consistiu de brotações axilares de bananeira (desprovidas de raízes), originadas de explantes em fase de multiplicação e mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C e 16 horas de irradiância (42 W.m<sup>-2</sup>). Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio MS (Murashige & Skoog, 1962) reduzido a 50% da concentração de sais, adicionado de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 1 mg.L<sup>-1</sup> de ácido indolbutírico (AIB) e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, com pH 5.8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento. Os tratamentos consistiram de períodos de enraizamento *in vitro* (7, 14, 21 e 28 dias) e três cultivares (Caipira, Preciosa e Japira), num total de 12 tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições e quatro explantes por frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio, selados com filme transparente. O cultivo foi mantido sob as condições anteriormente mencionadas.

<sup>1</sup> Apoio: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Ao final de cada período de cultivo *in vitro*, foram avaliados a altura da parte aérea e o número e comprimento de raízes. Posteriormente, as plantas foram transferidas para tubetes (0,3 L) preenchidos pela mistura de terra (abaixo de 40 cm): Plantmax HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50 g.L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples, sendo mantidas em casa de vegetação sob sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente, por 90 dias. A parcela experimental consistiu de três plantas (uma por tubete), com cinco repetições por tratamento, em DIC. Aos 90 dias, a altura da parte aérea, número e comprimento de raízes e massa seca total foram avaliados.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico Sanest (Zonta & Machado, 1984) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Dados obtidos por contagem ( $x$ ) foram transformados segundo  $(x+0,5)^{0,5}$ . A sobrevivência das plantas foi obtida pela razão entre o número de plantas desenvolvidas e o número total de plantas transferidas para as condições *ex vitro* e não foi analisada estatisticamente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Enraizamento *in vitro*

Para o número e comprimento de raízes, os melhores resultados entre as cultivares foram observados para a 'Caipira', embora esta não tenha diferido da cultivar Preciosa quanto ao comprimento de raízes. Já quanto ao tempo de permanência em meio de cultivo, maior número de raízes foi verificado em plantas provenientes dos 14, 21 e 28 dias ( $P < 0,05$ ), diferentemente do comprimento, que aumentou de maneira significativa com o tempo de enraizamento *in vitro* (Tabela 1). Assim, pode-se inferir que, após a fase de indução dos primórdios radiculares, não há mais emissão de raízes, mas sim o desenvolvimento/alongamento destas, conforme sugerido por Grattapaglia & Machado (1990) e Woodhead & Bird (1998).

Tabela 1. Número e comprimento de raízes e altura da parte aérea de bananeira, em função do tempo de enraizamento *in vitro* e cultivares.

Tempo (Dias)	Cultivares			Média
	Caipira	Preciosa	Japira	
<b>Número de raízes</b>				
7	2,7	1,6	1,5	1,9b
14	6,3	4,3	4,2	4,9a
21	6,4	4,3	4,2	5,0a
28	6,8	4,8	4,3	5,3a
<b>Média</b>	5,5A	3,7B	3,5B	
<b>Comprimento de raízes (cm)</b>				
7	0,0	0,0	0,0	0,0d
14	3,5	1,9	1,9	2,4c
21	4,2	3,5	4,5	4,1b
28	6,3	6,0	5,6	6,0a
<b>Média</b>	3,5A	2,8B	3,0AB	
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>				
7	3,1cA	3,1bA	2,7bA	3,0c
14	3,5cA	3,1bB	2,9bAB	3,2c
21	4,7bA	3,2bB	4,0aA	4,0b
28	5,7aA	4,9aA	4,1aB	4,9a
<b>Média</b>	4,2A	3,6B	3,4B	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (C.V. = 9,0%; 25,2% e 11,3%).

Quanto a altura da parte aérea, nenhuma diferença significativa entre as cultivares foi evidenciada aos 7 dias, indicando que os explantes utilizados foram homogêneos, com média de 3 cm. Analisando-se a interação, constata-se que as diferentes cultivares tiveram repostas diferenciadas para cada tempo de enraizamento testado, embora a permanência das brotações por um maior período (28 dias) tenha promovido as maiores alturas (Tabela 1). As diferenças observadas para cada cultivar podem ser atribuídas ao nível de oxidação verificado nos explantes nos primeiros dias após a inoculação, o qual foi mais expressivo

nas cultivares Preciosa e Japira, pertencentes ao grupo genômico AAAB. Isso porque a ocorrência de oxidação durante algumas das etapas do cultivo *in vitro* pode influenciar sobremaneira na absorção dos constituintes do meio pelo explante e, conseqüentemente, seu crescimento.

De acordo com Hirimburegama & Gamage (1997), cultivares portadoras do genoma B (*Musa balbisiana*) mostram maior escurecimento (oxidação) dos tecidos excisados ou cortados do que cultivares portadoras apenas genoma A (*Musa acuminata*), sendo esta oxidação mais intensa aos 2 dias de inoculação.

#### Aclimatização

O processo de aclimatização apresentou elevada sobrevivência (acima de 80%), em todas as cultivares estudadas e perdas foram verificadas apenas em plantas enraizadas *in vitro* por 7 e 14 dias das cultivares Preciosa e Japira. Para o comprimento de raízes, nenhuma diferença significativa foi observada na cv. Caipira em relação ao tempo de enraizamento *in vitro*. Já as cultivares Preciosa e Japira apresentaram maior comprimento de raízes em plantas cultivadas por 21 e 28 dias e aos 21 dias. Em relação à altura da parte aérea, constatou-se incremento à medida que as plantas permaneceram em meio de enraizamento e aquelas cultivadas por 7 e 14 dias apresentaram os piores resultados. Entre as cultivares, a 'Caipira' foi a que apresentou a maior altura de plantas, diferindo das demais (Tabela 2).

Tabela 2. Comprimento de raízes, altura da parte aérea e massa seca total de bananeira, em função do tempo de enraizamento *in vitro* e cultivares.

Tempo (Dias)	Cultivares			Média
	Caipira	Preciosa	Japira	
<b>Comprimento de raízes (cm)</b>				
7	18,1aA	11,6cB	11,8bB	13,8b
14	18,7aA	13,5bcB	15,0aB	15,7b
21	18,4aA	15,3abB	16,2aAB	16,6a
28	16,9aA	16,3aA	16,1aA	16,4a
<b>Média</b>	<b>18,0A</b>	<b>14,2B</b>	<b>14,8B</b>	
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>				
7	11,8	9,9	9,2	10,3b
14	11,8	9,3	10,9	10,7b
21	16,8	13,7	14,4	15,0a
28	16,2	14,4	14,3	15,0a
<b>Média</b>	<b>14,1A</b>	<b>11,8B</b>	<b>12,2B</b>	
<b>Massa seca total (g)</b>				
7	0,70bA	0,30cB	0,40cB	0,50b
14	0,60bA	0,44cB	0,50cAB	0,50b
21	1,4aA	0,85bB	1,30aA	1,2a
28	1,2aA	1,1aAB	0,94bB	1,1a
<b>Média</b>	<b>0,97A</b>	<b>0,65B</b>	<b>0,77B</b>	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (C.V. = 9,6%; 8,2% e 15,7%).

Quanto à massa seca total, resultado significativamente superior na cv. Caipira foi verificado aos 21 e 28 dias de cultivo. Já para a 'Japira', o enraizamento *in vitro* por 21 dias possibilitou os melhores resultados, enquanto para a 'Preciosa' brotações enraizadas *in vitro* por um maior período (28 dias) promoveu resultados superiores (Tabela 2).

Resultados semelhantes aos observados neste trabalho foram registrados por Pereira & Fortes (2001), os quais verificaram que quanto menor o tempo de permanência das brotações de macieira em meio de enraizamento, menor é o tamanho do sistema radicular e da parte aérea destas plantas em casa de vegetação, afetando, inclusive, o vigor das plantas.

## CONCLUSÕES

A cultivar Caipira apresenta crescimento vegetativo *in vitro* e *ex vitro* superior ao das cultivares Preciosa e Japira.

A fase de indução de raízes *in vitro* em brotações de bananeira ocorre até os 14 dias de cultivo em meio de enraizamento.

O crescimento em altura das plantas é diretamente proporcional ao tempo de permanência de brotações de bananeira em meio de enraizamento *in vitro*.

A sobrevivência de plantas de bananeira em casa de vegetação atinge 100%, após 21 dias de cultivo em meio de enraizamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUZZUOL, G. R. F.; GALLO, L. A.; CROCOMO, O. J. Enraizamento de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) *in vitro* e *ex vitro*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 1, p. 60-66, jan./abr. 1996.

DEBERGH, P. C.; READ, P. E. Micropropagation. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Amsterdam: Kluwer Academic, 1991. p. 1-13

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa CNPH, 1990. p. 99-169.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. p. 183-260.

GÜBBÜK, H.; PEKMEZCI, M. In vitro propagation of some new banana types (*Musa* spp.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 28, p. 355-361, 2004.

HIRIMBUREGAMA, K.; GAMAGE, N. Cultivar specificity with respect to *in vitro* micropropagation of *Musa* spp. (banana and plantain). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 72, n. 2, p. 205-211, Mar. 1997.

MURASHIGE, T.; SKOOG F. A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. de L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo de permanência em meio de cultura de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 417-420, ago. 2001.

PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Aclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation: technology and application**. Amsterdam: Kluwer Academic Publishing, 1991. cap. 5, p. 71-93.

WOODHEAD, J. L.; BIRD, K. T. Efficient rooting and acclimation of micropropagated *Ruppia maritima* Loisel. **Journal of Marine Biotechnology**, New York, v. 6, n. 3, p. 152-156, 1998.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. SANEST - **Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Pelotas: UFPel, SEI, 1984. 138 p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; micropropagação; estabelecimento *ex vitro*; sistema radicular; genótipo.

## **Influência da orientação do explante na organogênese direta de *Syngonanthus mucugensis* Giul.**

Lima-Brito, Alone<sup>1</sup>; Vitória, Angela Pierre<sup>2</sup>; Velame, Marcos Paulo<sup>3</sup>; Alvim, Bruno Freitas Matos<sup>4</sup>; Resende, Sheila Vitória<sup>5</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Caixa Postal 252-294, CEP 44031-460, Feira de Santana, Bahia, fone (75) 3625-2300, email: lima\_brito@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, CEP 28013-600, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, fone (22) 2726-1475, email: apvitoria@uenf.br; <sup>3</sup>Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: paulovelame@hotmail.com; <sup>4</sup>Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: brunoalvim@hotmail.com; <sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UEFS, email: svresende@yahoo.com.br; <sup>6</sup> Professor da UEFS, email: raniere@uefs.br.

### **INTRODUÇÃO**

A família Eriocaulaceae, à qual pertence o gênero *Syngonanthus*, inclui cerca de 1200 espécies, reunidas em 10 gêneros, com distribuição pantropical (Giulietti & Hensold, 1990; Giulietti et al., 2000). No Brasil, um grande número de representantes desta família ocorre na região central (Giulietti et al., 1996), sendo essa área provavelmente, o seu principal centro de diversidade genética (Giulietti & Hensold, 1990). Suas espécies são conhecidas popularmente como sempre-vivas, pois as inflorescências permanecem com aspecto *in natura*, mesmo depois de destacadas e secas (Giulietti et al., 1996).

O gênero *Syngonanthus*, com cerca de 200 espécies distribuídas nas Américas e África (Giulietti & Hensold, 1990), inclui o maior número de sempre-vivas comercializadas como ornamental (Giulietti et al., 1996; Parra, 2000). Com distribuição restrita aos municípios de Mucugê, Abaíra e Rio de Contas, a espécie *S. mucugensis* Giul. destaca-se pelo grande potencial como alternativa econômica para a região da Chapada Diamantina, Bahia (Giulietti et al., 1996).

O alto grau de endemismo associado à coleta extrativista antes do lançamento das sementes no ambiente tem levado essa espécie ao risco de extinção, tornando-se necessário o desenvolvimento de técnicas que promovam a produção de mudas em larga escala e a sua preservação.

A técnica de cultura de tecidos, muito empregada pela indústria ornamental, possibilita a produção de um grande número de plantas a partir de um único indivíduo, podendo ser utilizada como uma alternativa para a multiplicação de *S. mucugensis*.

A germinação das sementes dessa espécie pode ser obtida em agar (Paixão-Santos et al., 2003) e o seu cultivo *in vitro* em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com metade da concentração de sais (MS½), acrescido de 15g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Silva et al., 2005; Paixão-Santos et al., 2006).

Brotações em *S. mucugensis* podem ser induzidas a partir do explante rizoma inoculado em meio de cultura MS½. Os melhores resultados para a organogênese direta foram obtidos em meio sem regulador de crescimento e para a organogênese indireta com a utilização de benzilaminopurina (BAP) (dados não publicados).

Para a otimização de protocolos de multiplicação alguns tratamentos podem ser dados aos explantes para estimular maior proliferação. A quebra da dominância apical é utilizada frequentemente na cultura de tecidos vegetais visando à obtenção de novas plantas (Kerbauy, 2004). A excisão do ápice e o cultivo de explantes na orientação horizontal são alguns dos procedimentos utilizados para inibir a dominância apical e consequentemente estimular maior proliferação de brotos laterais (McLelland & Smith, 1990; Erig & Schuch, 2002; Pereira et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da orientação do explante e da remoção do ápice do rizoma na produção de brotos de *S. mucugensis* por organogênese direta.

---

Agradecimentos: FAPESB e Projeto Sempre-viva

## METODOLOGIA

O rizoma foi retirado de plantas estabelecidas *in vitro* com 180 dias de idade e inoculado em tubo de ensaio (150x15mm) contendo 15mL de MS $\frac{1}{2}$ , suplementado com 15g.L $^{-1}$  de sacarose e 6g.L $^{-1}$  de agar. O pH do meio foi ajustado para 5.7 antes da autoclavagem a 121°C por 15 minutos. Os experimentos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h a 25  $\pm$  2°C e radiação fotossinteticamente ativa de 40  $\mu$ mol m $^2$ .s $^{-1}$

Foram testados quatro tratamentos: rizoma inoculado no meio de cultura na posição vertical com (T1) e sem ápice (T2), rizoma inoculado na posição horizontal com (T3) e sem ápice (T4).

Aos 60 dias da inoculação avaliou-se a porcentagem de explantes responsivos, o número de brotos por explantes e o comprimento dos brotos (cm). Os brotos produzidos foram transferidos para novo meio de cultura (MS $\frac{1}{2}$ ) e após 30 dias foi avaliada a sobrevivência das plantas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 2, sendo duas orientações (vertical e horizontal) e dois tipos de rizoma (com ápice e sem ápice), com dez repetições de 4 amostras por tratamento. A análise dos dados foi feita com o programa software SISVAR v. 4.3 (UFLA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rizomas sem ápice apresentaram maior porcentagem de explantes responsivos e maior número de brotações, diferindo significativamente dos rizomas com ápice, independente da orientação em que foram inseridos no meio de cultura (Figuras 1A, 1B e 2).

As altas taxas de multiplicação dos rizomas decapitados devem estar relacionadas com a quebra da dominância apical. As auxinas são produzidas no ápice e transportadas polarmente inibindo o desenvolvimento das gemas laterais (Taiz & Zeiger, 2004). Dessa forma, a retirada do ápice reduz o fornecimento de auxina para a região das gemas laterais, determinando a liberação da inibição.

Erig e Schuch (2002) relataram a quebra da dominância apical em *Malus prunifolia* Willd Borkh (macieira) pela inoculação do explante na posição horizontal, o que seria decorrente da interrupção do fluxo de auxina do ápice para a base. Para *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin (unha de gato) também foi obtido um maior número de brotos nos explantes inoculados na posição horizontal em relação a vertical (Pereira et al., 2006). No entanto, em *S. mucugensis* não foi observado o efeito da orientação do explante na quebra da dominância apical, já que não houve diferença na produção de brotos entre rizomas com ápice inoculados nas duas orientações (Figuras 1A e 1B).

Com relação aos rizomas sem ápice, os melhores resultados foram encontrados para os explantes na posição horizontal comparados com a vertical, tanto na quantidade de explantes responsivos, 50% e 35%, respectivamente, quanto ao número de brotos por explantes, 22 e 15 brotos/explante, respectivamente (Figuras 1A e 1B). Estes resultados podem não estar relacionados com a dominância apical, mas sim com o maior contato do rizoma com o meio de cultura, o que promoveu uma maior absorção de nutrientes pelas gemas localizadas na superfície de contato.

De acordo com Kerbauy (2004) o grau de imposição da dominância apical pode variar entre as plantas herbáceas podendo ser inexistente, intermediário ou forte. Em *S. mucugensis* a imposição da inibição pode ser classificada como intermediária, já que foram observadas algumas brotações laterais nos rizomas com ápices inoculados na posição vertical (Figuras 1A, 1B e 2A).

Rizomas com ápices na orientação vertical e horizontal resultaram em baixas porcentagens de explantes responsivos (10 e 8 %, respectivamente) e pequeno número de brotos por explantes (5 para ambas) (Figuras 1A e 1B). No entanto, os maiores comprimentos dos brotos e porcentagem de sobrevivência dos brotos foram obtidas a partir de rizomas com ápices independentes da orientação, diferindo estatisticamente dos rizomas sem ápice (Figuras 1C e 1D). Esses resultados podem estar relacionados à reduzida competição entre o pequeno número de brotos produzidos.

Com relação ao comprimento e a sobrevivência dos brotos não houve diferença entre as orientações (Figuras 1C e 1D). Resultados similares foram encontrados por Erig & Schuch (2002) que não obtiveram diferenças quanto à orientação do explante para comprimento da maior brotação em macieira.

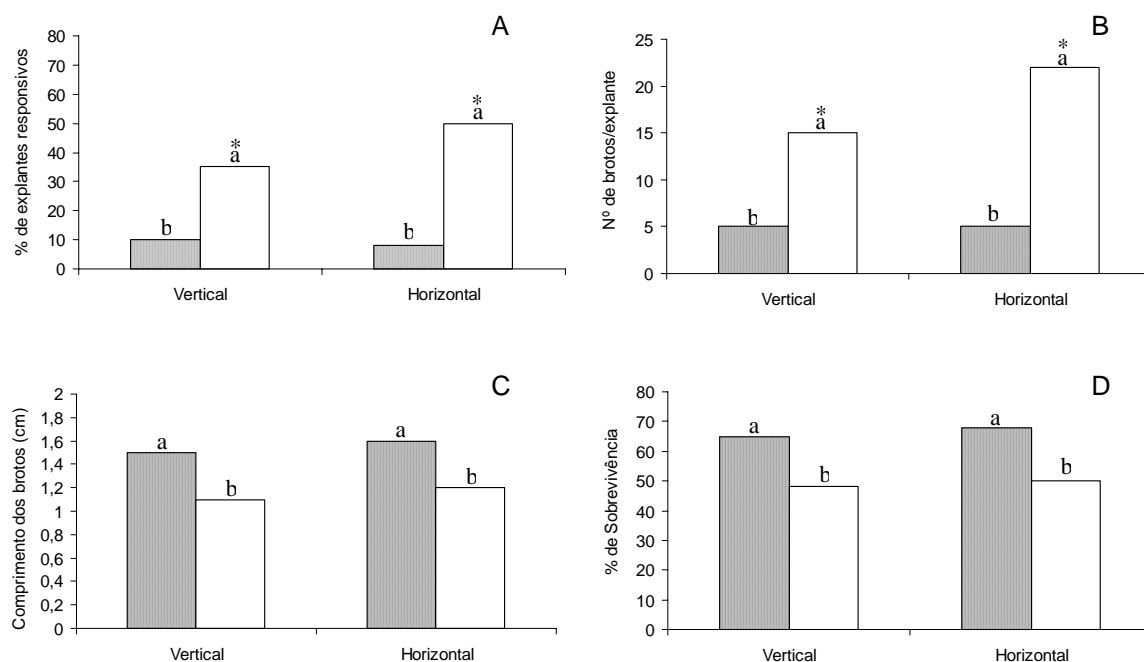


Figura 1. Efeito da orientação (vertical e horizontal) e decapitação (▨ com ápice e □ sem ápice) do rizoma na regeneração *in vitro* de plantas de *S. mucugensis*. (A) % de explantes responsivos, (B) número de brotos/explantes, (C) comprimento dos brotos (cm), (D) % de sobrevivência das plantas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ). O \* indica diferença estatística entre as médias pelo Teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

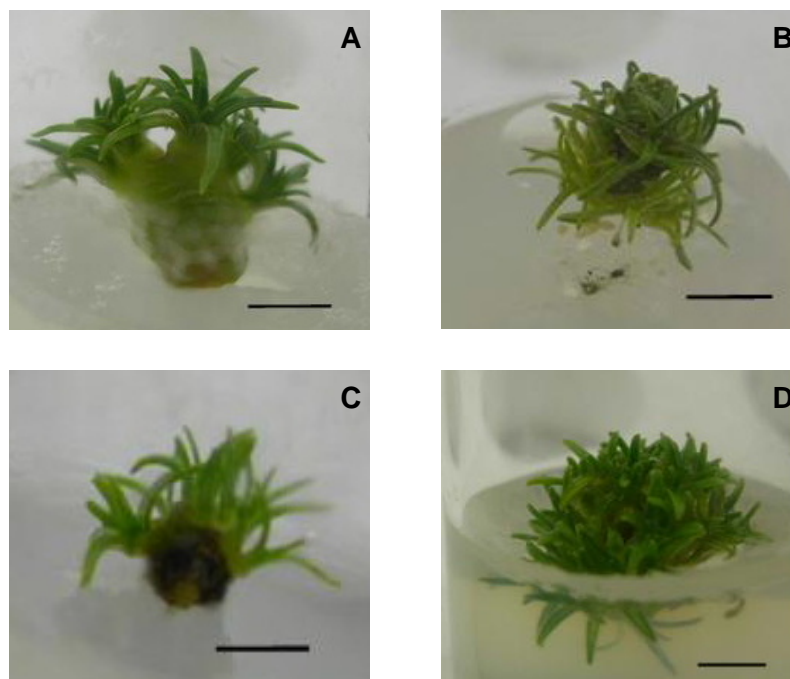


Figura 2. Regeneração de plantas de *S. mucugensis* a partir do rizoma. Orientação vertical com ápice (A) e sem ápice (B); Orientação horizontal com ápice (C) e sem ápice (D). (Barra = 0,5cm)

## CONCLUSÕES

A inoculação de rizomas sem ápice na posição horizontal em meio livre de regulador constitui, dentre os métodos testados, o mais eficiente para a obtenção de brotações por organogênese direta em *S. mucugensis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ERIG, A. C. & SCHUCH, M. W. Multiplicação in vitro de porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 293-295, 2002.
- GIULIETTI, A. M. & HENSOLD, N. Padrões de distribuições geográfica, dos gêneros de Eriocaulaceae. **Acta Botânica Brasileira**, v. 4, n. 1, p. 133-158, 1990.
- GIULIETTI, A. M.; WANDERLEY, G. L.; WAGNER, H. M.; PIRANI, J. R. & PARRA, L. R. Estudos em sempre vivas: Taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 329-377, 1996.
- GIULIETTI, A. M., SCATENA, V. L.; SANO, P. T.; PARRA, L. R.; DE QUEIROZ, L. P.; HARLEY, R. M.; MENEZES, N. L.; YSEPON, A. M. B.; SALATINO, A.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C.; RICCI, C. V.; BONFIM, M. C. & MIRANDA, E. B. Multidisciplinary studies on neotropical Eriocaulaceae. In: Wilson & Morrison (eds.) **Monocots: systematics and evolution**. Csiro publishing, Australia, p. 580-589, 2000.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.
- MCCLELLAND, M. T. & SMITH, M. A. L. Vessel type, closure, and explant orientation influence in vitro performance of five woody species. **HortScience**, v. 25, n. 7, p. 797-800, 1990.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PAIXÃO-SANTOS, J.; DORNELLES A. L. C.; SILVA, J. R. S. & RIOS, A. P. Germinação in vitro de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 3, p. 120-124. 2003.
- PAIXÃO-SANTOS, J.; SILVA, J. R. S.; SANTANA, J. R. F.; LIMA-BRITO, A. & DORNELLES, A. L. C. Ajuste do meio MS para o cultivo in vitro de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, uma espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 6, n. 1, p 36-39, 2006.
- PARRA, L. R. **Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. Ex Koern) - Eriocaulaceae**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. 201 p. 2000.
- PEREIRA, R de C.A.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI S. K. V.; CASTRO, E. M. de & SILVA, F. G. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento in vitro de *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin Rubiaceae (unha-de-gato). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 637-642, 2006.
- SILVA, J. R. S.; LIMA-BRITO, A.; SANTANA, J. R. F. & DORNELLES, A. L. Efeito da sacarose sobre o enraizamento e desenvolvimento "in vitro" de *Syngonanthus mucugensis* Giul. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 5, n. 2, p. 56-59, 2005.



TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. trad. Eliane Romanato Santarém... [et al.]. – 3. ed. – Porto Alegre Artmed, 2004. 719p.

**PALAVRAS-CHAVE:**

Eriocaulaceae; *Syngonanthus mucugensis*; micropropagação; orientação.

**AGRADECIMENTOS**

Ao Projeto Sempre-viva e a FAPESB.

## **Indução de organogênese em *Syngonanthus mucugensis* Giul. (Eriocaulaceae) – uma espécie ornamental ameaçada da Chapada Diamantina, Bahia.**

Lima-Brito, Alone<sup>1</sup>; Vitória, Angela Pierre<sup>2</sup>; Alvim, Bruno Freitas Matos<sup>3</sup>; Nepomuceno, Cristina Ferreira<sup>4</sup>; Resende, Sheila Vitória<sup>5</sup>, Santana, José Raniere Ferreira de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Caixa Postal 252-294, CEP 44031-460, Feira de Santana, Bahia, fone (75) 3625-2300, email: lima\_brito@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, CEP 28013-600, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, fone (22) 2726-1475, email: apvitoria@uenf.br; <sup>3</sup>Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: brunoalvim@hotmail.com; <sup>4</sup>Bolsista DTI/CNPq/M - UEFS, nepomucenocf@yahoo.com.br ; <sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UEFS, email: svresende@yahoo.com.br; <sup>6</sup> Professor da UEFS, email: raniere@uefs.br.

### **INTRODUÇÃO**

A Chapada Diamantina possui uma flora diversificada, com espécies de grande potencial para exploração econômica com fim ornamental. Muitas destas espécies são endêmicas e exploradas de forma extrativista, o que vem causando uma perda genética significativa.

O gênero *Syngonanthus* com cerca de 200 espécies inclui o maior número de sempre-vivas comercializadas como ornamental (Giullietti et al., 1996; Parra, 2000). *Syngonanthus mucugensis* Giul. (Eriocaulaceae), com distribuição restrita aos municípios de Mucugê, Abaíra e Rio de Contas, destaca-se pelo grande potencial como alternativa econômica para a região da Chapada Diamantina, BA (Giullietti et al., 1996). É uma espécie herbácea, com cerca de 30cm de altura, apresenta folhas reunidas em rosetas e inflorescências monóicas do tipo capítulo que mantém o aspecto *in natura* mesmo depois de destacadas e secas, razão de serem muito utilizadas para decoração de interiores (Parra, 2000; Ramos, 2005). O alto grau de endemismo associado à coleta extrativista antes do lançamento das sementes no ambiente tem levado essa espécie ao risco de extinção. Apesar da importância econômica, do endemismo restrito e da ameaça de extinção há poucas informações sobre métodos de propagação que possibilitem a utilização comercial, o que torna necessário o desenvolvimento de técnicas que promovam a propagação em larga escala e a sua preservação.

A cultura de tecidos, muito empregada pela indústria ornamental, possibilita a produção de um grande número de plantas a partir de um único indivíduo, podendo ser utilizada como uma alternativa para a multiplicação de *S. mucugensis*.

O processo de multiplicação *in vitro* depende principalmente da ação de reguladores de crescimento exógenos, em particular as auxinas e citocininas, e da habilidade do explante em responder a essas mudanças hormonais durante o período de cultivo (George, 1993; Sugiyama, 1999; Araújo et al., 2005). Os reguladores benzilaminopurina (BAP) e ácido naftleno acético (ANA) são mais utilizados na cultura de tecidos pela eficiência dos resultados e baixo custo (Brum et al., 2002).

A germinação *in vitro* de sementes de *S. mucugensis* pode ser obtida em agar (Paixão-Santos et al., 2003) e o seu cultivo, em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com metade da concentração de sais (MS $\frac{1}{2}$ ), acrescido de 15g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Silva et al., 2005; Paixão-Santos et al., 2006). Não foram encontrados na literatura informações sobre a sua multiplicação *in vitro*.

O objetivo deste trabalho é comparar a capacidade organogênica de diferentes tipos explantes de *S. mucugensis* submetidos a tratamentos com os reguladores de crescimento BAP e ANA.

### **METODOLOGIA**

Os explantes foram retirados de plantas estabelecidas *in vitro* com 180 dias de idade. A capacidade organogênica de folha, rizoma e raiz foi testada pela inoculação em tubo de ensaio (150x15mm) contendo 15mL de MS $\frac{1}{2}$ , suplementado com 15g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 6g.L<sup>-1</sup> de agar e diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP e ANA (0,0; 0,5; 1,0mg.L<sup>-1</sup>). O pH do meio foi ajustado para 5.7 antes da autoclavagem a 121°C por 15 minutos. Os experimentos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h a 25 ± 2°C e radiação fotossinteticamente ativa de 40  $\mu\text{mol m}^2.\text{s}^{-1}$ .

---

Agradecimentos: FAPESB e Projeto Sempre-viva

Aos 60 dias da inoculação avaliou-se a porcentagem de explantes responsivos e a massa fresca e seca dos calos e calos+brotos. Os brotos obtidos por organogênese direta foram individualizados, medidos e transferidos para MS½; após 60 dias da transferência foi avaliada a porcentagem de sobrevivência dos brotos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x3x3 (explante x BAP x ANA), com dez repetições de 4 amostras por tratamento. A análise dos dados foi feita com o programa software SISVAR v. 4.3 (UFLA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram que a multiplicação *in vitro* de *S. mucugensis* é influenciada pelo explante e pode ser manipulada pelo balanço auxina/citocinina no meio de cultura.

Tabela 1. Indução de organogênese em *S. mucugensis* a partir dos explantes rizoma e folha em meio suplementado com BAP e ANA.

Reguladores (g.L <sup>-1</sup> )		Rizoma			Folha		
BAP	ANA	% de brotos	% de calos	% de brotos+calos	% de brotos	% de calos	% de brotos+calos
0,0	0,0	66	—	—	—	—	—
	0,5	—	—	—	—	—	—
	1,0	—	6	—	—	26	—
0,5	0,0	—	—	90	—	—	—
	0,5	—	—	—	—	—	—
	1,0	—	—	—	—	—	—
1,0	0,0	—	20	20	—	12	—
	0,5	—	—	—	—	—	—
	1,0	—	—	—	—	—	—

A organogênese direta foi obtida em meio de cultura sem regulador de crescimento utilizando como fonte de explante o rizoma (Figura 1A). Para este tratamento, 66% dos explantes foram responsivos (Tabela 1) com uma média de 22 brotos por explantes, os quais apresentaram 1,1cm de comprimento da parte aérea (Figura 1B) e uma taxa de sobrevivência de 44% após a transferência para novo meio de cultura (Figura 1C).

A regeneração de brotos na ausência de reguladores é benéfica em termos da estabilidade genética, favorecendo a produção de plantas adequadas para a preservação *in vitro* e para o mercado florístico, além de constituir um método economicamente viável para o comércio das mudas micropropagadas (Pence, 1999; Arrabal et al., 2002).

Sistemas de micropropagação de espécies herbáceas em meios suplementados com auxinas e citocininas têm sido relatados na literatura com respostas que variam em função do balanço hormonal de cada espécie (Arrabal et al., 2002; Cerqueira et al., 2002; Dhar & Joshi, 2005; Rech Filho et al., 2005). Em *S. mucugensis* a adição de BAP nas duas concentrações utilizadas induziu a formação de calos com posterior regeneração de brotos a partir do explante rizoma. Foram obtidos 90% e 20% de indução de brotos por organogênese indireta na presença de 0,5 e 1,0 g.L<sup>-1</sup> de BAP, respectivamente, indicando que o aumento na concentração de BAP pode inibir a multiplicação dessa espécie (Tabela 1). Os calos surgiram na terceira semana da inoculação e apresentaram consistência compacta ou friável com coloração esverdeada ou amarelada (Figura 1D). A regeneração dos brotos iniciou-se na quarta semana de observação, concomitante com o crescimento dos calos (Figura 1E).

Quando o rizoma foi inoculado em meio contendo 1,0g.L<sup>-1</sup> de BAP foram observados 20% de formação de calos compactos sem a regeneração de brotos, o que sugere que o aumento na concentração de BAP pode causar efeito inibitório na multiplicação de *S. mucugensis* (Tabela 1).

Para folha foram obtidos 12% de calogênese em meio com 1,0g.L<sup>-1</sup> de BAP, não sendo observada a produção de brotos a partir desse explante em nenhum dos tratamentos utilizados. (Tabela 1). Os calos formados foram do tipo compacto com coloração amarelada ou esverdeada (Figura 1F).

Nos tratamentos com ANA, sem adição de BAP, as respostas dos explantes rizoma e folha limitaram-se à formação de calo com coloração branca de aspecto esponjoso e não friável, sem a regeneração de brotos (Figura 1G e 1H).

Os maiores valores para matéria fresca e seca dos calos ocorreram na presença de BAP e ausência de ANA (Tabela 2). Pode-se observar também que calos originados de rizoma

apresentaram pesos superiores aos formados por folha, independente do regulador utilizado (Tabela 2).

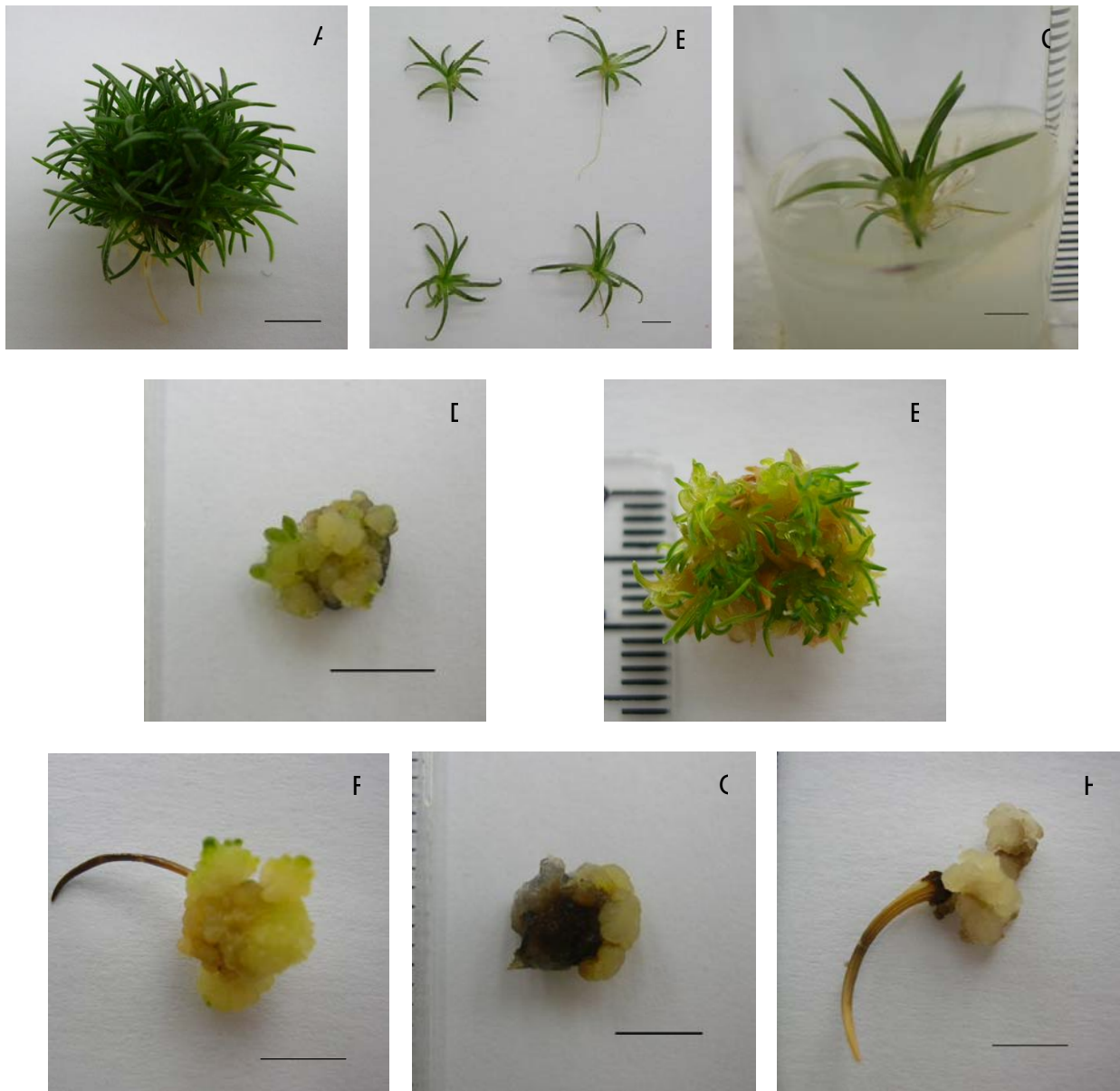


Figura 2. Organogênese em *Syngonanthus mucugensis*: organogênese direta (A, B e C), organogênese indireta (D e E), calogênese (F, G e H). (Barra = 0,5cm)

Tabela 2. Massa fresca e seca (g) dos calos de *S. mucugensis* obtidos a partir dos explantes rizoma e folha em meio suplementado com BAP e ANA.

Reguladores (g.L <sup>-1</sup> )		Massa fresca (g)		Massa seca (g)	
BAP	ANA	Rizoma	Folha	Rizoma	Folha
0,0	0,0	—	—	—	—
	0,5	—	—	—	—
	1,0	0,189 Ba	0,091 Bb	0,020 Ba	0,007 Bb
0,5	0,0	—	—	—	—
	0,5	—	—	—	—
	1,0	—	—	—	—
1,0	0,0	0,486 Aa	0,117 Ab	0,055 Aa	0,012 Ab
	0,5	—	—	—	—
	1,0	—	—	—	—

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ).

A utilização simultânea de BAP e ANA não induziu resposta morfogênica nos explantes utilizados, indicando a ação inibitória do regulador ANA na organogênese de *S. mucugensis* (Tabela 1). Resultados similares foram encontrados por Miachir et al., 2004 com a espécie *Curcuma zedoaria* Roscoe. Entretanto, para *Fragaria* x ananassa (morangueiro) e *Baccharis trimera* L. (carqueja) a presença de auxina em combinação com citocinina é essencial para a formação de calos (Flores et al., 1998; Silva et al., 2003).

Não houve organogênese quando a raiz foi utilizada como fonte de explante. Estes resultados sugerem que as raízes de *S. mucugensis* possuem elevada determinação, pois quanto maior a determinação de um explante para uma via de desenvolvimento, menor será a competência para formar outro tipo de órgão (Peres, 2002).

## CONCLUSÃO

A multiplicação de brotos de *S. mucugensis* pode ser obtida por organogênese indireta ou direta com a utilização do explante rizoma inoculado em meio de cultura com e sem regulador de crescimento, respectivamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, J. S. de; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F.; LUZ, J. M. Q.; PEREIRA, R. A.; FERREIRA, A. L. & MYIADA, L. Y. Concentrações de 2,4-D e cinetina na indução de calos em anteras de *Coffea arábica* L. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 1, n. 2, 2005.

ARRABAL, R.; AMANCIO, F; CARNEIRO, L. A.; NEVES, L. J. & MANSUR, E. Micropropagation of endangered endemic Brazilian bromeliad *Cryptanthus sinuosus* (L.B. Smith) for *in vitro* preservation. **Biodiversity and Conservation**, n. 11, p. 1081-1089, 2002.

BRUM, G. R.; SILVA, A. B. & PASQUAL, M. Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA na propagação *in vitro* da figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência e Agrotecnologia** Edição especial, p.1403-1409, 2002.

CERQUEIRA, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; MORAIS, A. R. de; CASTRO, N. E. A. de; CARDOSO, M. das G. & LAMEIRA, O. A. Indução de calos em erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.) utilizando diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 2, p. 301-308, 2002.

DHAR, U. & JOSHI, M. Efficient plant regeneration protocol through callus for *Saussurea obvallata* (DC) Edgew. (Asteraceae): effect of explant type, age and plant growth regulators. **Plant Cell Report**, v. 24, p. 195-200, 2005.

FLORES, R.; GOMES, P. R.; FARIA, J. T. C.; CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G. R. L. & PETERS, J. A. Calogênese *in vitro* de duas cultivares de morangueiro (*Fragaria* x ananassa) a partir de discos foliares. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 4, n. 1, p. 9-14, 1998.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics. Pt. 1: The technology, 1993. 574 p.

GIULIETTI, A. M.; WANDERLEY, G. L.; WAGNER, H. M.; PIRANI, J. R. & PARRA, L. R. Estudos em sempre vivas: Taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 10, n. 2, p. 329-377, 1996.

MIACHIR, J. I.; ROMANI, V. L. M.; AMARAL, A. F. de C.; MELLO, M. O.; CROCOMO, O. J. & MELO, M. Micropropagation and callogenesis of *Curcuma zedoaria* Roscoe. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 4, p. 427-432, 2004.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plant**, v. 15, p. 473-497, 1962.

PAIXÃO-SANTOS, J.; DORNELLES, A. L. C.; SILVA, J. R. S. & RIOS, A. P. Germinação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 3, p. 120-124, 2003.

PAIXÃO-SANTOS, J.; SILVA, J. R. S.; SANTANA, J. R. F.; LIMA-BRITO, A. & DORNELLES, A. L. C. Ajuste do meio MS para o cultivo *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, uma espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus**. Série ciências biológicas v. 6, n. 1, p. 36-39, 2006.

PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M. de; NOGUEIRA, R. C.; SANTOS, B. R. dos; MARTINOTTO; PAIVA, P. D. de O. & MENEGUCCI, J. L. P. Aspectos fisiológicos da produção de flores e plantas ornamentais. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 227, p. 12-18, 2005.

PARRA, L. R. **Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. Ex Koern)-Eriocaulaceae**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2000. 201 p.

PERES, L. E. P. Bases Fisiológicas e Genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 25, p. 44-48, 2002.

PENCE, V. C. The application of biotechnology for the conservation of endangered plants. In: Benson E.E. (ed.). **Plant Conservation Biotechnology**. Taylor and Francis Ltd, London p. 227-250. 1999.

RECH FILHO, A.; DAL VESCO, L. L.; NODARI, R. O.; LISCHKA, R. W.; MULLER, C. V. & GUERRA, M. P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v. 14, p. 1799-1808, 2005.

RAMOS, C. O. C. **Fenologia e biologia reprodutiva de *Syngonanthus mucugensis* Giul. e *S. curralensis* Moldenke (Eriocaulaceae) nos municípios de Mucugê e Morro do Chapéu, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2005.

SILVA, F. G, PINTO, J. E. B. P; SALES, J. F.; DIVINO, S. P. & BERTOLUCCI, S. K. V. Efeito da concentração de sais e fitorreguladores na indução de calos em carqueja. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 3, p. 541-547, 2003.

SILVA, J. R. S.; LIMA-BRITO, A.; SANTANA, J. R. F., DORNELLES, A. L. Efeito da sacarose sobre o enraizamento e desenvolvimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giul. **Sitientibus**. Série ciências biológicas v. 5, n. 2, p 56-59, 2005.

SUGINAMA, M. Organogenesis *in vitro*. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 61-64, 1999.

#### PALAVRAS-CHAVE

Eriocaulaceae; *Syngonanthus mucugensis*; sempre-viva; organogênese.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Projeto Sempre-viva e a FAPESB.

## Multiplicação e alongamento *in vitro* de *Eucalyptus benthamii*.

Lima, Bruno Henrique de<sup>1</sup>; Dutra, Leonardo Ferreira<sup>2</sup>; Hansel, Fabrício Augusto<sup>3</sup>; Moritz, Aline<sup>4</sup>; Batista, Cristina do Rosário<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduando de Biologia Bacharel (PUCPR), campos Curitiba, rua Imaculada Conceição, 1155 – Prado Velho, Curitiba, Paraná, fone (41) 3271-1515, Estagiário da Embrapa Florestas, Colombo, Paraná, email: [bruno\\_primohl@hotmail.com](mailto:bruno_primohl@hotmail.com); <sup>2</sup>Eng. Agrônomo, Dr., Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, Cep 83411-000, Colombo, Paraná, email: [leo@cnpf.embrapa.br](mailto:leo@cnpf.embrapa.br); 3Químico, Dr., Analista A da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, CEP 83411-000, Colombo, Paraná, email: [hansel@cnpf.embrapa.br](mailto:hansel@cnpf.embrapa.br); <sup>4</sup>Graduanda de Biologia Bacharel (PUCPR), campos Curitiba, rua Imaculada Conceição, 1155 – Prado Velho, Curitiba, Paraná, fone (41) 3271-1515, Estagiária da Embrapa Florestas, Colombo, Paraná, email: [alinemoritz6@hotmail.com](mailto:alinemoritz6@hotmail.com); <sup>5</sup>Graduanda de Biologia Bacharel (PUCPR), campos Curitiba, rua Imaculada Conceição, 1155 – Prado Velho, Curitiba, Paraná, fone (41) 3271-1515, Estagiária da Embrapa Florestas, Colombo, Paraná, email: [cristinabatista3@hotmail.com](mailto:cristinabatista3@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

Dentre as espécies exóticas, as do gênero *Eucalyptus* demonstram seu potencial como matéria-prima de produtos florestais como celulose e madeira (KHUSPE et al., 1987). Entretanto, nem todas as espécies de *Eucalyptus* adaptam-se a climas com baixas temperaturas. Neste sentido, destaca-se o *E. Benthamii*.

De acordo com Paludzyszyn Filho et al. (2006), este é indicado para plantios em regiões com temperaturas mínimas absolutas de até -10°C, sob condições de aclimação prévia por gradual abaixamento de temperatura na estação fria. Sob temperaturas abaixo desse limite, podem ocorrer atrasos no desenvolvimento em altura de plantas, porém são pouco expressivos (2%). Trata-se de uma espécie indicada para clima temperado ainda pouco estudada, porém, com indicações favoráveis de crescimento em países como África do Sul, China e Brasil. Plantios nos municípios paranaenses de Colombo e Guarapuava indicam alta tolerância a geadas e crescimento médio superior ao de *E. dunnii*. As primeiras observações indicam que a madeira tem maior aptidão para fins energéticos.

Das técnicas de clonagem, a micropropagação apresenta vantagens como a produção massal de genótipos selecionados, produção de plantas livres de patógenos, preservação de germoplasma *in vitro* e rejuvenescimento de material adulto (ELDRIDGE et al., 1994; HARTMANN et al., 1997). Com o sucesso no estabelecimento de plantas adultas *in vitro*, as fases seguintes da micropropagação, proliferação e alongamento, relacionam-se a estudos visando o enraizamento e produção de mudas.

Este trabalho teve por objetivo testar, a partir de ápices caulinares estabelecidos *in vitro*, um protocolo de proliferação e alongamento de *Eucalyptus benthamii*.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Os explantes foram retirados de brotações originárias de decepa de uma planta matriz de *Eucalyptus benthamii* com 17 anos de idade. Ápices caulinares foram desinfestados com hipoclorito de sódio (NaClO) à 2% durante 5 minutos + 5 gotas de tween-20/100 mL, seguida de tríplice lavagem com água destilada e autoclavada. Posteriormente, foram introduzidos em placas de Petri contendo 10 ml de meio de cultura WPM (McCown e Llyod, 1981), acrescido de 50 mg L<sup>-1</sup> de PVP 40000; 0,05 μmol L<sup>-1</sup> de ácido-1-naftaleno acético (ANA); 0,9 μmol L<sup>-1</sup> 6-benzil-aminopurina (BAP) e 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 7g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Após 30 dias de cultivo, correspondente ao estabelecimento, os explantes foram subcultivados oito vezes no meio de cultura, visando a proliferação, com intervalo de 28 dias entre os subcultivos. Nesta fase utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições e o número variável de explantes em cada subcultivo.

Após a multiplicação, procedeu-se o alongamento dos tufos, os quais foram inoculados em frascos contendo 20 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), acrescido de 50 mg L<sup>-1</sup> PVP 40000; 0,9 µmol L<sup>-1</sup> ANA e 0,2 µmol L<sup>-1</sup> BAP, com ou sem GA<sub>3</sub> (0,1 µmol L<sup>-1</sup>) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 7g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Decorridos 30 dias foi realizada a avaliação dos explantes alongados, considerando-se aqueles entre 1 e 2 cm e maiores que 2 cm. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições com 8 tufos em cada tratamento.

Em todas as fases, os explantes permaneceram em sala de crescimento a 25± 2° C, 16 horas de fotoperíodo e intensidade luminosa de 85µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% para proliferação e a 10% para alongamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos primeiros subcultivos, o material praticamente não proliferou. Isso pode ter ocorrido devido a uma adaptação do explante ao meio, ou ainda o material não estar rejuvenescido o suficiente para emitir novas brotações. O aumento na produção de brotações foi verificado a partir do 6º subcultivo, com um declínio no 7º e posterior aumento no 8º (Figura 1). Embora este aumento a partir do 6º subcultivo, não se demonstrou significativamente diferente dos demais (p<0,05), este pode ser considerado alto, em valores absolutos, uma vez que nas primeiras proliferações o material praticamente não multiplicou, e a partir do 6º subcultivo o número de explantes praticamente dobrou, indicando o possível rejuvenescimento do material. O número de explantes contaminados e oxidados na etapa de proliferação foi baixo, 3 e 2%, respectivamente, demonstrando que os ápices caulinares são viáveis *in vitro* nas condições testadas, pois sobreviveram sete meses em meio de cultura.

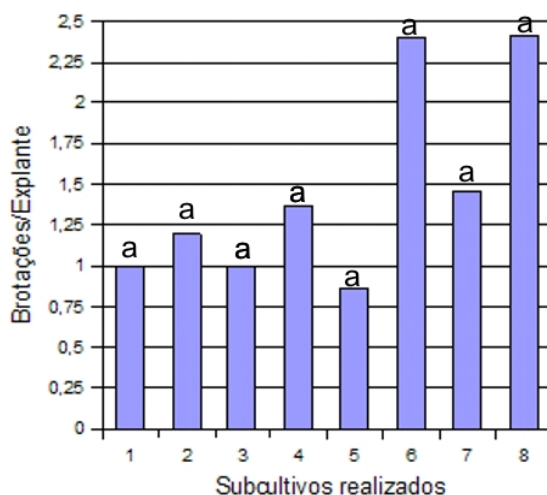


Figura 1. Média de brotações por explante nos subcultivos.

O tratamento sem GA<sub>3</sub> apresentou cerca de 10 gemas alongadas entre 1 e 2 cm, não diferindo do tratamento em que se utilizou GA<sub>3</sub>, 14 gemas alongadas entre 1 e 2 cm. Entretanto, quando considerado as gemas com tamanho superior a 2 cm, o tratamento com GA<sub>3</sub> foi significativamente superior (p<0,1) ao tratamento sem GA<sub>3</sub>, os quais produziram em média 15 e 1,5 gemas alongadas respectivamente (Figura 2).

Novos trabalhos envolvendo os testes de proliferação, alongamento e enraizamento *ex vitro*, estão sendo realizados com o objetivo de criar um protocolo de micropropagação para *Eucalyptus benthamii*.



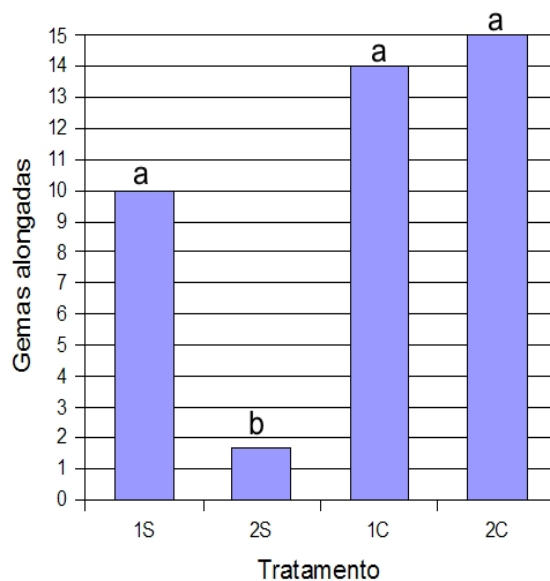


Figura 2. Número de Gemas alongadas; 1S (sem GA<sub>3</sub>; 1 à 2 cm) e 2S (sem GA<sub>3</sub>; > 2 cm), 1C (com GA<sub>3</sub>; 1 à 2 cm) e 2C (com GA<sub>3</sub>; > 2 cm). Médias significativamente diferentes a p<0,1 pelo teste de Tukey.

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que é viável o subcultivo *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* durante um longo período, devido ao seu crescimento e seu baixo índice de contaminação. A relação citocinina/auxina usada foi efetiva na indução de brotações. Na fase de alongamento, a utilização de GA<sub>3</sub> é efetiva no crescimento de brotações maiores que 2 cm.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARDWIID, C.; WYK, G. V. *Eucalypt domestication and breeding*. Oxford: Clarendon, p. 228-246, 1994.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, JÚNIOR. F. T. and GENEVE, R. L. *Plant propagation: principle and practices*. 6. ed. Prentice-Hall, New Jersey, 1997.

HIGA, R. C. V. Aspectos ecológicos e silviculturais do *Eucalyptus benthamii* maiden et Cabbage. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, n. 38, p. 121-123, Jan./Jun. 1999.

JOSHI, I.; BISHT, P.; SHARMA, V. K.; UNİYAL, D. P. *In vitro* clonal propagation of mature *Eucalyptus* F<sub>1</sub> hybrid ( *Eucalyptus tereticornis* Sm. X *E. Grandis* Hill ex Maiden). *Silvae Genetica*, v.52, n. 3-4, p. 110-113, 2003.

KHUSPE, S. S.; GUPTA, P. K.; KULKARNI, D. K.; MEHTA, V. and MASCARENHAS, A F. Increased biomass production by *Eucalyptus*. *Can J For Res* 17, p. 1361-1363, 1987.

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

PALUDZYSZYN FILHO, E.; Santos, P.E.T. dos; Ferreira, C.A. Eucaliptos indicados para plantio no Estado do Paraná. [recurso eletrônico]. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. (**Documentos/Embrapa Florestas, 129**).

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 20, n. 1, p. 9-16, 1996.

#### PALAVRAS-CHAVE

Ápice caulinar; propagação clonal; BAP; ANA e GA<sub>3</sub>.

## Estabelecimento de condições para cultivo e floração de plantas *in vitro*, visando à sua comercialização direta.

Cavalcanti, Thaís Silva<sup>1</sup>; Cavalcanti, Giovani José Feitosa<sup>2</sup>; Azevedo, Hayana Millena de Arruda<sup>3</sup>; Silva, Claudete Maria Marques<sup>4</sup>; Iseppon, Celso<sup>5</sup>; Benko-Iseppon, Ana Maria<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de Graduação em Ciências Biológicas/Licenciatura Plena (UNICAP), Rua do Príncipe, 526, Boa Vista, CEP 50050-900, Recife, Pernambuco, fone (81) 2119-4000, email: [thaissilvac@gmail.com](mailto:thaissilvac@gmail.com); <sup>2</sup>Aluno de Graduação em Ciências Biológicas/Bacharelado (UFPE), Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, fone (81) 2126-8520, email: [giovanifeitosa@hotmail.com](mailto:giovanifeitosa@hotmail.com); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (UFPE), Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, fone (81) 2126-8520, email: [arrudah@gmail.com](mailto:arrudah@gmail.com); <sup>4</sup>Técnica de Nível Superior, Depto. de Genética (UFPE), Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, fone (81) 2126-8520, email: [calumar2001@yahoo.com.br](mailto:calumar2001@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Consultor técnico-comercial, Depto. de Genética (UFPE), Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, fone (81) 9679-3091, email: [annaisep@hotmail.com.br](mailto:annaisep@hotmail.com.br); <sup>6</sup>Chefe do Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Depto. de Genética (UFPE) Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, fone (81) 2126-8520, email: [celisep@hotmail.com.br](mailto:celisep@hotmail.com.br).

## INTRODUÇÃO

A micropropagação de plantas ornamentais apresenta-se como um novo desafio e uma nova fronteira para as técnicas de cultivo *in vitro* com a finalidade de multiplicação de mudas, propiciando a produção de clones em larga escala e em curto espaço de tempo, com uso de espaço limitado e minorando os índices de contaminação. Novas demandas têm surgido especialmente considerando-se o potencial de plantas ainda não testadas para este fim, com destaque para as ornamentais. Esta técnica é considerada a aplicação mais prática da cultura de tecidos e aquela de maior impacto (Grattapaglia & Machado, 1998).

A presente pesquisa teve como principal objetivo alcançar o desenvolvimento e floração de espécies ornamentais *in vitro* para fins comerciais, sendo inoculados diversos tipos de plantas em diferentes meios de cultura, dentre as quais *Celosia plumosa*, *Rosa X* híbrida e *Echinocereus*. Como inovação comercial, novos tipos e formatos de frascos foram testados, tendo em vista a comercialização direta das plantas nestes frascos.

Os representantes do gênero *Celosia* apresentam um porte herbáceo com pequenas flores reunidas em inflorescência cimosa, possuindo ovário súpero e fruto seco. Pertencente à família *Amaranthaceae*, conhecida popularmente, como crista-de-galo, sendo bastante cultivada como ornamental devido à beleza e coloração de sua inflorescência, que varia de branca, tons de rosa, amarelo, laranja e vermelho.

A rosa cultivada foi resultante de uma grande mistura de espécimes pertencentes ao gênero *Rosa*, família *Rosaceae*. Apresenta hábito arbustivo, com folhas simples, alternas e presença de estípula, sendo suas flores bem visíveis com diversas colorações, principal fator que favorece seu uso ornamental e sua importância econômica.

O gênero *Echinocereus* pertencente à família *Cactacea*, não possuindo folhas desenvolvidas, apresentando suculência com caule de coloração verde e formato cilíndrico. Todos os representantes da família são especialmente abundantes em regiões de zonas áridas e semi-áridas, sendo muito encontradas na região da caatinga do nordeste brasileiro.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram executados na Universidade Federal de Pernambuco, no Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, onde foram utilizadas gemas apicais, gemas axilares e sementes das plantas citadas anteriormente. Em princípio, todos os tecidos foram submetidos à desinfestação passando pelas seguintes etapas: banho em

água destilada, imersão em álcool 70% (3 min) para quebra de tensão superficial, fazendo com que a limpeza em água sanitária a 20% (20 min) seja eficiente e a contaminação por agentes externos seja erradicada, posteriormente, foram feitas três lavagens em água autoclavada, para retirar o excesso de água sanitária, e por fim, submissão do material ao fungicida e bactericida sistêmico, Kasumin, por 40 minutos. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo, previamente descontaminada.

Em seguida, as sementes foram inoculadas em meio MS (Murashige & Skoog) sem fitormônios. Enquanto que as gemas, foram inoculadas em meio MS com concentração de fitormônios ajustados de acordo com suas respectivas exigências.

Para *Celosia plumosa* foi utilizado o meio MS acrescido dos fitormônios, em volumes balanceados, BAP na concentração de 2 mg/ml e AIB com concentração de 0,25 mg/ml. No caso de rosa foram adicionados ao meio MS os fitormônios BAP (2 mg/ml), GA<sub>3</sub> (0,05 mg/ml) e PVP (0,05 g/l). Já o meio utilizado para *Echinocereus* a princípio foi o meio sem hormônios para a germinação das sementes, após a germinação, estas plantas foram transferidas para teste, aos meios elaborados para *Celosia plumosa* e *Rosa X* híbrida, já que os mesmos haviam sido estabelecidos. Todo material foi mantido à temperatura média de 24°C e fotoperíodo de 16 horas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meio de cultura desenvolvido para *Celosia plumosa* mostrou excelentes resultados, ocasionando o desenvolvimento e floração da planta uma vez que se atingiu o equilíbrio entre a formação de calos e raízes com o uso em conjunto dos dois fitormônios indicados na metodologia nas concentrações ideais, evitando, portanto excessos.

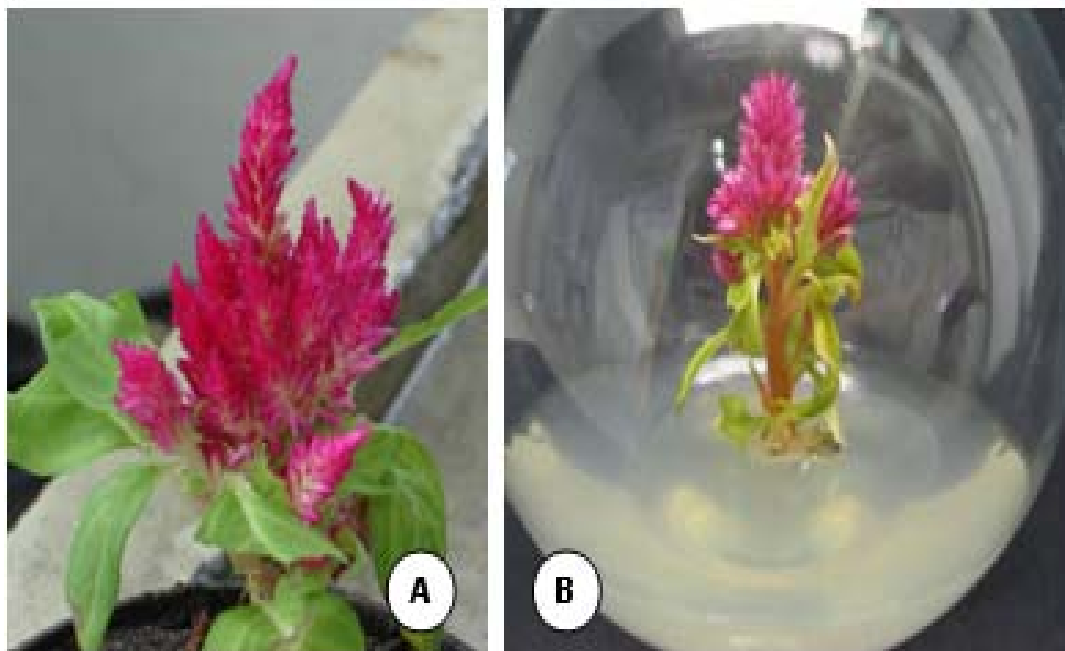


Figura 1. *Celosia plumosa* in vivo (A) e in vitro (B)

Devido à adição do GA<sub>3</sub> em associação com o BAP o meio de cultura da *Rosa X* híbrida apresentou desenvolvimento e floração satisfatórios em aproximadamente três meses após constantes repicagens. O PVP teve papel antioxidante, auxiliado por um período de escuro após a inoculação ou repicagem.

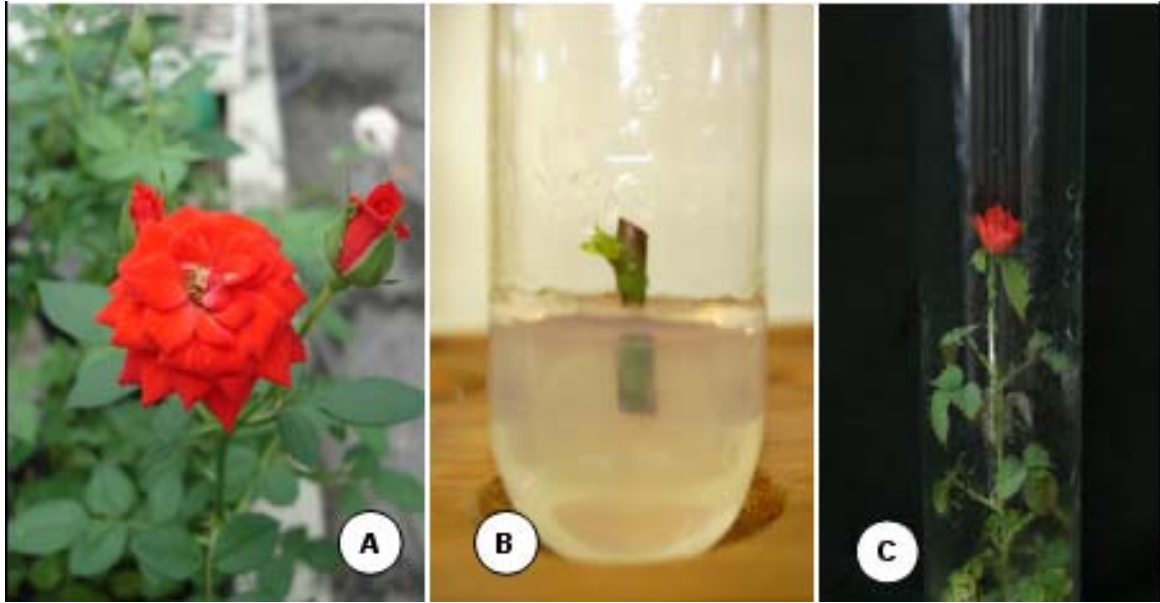


Figura 2. *Rosa X* híbrida *in vivo* (A) planta após a inoculação, com presença de desenvolvimento (B) planta com floração após três meses (C).

Para *Echinocereus* existe ainda uma necessidade de otimização da metodologia. Os meios testados no laboratório (MS *Celosia* e MS *Rosa*), ainda não são adequados ao desenvolvimento destas plantas. Inicialmente foram inoculadas as sementes destes cactos em meio sem hormônios o qual possibilitou o desenvolvimento do vegetal em cerca de um ano após a inoculação. Depois de germinadas, umas foram transferidas para meio MS *Celosia* e outras para o meio MS *Rosa*.

No primeiro meio de cultura, observou-se a formação de uma grande quantidade de raízes, enquanto que no segundo constatou-se a multiplicação dos explantes.

O elevado número de raízes não é desejado em trabalhos de cultura de tecidos, no geral, pois há o rápido consumo do meio onde as plantas estão se desenvolvendo. Já a formação de múltiplos brotos na amostra é requerida para experimentos de clonagem vegetal.

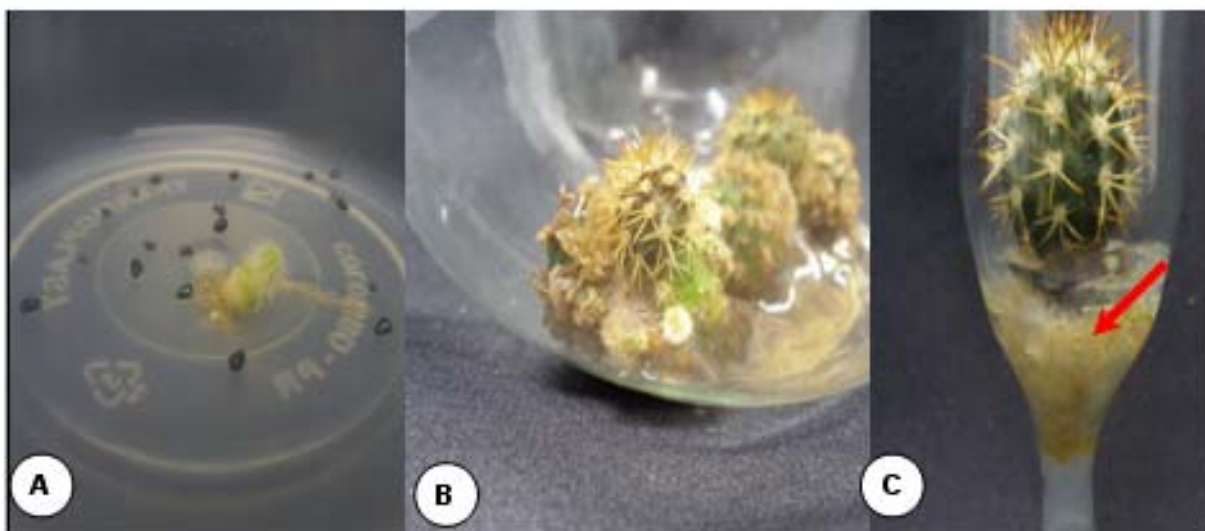


Figura 3. Inoculação de semente e início de crescimento de *Echinocereus* (A) transferência da planta para meio de *Rosa* com multiplicação de explantes (B) transferência do explante para meio de *Celosia* sendo apontado com a seta a grande quantidade de raízes neste meio de cultura (C).

## CONCLUSÃO

De todos os materiais selecionados a *Celosia* apresentou o melhor desenvolvimento e reprodutibilidade de floração *in vitro*, com a vantagem de estabelecimento e floração em menor espaço de tempo. Embora a rosa tenha mostrado bons resultados, fazem-se necessários ensaios adicionais, com aprimoramento da metodologia a fim de minimizar efeitos de agentes oxidativos, diminuir o tempo de floração e quebrar a dormência de alguns explantes à indução de florescimento.

No caso de *Echinocereus*, considerando a importância do gênero para cultivo e floração em vasos, considera-se que o cultivo *in vitro* deva ser utilizado exclusivamente para fins de propagação de mudas, com posterior cultivo e floração em vasos.

Por fim, a técnica de cultivo de plantas *in vitro* aplicada às espécies em questão, mostra-se bastante promissora para comercialização das mesmas em frascos estilizados, assim como a multiplicação de mudas para posterior aclimação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JOLY, A.B. **BOTÂNICA:** Introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional, v.4, 11º ed., p.276-279, 1993.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas.** Brasília: Embrapa, v.1, p.183-260, 1998.

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

## PALAVRAS - CHAVE

*Celosia plumosa*; *Rosa X* híbrida; *Echinocereus*; Cultivo *in vitro*.

## Indução de brotações em *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo e *Melocactus paucispinus* G. Heimen & R. Paul (Cactaceae).

Resende, Sheila Vitória<sup>1</sup>; Freire, Martina Gomes<sup>2</sup>; Lima-Brito, Alone<sup>3</sup>, Pelacani, Claudinéia Regina<sup>4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Caixa Postal 252-294, CEP 44031-460, Feira de Santana, Bahia, fone (75) 3625-2300, email: svresende@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: tina\_freire@hotmail.com; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UEFS, email: lima\_brito@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professora da UEFS, email: pelacani@uefs.br; <sup>5</sup>Professor da UEFS, email: raniere@uefs.br.

O gênero *Melocactus* (Cactaceae) conhecido como cabeça-de-frade ou coroa-de-frade possui 36 espécies, sendo 11 endêmicas da Bahia, região onde ocorre maior concentração das espécies do gênero. O alto grau de endemismo associado a fatores como exploração de areais, degradação de *habitats*, queimadas na caatinga e coleta destas plantas para comercialização como ornamental tem levado algumas espécies ao risco de extinção. No *habitat* natural, os membros desse gênero se reproduzem exclusivamente por sementes, visto que essas espécies não ramificam, nem emitem brotos laterais. O crescimento é lento e a floração inicia-se após uma década de existência da planta, quando o cefálio desenvolve-se e começa sua fase reprodutiva. A técnica de cultura de tecidos é uma alternativa viável à propagação convencional dessas espécies por proporcionar altas taxas de multiplicação. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de formação de brotações a partir de diferentes explantes de *M. glaucescens* e *M. paucispinus*. Plantas com um ano de idade, germinadas *in vitro* e estioladas durante 3 meses no escuro, foram seccionadas transversalmente originando 3 tipos de explantes: apical, mediano e basal. Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS $\frac{1}{2}$  sem regulador de crescimento, suplementado com 15g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6g.L<sup>-1</sup> de agar. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 X 3 (duas espécies e três tipos de explantes), com dez repetições de 1 explante cada. Aos 150 dias da inoculação avaliou-se a porcentagem de explantes responsivos e o número de brotos e raízes por explantes. As raízes surgiram após a 3ª semana de inoculação e as brotações após a 4ª semana. Em *M. paucispinus* foram obtidos 100% de explantes responsivos diferindo significativamente de *M. glaucescens* (50%). Apesar desse resultado, não houve diferença entre as espécies com relação à produção total de brotos, o que pode estar relacionado a presença de múltiplas brotações em *M. glaucescens*. Com relação ao tipo de explante, não houve diferença estatística para o número de brotações nas duas espécies. Observou-se formação de raízes em 86,67% dos explantes de *M. paucispinus*, enquanto que em *M. glaucescens* o enraizamento ocorreu em apenas 40% dos explantes. *M. paucispinus* apresentou um maior número de raízes em todos os tipos de explantes havendo uma tendência a maiores valores para o explante apical. Estes resultados indicam que a indução de brotações em *M. glaucescens* e *M. paucispinus* por organogênese direta pode ser obtida em meio de cultura sem regulador de crescimento a partir da fragmentação das plântulas.

### PALAVRAS-CHAVE

*Melocactus glaucescens*; *Melocactus paucispinus*; Cactaceae; organogênese.

---

Agradecimentos: CAPES e FAPESB



## **Produção de biomassa em cultura de células vegetais de *Ageratum conyzoides* L. Sieber.**

Rescarolli, Cristine Luciana de Souza<sup>1</sup>; Souza, Julio Cezar de<sup>2</sup>; Zaffari, Gilmar Roberto<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmico de Ciências Biológicas – ênfase em Biotecnologia da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). (47) 3341-7949. e-mail: [cristine.bio@gmail.com](mailto:cristine.bio@gmail.com); <sup>2</sup> Acadêmico de Ciências Biológicas – ênfase em Biotecnologia da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). (47) 3341-7949. e-mail: [julio.bio@terra.com.br](mailto:julio.bio@terra.com.br); <sup>3</sup> – Responsável pelo Laboratório de Cultivo Celular, CTTMar-UNIVALI, Itajaí, SC. (47) 3341-7949. e-mail: [gzaffari@epagri.sc.gov.br](mailto:gzaffari@epagri.sc.gov.br)

Os produtos naturais e seus derivados representam 50 % do total das drogas de uso clínico, sendo que 25 % do total são originárias de plantas superiores. A produção *in vitro* destes valiosos produtos secundários tem sido muito promissora, como alternativa para os compostos sintéticos. Com o avanço crescente da biotecnologia, esses estudos ganharam um grande impulso com o uso da micropropagação e a produção de biomassa *in vitro* para extração de metabólitos secundários, com um mínimo de impacto à natureza. A espécie *Ageratum conyzoides*, popularmente conhecida como mentrasto, apresenta uso medicinal difundido pela população brasileira e de outros países. Tem tido seu consumo aumentado a partir de sua inclusão na lista da Central de Medicamentos e subsequente verificação de sua eficácia como analgésico e antiinflamatório. O objetivo do presente estudo foi estabelecer uma metodologia para propagação vegetativa *in vitro*, e a produção de biomassa celular indiferenciada visando atender a demanda de consumo destes metabólitos. Para a realização dos ensaios foram utilizados explantes do tipo semente, folha e segmento nodal, submetidos a diferentes agentes desinfestantes com o objetivo de estabelecer culturas assépticas. Para a propagação vegetativa foram testados diferentes meios de cultivo com adição ou não de reguladores de crescimento para a multiplicação e enraizamento. A indução e proliferação de massa celular indiferenciada foi realizada a partir de explantes foliar e caulinar, em meio MS sólido acrescidos de 2,4-D, BAP e KIN. O estabelecimento das culturas assépticas foi obtida a partir da germinação de sementes *in vitro*. O melhor índice de regeneração e enraizamento de plântulas foi obtido em meio MS sólido sem adição de fitohormônios. A indução de massa celular indiferenciada ocorreu indiferentemente ao acréscimo ou não de reguladores de crescimento no meio de cultivo, enquanto a proliferação ocorreu em maior intensidade quando o meio MS foi acrescido de fitohormônios 2,4-D e KIN por um período de cultivo de 30 dias. A espécie *Ageratum conyzoides*, apresenta capacidade morfogenética *in vitro* tanto para produção de biomassa celular indiferenciada quando para a propagação vegetativa.

**Palavras-chave:** Micropropagação, *Ageratum conyzoides*, plantas medicinais.



## Efeito da cinetina e picloran no cultivo *in vitro* de pequizeiro.

<sup>1</sup>[Martinotto, Cristiano](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Paiva, Renato; <sup>3</sup>Rodrigues, Marcelo; <sup>4</sup>Silva, Luciano Coutinho; <sup>5</sup>Santos, Breno Régis.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Prof. Dr. DBI-UFLA e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Bolsista de iniciação científica, e-mail: [marcelo@cbiologicas.ufla.br](mailto:marcelo@cbiologicas.ufla.br); <sup>4</sup> Estagiário voluntário do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas DBI – UFLA, e-mail: [lucoutsilva@yahoo.com.br](mailto:lucoutsilva@yahoo.com.br); Dr. em Fisiologia Vegetal, e-mail: [brenors@yahoo.com.br](mailto:brenors@yahoo.com.br); <sup>5</sup>

## INTRODUÇÃO

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma espécie arbórea nativa do Cerrado. Apresenta porte médio, com cerca de 7 m de altura, podendo chegar até os 10 m. Seu tronco pode medir entre 30 e 40 cm de diâmetro. Possui um elevado potencial como planta frutífera. O fruto do pequizeiro é uma drupa rica em carotenos e lipídios, sendo muito apreciado por populações regionais as quais o utilizam na culinária com arroz, galinha, feijão ou leite e açúcar. Apresenta ainda potencial ornamental e melífero. Sua madeira serve para construção civil, naval, construção de móveis, postes moirões, carvão e outros usos.

A principal forma de propagação do pequizeiro atualmente é a sexuada. Porém suas sementes apresentam germinação reduzida e irregular. Foram observados dois mecanismos de dormência em sementes de pequizeiros, um devido ao endocarpo rígido, supostamente um impedimento mecânico ao desenvolvimento do embrião (DOMBROSKI, 1997; OLIVEIRA, 2002), e outro de dormência do próprio embrião (DOMBROSKI, 1997).

Segundo Donadio et. al. (2002) a propagação vegetativa da espécie poderia ajudar na seleção de plantas para porte, teor de lipídeos e precocidade. Além disso, técnicas de propagação vegetativa massal como a micropropagação podem superar os problemas de dormência da espécie, produzindo mudas uniformes de qualidade e em larga escala. Com esta técnica, pode-se obter a propagação massal de espécies que apresentem dificuldade de multiplicação por via sexuada.

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito da cinetina e do picloran no cultivo *in vitro* de pequizeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras.

Foram utilizados como explantes iniciais, brotações de pequizeiro de um centímetro, obtidas pelo cultivo *in vitro* segundo protocolo desenvolvido por Santos et al. (2006).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 15 repetições, sendo cada repetição constituída por um tubo de ensaio.

Para verificar o efeito da interação entre cinetina e picloran, o meio de cultivo WPM foi acrescido de 7g L<sup>-1</sup> de ágar, 400mg L<sup>-1</sup> de PVP, 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, e diferentes concentrações de cinetina (0; 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) e picloran (0, 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg L<sup>-1</sup>), e as suas possíveis interações totalizaram 18 tratamentos (Tabela 1).

**TABELA 1.** Combinação entre os reguladores de crescimento Cinetina e Picloran.

Reguladores de crescimento			Reguladores de crescimento		
TRAT	Cinetina (mg L <sup>-1</sup> )	Picloran (mg L <sup>-1</sup> )	TRAT	Cinetina (mg L <sup>-1</sup> )	Picloran (mg L <sup>-1</sup> )
T1	0	0,0	T10	0,5	2,0
T2	0	0,5	T11	0,5	4,0
T3	0	1,0	T12	0,5	8,0
T4	0	2,0	T13	1,0	0,0
T5	0	4,0	T14	1,0	0,5
T6	0	8,0	T15	1,0	1,0
T7	0,5	0,0	T16	1,0	2,0
T8	0,5	0,5	T17	1,0	4,0
T9	0,5	1,0	T18	1,0	8,0

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio, sendo o pH do meio de cultivo ajustado para 5,8 e posteriormente autoclavado a 121°C e 1,0 atm por 20 minutos.

Após a inoculação, os tubos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de 25±1°C no escuro.

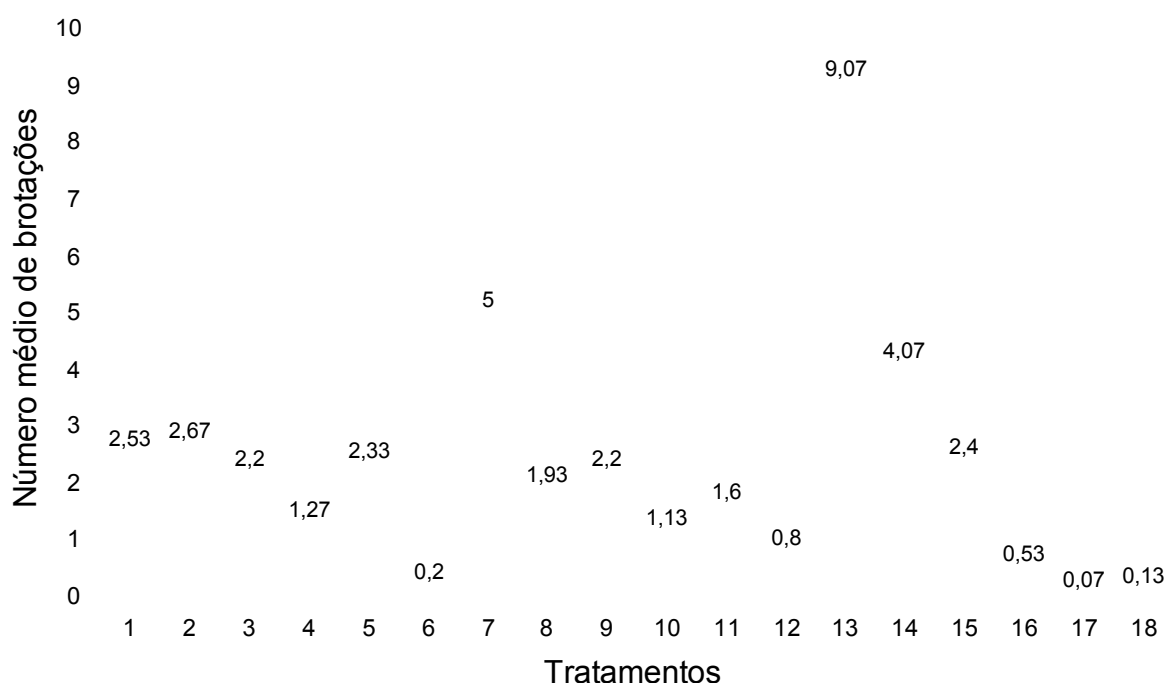
Aos 45 dias de cultivo, foram avaliados o número de brotações e a altura das três maiores brotações. Foi realizado a análise de variância dos dados com o programa estatístico SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância realizado, houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados tanto para média das três maiores brotações quanto para número de brotações. Na Figura 2 temos detalhes das brotações obtidas.

O melhor tratamento para a indução de brotações foi o 13 (1,0 mg L<sup>-1</sup> cinetina) com média de 9,07 brotações por explante, seguido dos tratamentos 7 (0,5 mg L<sup>-1</sup> de cinetina) e 14 (1,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de picloran) com 5 e 4,07 brotações por explante em média (figura 3). Fráguas (2003) também obteve maior comprimento de brotações em figueira utilizando a concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de cinetina. Nicioli (2006) estudando a cinetina em interação com outras auxinas verificou que esta era essencial à proliferação de brotações, onde a melhor concentração foi a de 5,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina, obtendo em média 3 brotos por explante. Aumento na produção de brotos de *Salix humboldtiana* foi observado utilizando 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina (PEREIRA et al., 2000).

**Figura 2.** Aspecto das brotações obtidas no experimento.



**FIGURA 3.** Número médio de brotações por explante.

Para comprimento médio das três maiores brotações o melhor tratamento foi o 7 ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de cinetina) com 21,96 mm de comprimento, seguido do tratamento 13 ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  cinetina) com um comprimento médio de 11,67 mm (Figura 4). Foi observado que os tratamentos que continham picloram, mesmo em quantidades mínimas, o comprimento das brotações foram reduzidos, não passando de 3,33 mm em média. Fráguas (2003) encontrou resultado semelhante, onde utilizando  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  obteve o maior comprimento de brotos com figueira (5,2 cm).

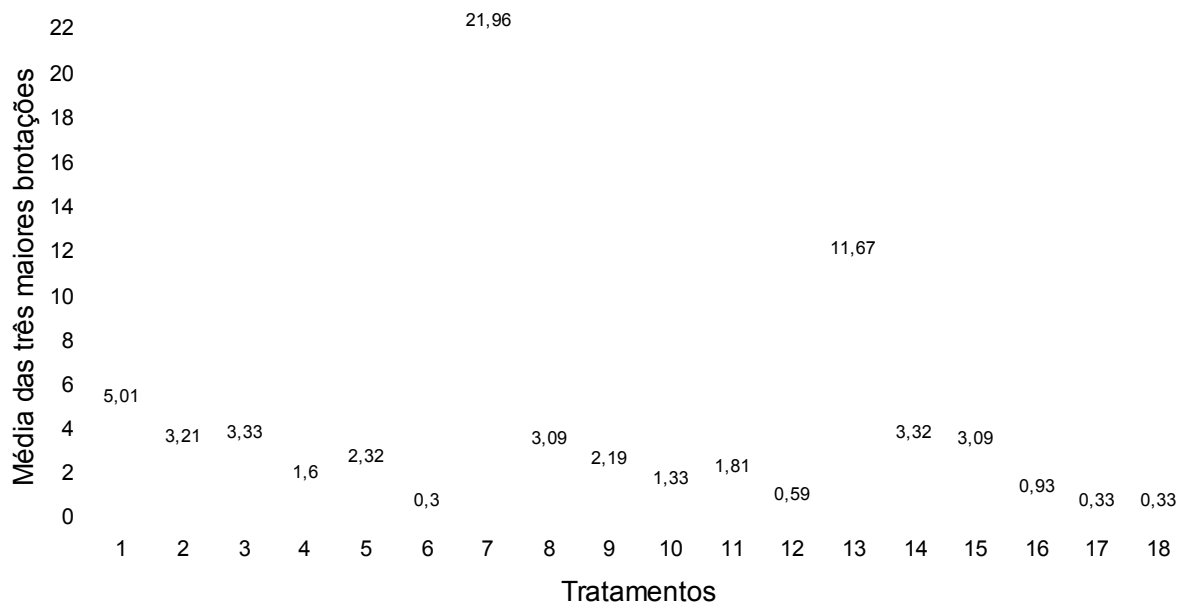


FIGURA 4. Comprimento médio das três maiores brotações.

## CONCLUSÃO

O melhor tratamento para indução de brotações foi a utilização de 1,0 mg L<sup>-1</sup> cinetina com média de 9,05 brotos por explante.

O melhor tratamento para comprimento de brotações foi a utilização de 0,5 mg L<sup>-1</sup> cinetina, seguido de 1,0 mg L<sup>-1</sup> cinetina, com 21,96 e 11,67 mm em média por broto.

O picloran teve efeitos negativos no comprimento das brotações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DOMBROSKI, J. L. D. Estudos sobre a propagação do pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.). 1997. 80 f. **Dissertação** (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Ed. Novos Talentos, 2002. 288p.

FRÁGUAS, C.B. Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira ‘Roxo-de-Valinhos’ e diferentes ambientes. 2003. **Dissertação (Mestrado)**- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

NICIOLI, P. M., Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] – Fabaceae. 2006 **Dissertação** (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

OLIVEIRA, S. S. Efeito de giberelina, fungicida, tratamentos mecânicos e período de armazenamento sobre a germinação de sementes de pequi. 2002. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2002.

PEREIRA, A. M. S.; BERTONI, B. W.; MORAES, R. M.; FRANCA, S. C. Micropropagation of *Salix humboldtiana* Hild. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 2, n. 2, p. 17-21, 2000

SANTOS, Breno Régis et al . Micropropagation of "pequizeiro" (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, 2006.

PALAVRAS-CHAVE: *Caryocar brasiliense*; organogênese; brotações; citocinina; auxina;

Apoio: CNPq

## **Efeito da fragmentação do rizoma na multiplicação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giul.**

Lima-Brito, Alone<sup>1</sup>; Vitória, Angela Pierre<sup>2</sup>; Velame, Marcos Paulo<sup>3</sup>; Nepomuceno, Cristina Ferreira<sup>4</sup>; Resende, Sheila Vitória<sup>5</sup>, Santana, José Raniere Ferreira de<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Caixa Postal 252-294, CEP 44031-460, Feira de Santana, Bahia, fone (75) 3625-2300, email: lima\_brito@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, CEP 28013-600, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, fone (22) 2726-1475, email: apvitoria@uenf.br; <sup>3</sup>Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: paulovelame@hotmail.com; <sup>4</sup> Bolsista DTI/CNPq/M - UEFS, email: nepomucenocf@yahoo.com.br; <sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UEFS, email: svresende@yahoo.com.br; <sup>6</sup>Professor da UEFS, email: raniere@uefs.br.

*Syngonanthus mucugensis* Giul. (Eriocaulaceae), conhecida como sempre viva de Mucugê, é uma espécie endêmica da Chapada Diamantina muito utilizada como ornamental. Sua coleta ocorre antes do amadurecimento das sementes, o que afeta sensivelmente a reprodução da espécie reduzindo as populações naturais. Apesar da importância econômica e da ameaça de extinção há poucas informações sobre métodos de propagação que possibilitem a utilização comercial. A multiplicação *in vitro* pode ser feita por organogênese direta a partir do explante rizoma inoculado em meio de cultura MS $\frac{1}{2}$  sem adição de regulador de crescimento. O objetivo deste trabalho foi comparar a capacidade de multiplicação de *S. mucugensis* por organogênese direta a partir de rizoma inteiro e rizoma dividido em dois fragmentos, uma vez que a fragmentação possibilita um maior contato do explante com o meio de cultura e conseqüentemente estimula a produção de brotos. O rizoma foi retirado de plantas estabelecidas *in vitro* com 180 dias de idade e inoculado em meio MS $\frac{1}{2}$  sem regulador, suplementado com 15g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6g.L<sup>-1</sup> de agar. Foram utilizados três tratamentos: (1) rizoma inteiro; (2) rizoma seccionado transversalmente; (3) rizoma seccionado longitudinalmente. Aos 60 dias da inoculação avaliou-se a porcentagem de explantes responsivos, o número de brotos por explantes e o comprimento dos brotos. Os brotos produzidos foram transferidos para novo meio de cultura (MS $\frac{1}{2}$ ) e após 30 dias foi analisada a porcentagem de sobrevivência das plantas. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com dez repetições de 4 amostras. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis explantes responsivos (37%), comprimento dos brotos (1,1mm) e sobrevivência dos brotos (51%). Com relação ao número de brotos por explantes, os melhores resultados foram obtidos nos rizomas seccionados longitudinalmente (32 brotos/explante), seguido dos rizomas seccionados transversalmente (25) e rizoma inteiro (17). Dessa forma sugere-se a fragmentação longitudinal para otimizar a multiplicação *in vitro* de *S. mucugensis* por organogênese direta.

### **PALAVRAS-CHAVE**

Eriocaulaceae; *Syngonanthus mucugensis*; sempre-viva; micropropagação.

---

Agradecimentos: FAPESB e Projeto Sempre-viva

## **Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de faveleira (*Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm).**

Rêgo, Maílson Monteiro<sup>1</sup>; Oliveira, Flávio José Vieira<sup>2</sup>; Rêgo, Elizanilda Ramalho<sup>1</sup>, Silva, Elizabeth de Brito<sup>3</sup>; Neves, José Achilles de Lima<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Professores do DF/DCFS/CCA/UFPB, Rodovia BR 079, Km 12, Campus Universitário II, 58.397-000, Areia, PB, e-mail: [mailson@cca.ufpb.br](mailto:mailson@cca.ufpb.br); <sup>2</sup>Doutorando do Programa de Agronomia do CCA/UFPB, [flfederal@yahoo.com.br](mailto:flfederal@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Estudantes do Curso de Ciências Biológicas do CCA/UFPB.

### INTRODUÇÃO

O potencial de várias espécies nativas da região semi-árida do Nordeste brasileiro há muito tempo é conhecido, como por exemplo, a faveleira a, aroeira, o angico, a baraúna, dentre outras, às quais não são convenientemente exploradas, sendo que essas espécies tem sido destruídas sistematicamente nos últimos anos. Existindo, portanto, a necessidade de estudos científicos dessas espécies para que as mesmas possam ser exploradas de forma racional, proporcionando sua fixação de maneira ordenada, bem como, a fixação do homem do sertão nordestino (Lima, 1989; Silva et al., 2000).

Dotada de grande resistência à seca, a faveleira (*Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm.) é uma planta rústica e de rápido crescimento, podendo ser usada para composição de reflorestamento destinados à recuperação de áreas degradadas. É uma planta seletiva higrófito, pioneira, exclusiva das matas xerófitas (caatinga) do nordeste brasileiro, onde ocorre com elevada frequência e irregular dispersão (Lorenzi, 1998).

As espécies lenhosas apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente se for utilizado material vegetal proveniente de plantas adultas, pois podem apresentar infestação interna ou externa por microrganismos. Por isso, a utilização de plântulas germinadas *in vitro*, em condições assépticas, torna-se mais vantajosa (SKIRVIN, 1981). Segundo Corder e Borges Junior (1999), vários fatores podem afetar o vigor germinativo das sementes e promover a formação de plântulas anormais ou sua morte, entre eles a dormência e a presença de microrganismos, sobretudo de fungos e bactérias. Por isso, os métodos de desinfestação devem ser eficazes, para que a plântula sirva de fonte de explante livre de fungos e bactérias.

A assepsia das sementes pode ser realizada através de substâncias como o etanol e compostos à base de cloro (hipoclorito de sódio ou de cálcio), além de outros, como ácido clorídrico, cloreto de mercúrio e cloreto de benzalcônio (HOFFMANN, et al., 1998). O objetivo deste trabalho foi verificar a germinação das sementes de Faveleira em meio de cultura, determinando a melhor concentração e o tempo de exposição destas ao agente desinfestante.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, em Areia, PB, no período de 05 de março a 25 de maio de 2005.

Para avaliar o efeito dos agentes desinfestantes, os tegumentos foram retirados e as sementes, foram embebidas em solução contendo hipoclorito de sódio nas concentrações de 0; 25; 50; e 75 (v/v) com Tween 20 (3 gotas/100 mL) nos tempos 5, 10, 15, 20 e 25 minutos de exposição a solução desinfestante. Após a desinfestação as sementes foram enxaguadas em água destilada, deionizada e autoclavada.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5 (níveis de hipoclorito de sódio x tempos de embebição), totalizando 25 tratamentos, com cinco repetições cada um. Foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de contaminação por fungos e bactérias, porcentagem de germinação e crescimento de plântulas germinadas *in vitro* (mm), até 80 dias após a inoculação.

Para avaliar o potencial de germinação, após a desinfestação as sementes foram colocadas em meio de cultura a ½ força, composto por sais básicos de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com o complexo vitamínico MS, 100 g.L<sup>-1</sup> de mioinositol, 3% (p/v) de sacarose e 0,7% (p/v) de ágar (Merck), sendo o pH ajustado em 5,7± 0,1, antes da autoclavagem. Foram vertidos 20 mL do meio de cultura antes da autoclavagem, em cada um dos frascos.

Após a inoculação das sementes, os frascos foram transferidos para sala de crescimento e mantidos no escuro à temperatura de 26 ± 2 °C até durante 80 dias. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância em nível de 5 % de significância e quando detectados significância, as médias das porcentagens de contaminação, germinação e comprimento médio de plântulas germinadas *in vitro* foram comparadas pelo teste de Duncan nesse mesmo nível de probabilidade. O experimento foi repetido duas vezes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A semente de faveleira apresenta tegumentos externos duros e por conseguinte uma resistência a germinação *in vitro*. Em experimento similar, realizado anteriormente sem a remoção dos tegumentos externos, houve germinação de apenas duas plantas, das 125 sementes inoculadas em meio MS ½ força, após um período de 30 dias (dados não mostrados).

Neste experimento, após a remoção dos tegumentos externos da semente foi possível avaliar a eficiência da solução de desinfestação utilizada em diferentes concentrações e tempos de exposição (Tabela 1). A análise de variância foi significativa apenas para as concentrações de hipoclorito de sódio. A interação entre os fatores concentrações de hipoclorito de sódio e tempo não foi significativa (dados não mostrados). Contudo, a comparação entre as médias dos tratamentos houve diferenças significativas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, para as três variáveis avaliadas (Tabela 1). Dos 20 tratamentos avaliados no experimento verificou-se que para as variáveis porcentagem de contaminação, porcentagem média de germinação e crescimento médio de plântulas em mm, o hipoclorito de sódio a uma concentração de 75% (v/v) foi o mais eficiente, não importando muito o tempo de exposição. Entretanto, dentre os tempos de exposição ao hipoclorito àquele de 10 minutos foi mais efetivo em relação a descontaminação, germinação e não diferiu estatisticamente em relação ao crescimento médio de plântulas, quando comparado aos demais tempos de exposição a solução desinfestante.

Foi possível também observar que a germinação das sementes de faveleira ocorre de modo assincrônico, mesmo removendo os tegumentos da semente (Figura 1). Talvez deva-se ao fato de que a faveleira seja uma planta de polinização cruzada e portanto, apresente alta heterozigidade.



Tabela 1. Comparação entre médias dos 20 tratamentos de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e diferentes tempos em relação a porcentagens de contaminação, germinação e crescimento médio das plântulas germinadas *in vitro* (mm) após 30 dias de inoculação.

Tratamentos		Variáveis Avaliadas			
Concentração Hipoclorito (v/v)	Tempo (minutos)	Contaminação (%)	Germinação (%)	Crescimento Médio das Plântulas (mm)	
T1	0%	5	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T2	0%	10	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T3	0%	15	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T4	0%	20	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T5	0%	25	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T6	25%	5	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T7	25%	10	80 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T8	25%	15	40 <sup>b</sup>	60 <sup>ab</sup>	5,02 <sup>bc</sup>
T9	25%	20	80 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T10	25%	25	80 <sup>a</sup>	20 <sup>c</sup>	0,56 <sup>c</sup>
T11	50%	5	40 <sup>b</sup>	20 <sup>c</sup>	0,54 <sup>c</sup>
T12	50%	10	20 <sup>bc</sup>	60 <sup>ab</sup>	8,48 <sup>abc</sup>
T13	50%	15	20 <sup>bc</sup>	40 <sup>bc</sup>	16,46 <sup>a</sup>
T14	50%	20	40 <sup>b</sup>	60 <sup>ab</sup>	1,8 <sup>bc</sup>
T15	50%	25	20 <sup>bc</sup>	60 <sup>ab</sup>	6,54 <sup>bc</sup>
T16	75%	5	20 <sup>bc</sup>	60 <sup>ab</sup>	10,86 <sup>ab</sup>
<b>T17</b>	<b>75%</b>	<b>10</b>	<b>00<sup>c</sup></b>	<b>80<sup>a</sup></b>	<b>7,56<sup>abc</sup></b>
T18	75%	15	20 <sup>bc</sup>	60 <sup>ab</sup>	6,82 <sup>bc</sup>
T19	75%	20	20 <sup>bc</sup>	40 <sup>bc</sup>	1,02 <sup>c</sup>
T20	75%	25	20 <sup>bc</sup>	20 <sup>c</sup>	8,64 <sup>abc</sup>

Médias seguidas da mesma letra não difere estatisticamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.



Figura 1. Sementes de faveleira (*Cnidoscopus phyllacanthus* Hoffm) em diferentes estádios de germinação 20 dias após a inoculação em meio MS 1/2 força e inoculados no escuro. Barra = 1 cm.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas conclui-se que após a remoção completa dos tegumentos externos das sementes de faveleira e desinfestação usando hipoclorito de sódio a 70% (v/v) por um período de embebição de 10 minutos é possível conseguir diminuir a nível zero de contaminação e atingir germinação da ordem de 80% e um comprimento de explante em torno de 10 cm após 30 dias de cultivo, fornecendo material suficiente para a micropropagação da espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CARVALHO, G.R.; CHALFUN, N.N.L.; RAMOS, J.D. Aplicações na propagação de plantas. Lavras, MG: UFLA/FAEPA, p. 50-55. 1998.

LORENZI, H. *Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm. In: **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. v.2, p.92.

SKIRVIN, R. M. Fruticulture crops. In: CONGER, B. V. **Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1981. p. 51-139.

SILVA, M. B. R.; SOUZA, M. W.; MELO, E. C. S.; PONTES, J. A.; SARAIVA, F. A. M.; CORREIA, A. M. Transpiração de três espécies nativas do semi-árido em condições de campo. **Atmosfera & Água**. n. 5, Maceió-AL. 2000. 52 p.

CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CARVALHO, G.R.; CHALFUN, N.N.L.; RAMOS, J.D. Aplicações na propagação de plantas. Lavras, MG: UFLA/FAEPA, p. 50-55. 1998.

LORENZI, H. *Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm. In: **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. v.2, p.92.

SKIRVIN, R. M. Fruticulture crops. In: CONGER, B. V. **Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1981. p. 51-139.

SILVA, M. B. R.; SOUZA, M. W.; MELO, E. C. S.; PONTES, J. A.; SARAIVA, F. A. M.; CORREIA, A. M. Transpiração de três espécies nativas do semi-árido em condições de campo. **Atmosfera & Água**. n. 5, Maceió-AL. 2000. 52 p.

## PALAVRAS-CHAVES

*Cnidoscopus phyllacanthus*; Cultivo *in vitro*; sementes.

## Meios de cultura, cinetina e GA<sub>3</sub> na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cv. Cherokee.

Soares, Joyce Dória Rodrigues<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>3</sup>; Rodrigues, Filipe Almendagna<sup>1</sup>; Assis, Franscinely Aparecida<sup>1</sup>; Vilela, Ximena Maira de Souza<sup>1</sup>; Souza, Aline das Graças<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, MG, e-mail: [joycerodrigues01@yahoo.com.br](mailto:joycerodrigues01@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Doutoranda em Fitotecnia (DAG), UFLA, Lavras, MG, e-mail: [fvilla2003@libero.it](mailto:fvilla2003@libero.it); <sup>3</sup>Professor Adjunto, DAG, UFLA, Lavras, MG, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>4</sup>Bióloga, UNILAVRAS, MG, e-mail: [alinedasgracas@yahoo.com.br](mailto:alinedasgracas@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A propagação da amoreira-preta dá-se principalmente por meio de estacas de raiz, rebentos e hastes novas. Embora alguns métodos tradicionais sejam comumente usados, a técnica de cultura de tecidos juntamente com o uso de reguladores de crescimento e meios adequados podem eventualmente tornar-se um método preferido de propagação (Caldas et al., 1998).

O crescimento e o desenvolvimento das plantas são controlados por substâncias orgânicas naturais denominadas fitormônios, os quais são sintetizados em pequenas concentrações e em determinadas regiões das plantas (Taiz & Zeiger, 1991). Esses também são produzidos artificialmente, sendo denominados reguladores de crescimento, dentre os quais podemos citar as citocininas e as giberelinas. O tipo de citocinina e sua concentração são os principais fatores que influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*.

Experimentos testando diversas combinações de citocinina com outros reguladores de crescimento são muito comuns para o ajustamento dos meios de cultura. Apesar da utilização de citocinina ser essencial à multiplicação da parte aérea, o seu excesso é tóxico e caracteriza-se, principalmente, por excessivo número de brotos, redução no tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento exagerado dos caules e vitrificação (aspecto vitrificado das folhas) (Leshen et al., 1998). O BAP tem sido muito eficiente na multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diversas espécies (Hu & Wang, 1983) e é a citocinina mais utilizada, entretanto, a cinetina tem apresentado resultados satisfatórios.

As giberelinas têm como um dos principais efeitos em cultura de tecidos o alongamento das brotações durante a multiplicação, ou antes, do enraizamento. Porém, quando aplicado em concentrações relativamente elevadas, o ácido giberélico impede a formação de raiz, especialmente se as auxinas forem aplicadas simultaneamente. De acordo com George (1996), o efeito do GA<sub>3</sub> na proliferação de brotações varia conforme a espécie empregada e a interação existente com outros reguladores de crescimento.

Os meios nutritivos utilizados na micropropagação fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). Embora o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) tenha favorecido o crescimento e desenvolvimento de várias espécies, a utilização de composições mais diluídas, como os meios Knudson (1946), White (1963) e B5 (Gamborg et al., 1968) têm fornecido melhores resultados (Brum, 2001).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a melhor concentração de cinetina, GA<sub>3</sub> e tipo de meio para a multiplicação *in vitro* de plantas de amoreira-preta.

### MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de amoreira-preta, cultivar Cherokee, com cerca de 2 cm e 2 gemas axilares, foram excisados de plantas pré-estabelecidas *in vitro*, em meio MS, sem

reguladores de crescimento. O atual trabalho foi composto por dois experimentos, sendo no primeiro os explantes inoculados em tubo de ensaio contendo 15 mL dos meios Knudson (1946), ½ Knudson, B5 (Gamborg et al., 1968) e White (1963) combinados com cinco concentrações de cinetina (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). O segundo experimento constou de explantes inoculados em tubo de ensaio contendo 15 mL de meio Knudson (1946), cinco concentrações de GA<sub>3</sub> (0; 2; 4; 6 e 8 mg L<sup>-1</sup>) combinadas com cinco concentrações de cinetina (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). Os meios tiveram o pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem e foram solidificados com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar (Merck®). Posteriormente os explantes foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1°C, irradiância de 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> fornecida por tubos fluorescentes de 20W, marca Osram®, luz do dia especial e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 60 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições constituídas de quatro tubos contendo um explante cada. As variáveis analisadas no primeiro experimento foram número de folhas, número de brotos, comprimento e peso da parte aérea, presença de raízes, peso fresco de calos e no segundo foram número de folhas, número de brotos, comprimento e peso da matéria aérea e presença de raízes. Os resultados foram submetidos à análise de variância com o software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo utilizado regressão polinomial para concentrações de cinetina e de GA<sub>3</sub> e teste de Scott-Knott (1974) para tipos de meio.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o experimento composto de diferentes tipos de meio e concentrações de cinetina; maior número de folhas foi verificada em meio B5, enquanto que, para as demais variáveis estudadas, ½ Knudson e Knudson não diferiram estatisticamente. Possivelmente, a baixa concentração de nutrientes resultante da redução de 50% da concentração padrão do meio Knudson não interfere no aumento no número de folhas, peso fresco e comprimento da parte aérea das plantas de amoreira-preta (Tabela 1).

Tabela 1. Número de folhas, comprimento e peso da matéria fresca de plantas de amoreira-preta 'Cherokee' em diferentes tipos de meio. UFLA, Lavras, MG.

Meio	Número de folhas	Peso da matéria fresca da parte aérea (g)	Comprimento da parte aérea (cm)
B5	8,71 a	0,76 a	2,02 a
½ Knudson	7,66 b	0,75 b	1,99 a
Knudson	7,19 b	0,74 b	2,04 a
White	4,42 c	0,73 c	1,61 b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).

Menores números de folhas, peso da matéria fresca e comprimento da matéria fresca foram observados no meio White. Esse meio, por ser mais diluído que os outros meios estudados, fornece menor quantidade de nutrientes essenciais ao desenvolvimento dos explantes e piores resultados. Com o aumento das concentrações de cinetina, o número de folhas aumentou, sendo o maior número de folhas (9,45) observado com 4,31 mg L<sup>-1</sup> do regulador de crescimento. A multiplicação de brotos ocorreu apenas nos tratamentos que continham cinetina associada aos meios B5 e Knudson. Houve pouca ou nenhuma formação do sistema radicular dos explantes inoculados no meio White.

Fráguas (2004) verificou a formação de raízes em explantes de *Ficus carica* L., inoculados em meio WPM, na ausência de cinetina. Maior número de brotos (1,75 e 1,44)

foi observado com 4 mg L<sup>-1</sup> de cinetina nos meios B5 e ½ Knudson, respectivamente. A utilização de 0,4 mg L<sup>-1</sup> de cinetina estimulou a formação de brotos e número de folhas por explante de *Embllica officinalis* (Misha et al, 1999).

Não foi observada interação significativa para peso da matéria fresca da parte aérea. Maior peso da matéria fresca (0,752 g) foi obtido com 4 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e melhores resultados em meio B5 (Tabela 1). Porém, com o aumento das concentrações deste regulador de crescimento houve decréscimo no peso da matéria fresca. É possível que essa redução no tamanho dos brotos seja devido ao efeito tóxico causado pelo excesso de citocinina nos explantes.

Maior comprimento da parte aérea (2,04 cm) foi verificado em meio Knudson (Tabela 1), sugerindo que a concentração do mesmo em relação aos outros meios testados é ideal para o crescimento e desenvolvimento da parte aérea de plantas de amoreira-preta cv. Cherokee. Para Nali et al. (2005), um dos fatores que interfere no desenvolvimento de uma plântula *in vitro* é o meio de cultivo utilizado.

A formação de calos ocorreu apenas em meio B5 nas diferentes concentrações de cinetina. Diferentes resultados foram obtidos por Jordan & Iturriaga (1980) que verificaram que a utilização da cinetina como único regulador de crescimento no meio de cultura MS diminuiu a formação de calos em *Ficus carica*. Possivelmente, a concentração de nutrientes presente no meio B5 associada a cinetina é suficiente para que calos se desenvolvam.

Para o segundo experimento, não foi observada interação significativa para número de folhas e peso da matéria fresca da parte aérea. O comprimento da parte aérea das plantas foi menor em função de maiores concentrações de cinetina. É possível que essa redução no tamanho dos brotos seja devido ao efeito tóxico causado pelo excesso de citocinina nos explantes.

Leshem et al. (1998) citam que apesar da utilização de citocinina ser necessária à multiplicação dos brotos, o seu excesso é tóxico e algumas características observadas são a falta de alongamento das culturas, redução no tamanho das folhas e encurtamento dos entrenós. Embora o número de folhas, número de brotos e peso da matéria fresca não foram significativos, a multiplicação de brotos ocorreu apenas nos tratamentos que continham cinetina na presença ou ausência de GA<sub>3</sub>. Houve formação do sistema radicular apenas nos tratamentos que não continham cinetina.

## CONCLUSÕES

Maior média de brotos foi verificada em meio de cultura B5. A multiplicação de brotos ocorreu apenas nos tratamentos que continham cinetina associada aos meios de cultura B5 e Knudson. Observou-se maior comprimento da parte aérea em meio Knudson. Houve pouca ou nenhuma formação do sistema radicular nos tratamentos que continham o meio White. Na ausência de cinetina houve crescimento da parte aérea. O sistema radicular foi formado apenas nos tratamentos que não continham cinetina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUM, G.R. **Micropropagação da figueira (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos'**. 2001. 41p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, MG.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P. & FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1998. v.1, p.87-132.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p.225-258.

FRÁGUAS, C.B.; PASQUAL, M.; PEREIRA, A.R. **Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.28, n.1, p.49-55, 2004.

GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, New York, v.50, p.151-158, 1968.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1 – The Technology**, 2 ed. Edington: Exegetics Limited, 1996. 1574 p.

HU, C.Y.; WANG, P.J. **Meristem, shoot tip and bud culture.** In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Ed.). Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding. New York: Macmillan, 1983. p.117-227.

JORDAN, M.; ITURRIAGA, L. Formación de raíces en entrenudos de higuera (*Ficus carica* L.) cv. Adriatic cultivados *in vitro*. **Ciencia Investigaciones Agrícolas**, Buenos Aires, v.7, n.2, p.149-151, 1980.

KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Bulletin**, v.14, n.214-217, 1946.

LESHEN, B.; WERKER, E.; SHALEV, D. P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, n.3, p.271-276, Sept. 1998.

MISHRA, M.; SAXENA, R. P.; PATHAK, R. K.; SRIVASTAVA, A. K. Studies on micropropagation of aonla (*Emblica officinalis* Gaertn). **Progressive Horticulture**, Chambattia, v.31, n.3/4, p.116-122, Dec. 1999.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

NALI, L.R.; ALMEIDA, W.A.B.; MELO, N.F. Propagação *in vitro* em videiras. **Magistra**, Cruz das Almas, v.17, n.2, p.96-100, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Auxins: Growth and Tropisms. In: \_\_\_\_\_. **Plant Physiology**. California: The Benjamin/ Cummings Publishing Company, 1991. p.398-424.

WHITE, P.R. **A handbook of plant tissue culture.** Lancaster : Jacques Cotteil Press, 1963. 345p.

PALAVRAS-CHAVE : *Rubus* spp. ; reguladores de crescimento, MS, Knudson, White.

## Micropropagação de *Aechmea fasciata* (Lindl.) Baker.

Olívia Silva Nepomuceno Santos<sup>1</sup>; Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>2</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduandos em Engenharia Agrônômica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA. CEP: 44380-000; olivianapomuceno@yahoo.com.br; hilosouza@gmail.com <sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, CP 007. Cruz das Almas, BA. CEP: 44380-000. fernanda@cpmf.embrapa.br

A *Aechmea fasciata* (Lindl.) Baker. é uma planta herbácea perene, epífita, rizomatosa, folhagem e florescimento vistoso, de 30-40 cm de altura, nativa do Brasil. Sua inflorescência é geralmente não ramificada, de haste ereta, densa, muito durável, com brácteas róseas semelhantes a folhas, com flores azuis nas axilas. A importância econômica da família Bromeliaceae pauta-se principalmente no seu uso como planta ornamental e por não serem, na maioria das vezes cultivadas, o extrativismo de seus ambientes naturais tem se intensificado nos últimos anos. A micropropagação é uma estratégia para produção de mudas em larga escala e que, além de solucionar o problema das baixas taxas de multiplicação das bromeliáceas, pode minimizar os efeitos do extrativismo predatório pela oferta de mudas no mercado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta e o desenvolvimento *in vitro* de plantas de *Aechmea fasciata*, em um meio de cultura rotineiramente utilizado para a micropropagação de híbridos de abacaxi a fim de padronizar o preparo de meio para esses materiais. Sementes maduras foram desinfestadas e cultivadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com adição de 3% de sacarose, 0,7% de ágar e pH ajustado em 5,8. Após 30 dias de cultivo aproximadamente 100% das sementes já haviam germinado gerando plântulas normais. Essas plântulas foram utilizadas como explante para os ensaios de multiplicação no meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina), 0,2 mg L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético), e pH ajustado em 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos. Para a determinação das taxas de multiplicação procedeu-se à contagem do número de brotos aos 60, 90 e 120 dias de cultivo. O enraizamento dos brotos foi feito em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7,0 g L<sup>-1</sup> de ágar, sem qualquer regulador de crescimento. Não se verificou contaminação bacteriana ou fungica em nenhum subcultivo. O meio de cultura avaliado promoveu uma elevada taxa de multiplicação nos subcultivos iniciais, observado-se, no entanto uma queda nas médias de plantas obtidas por explante, ao longo dos subcultivos. O enraizamento das plantas foi lento, ainda que todas as plantas apresentaram raízes. Os resultados sugerem a necessidade de adequações nos meios de cultura para otimizar, tanto o processo de multiplicação, quanto o de rizogênese.

### PALAVRAS-CHAVES

*Aechmea* sp.; produção de mudas; conservação de germoplasma.

## **Efeito da individualização de nós de segmentos caulinares estiolados de *Ananas comosus* na proliferação de brotos *in vitro*.**

Leite, Nadjima Souza<sup>1</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>2</sup>; Souza, Roberto Rodrigues<sup>3</sup>; Copati, Luiz Augusto Souza<sup>4</sup>; Santos, Micaele da Costa<sup>1</sup>; Léo, Ana da Silva<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Bolsista do Deagro/Universidade Federal de Sergipe (UFS, São Cristóvão, SE, fone (79)32191144, e-mail: [nadjma@cpatc.embrapa.br](mailto:nadjma@cpatc.embrapa.br); micacostal@hotmail.com; <sup>2</sup>Pesquisadora do Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, CP 44, CEP 49025-040, Aracaju, SE, fone (79)40091362, e-mail: sarah@cpatc.embrapa.com.br; <sup>3</sup>Professor da UFS, fone (79)32126929, e-mail: rrsouza@ufs.br; <sup>4</sup>e-mail: luizcopati@uol.com.br, fone (61)33831832; <sup>5</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: analedo@cpatc.embrapa.br

A produção de mudas de novas cultivares disponibilizadas por programas de melhoramento é um dos fatores limitantes à implantação de pomares comerciais devido ao tempo que estas levam para serem formadas. Esta pesquisa teve como objetivo estudar os procedimentos mais adequados para aumentar a eficiência da propagação por estiolamento e proliferação de brotos *in vitro* do abacaxi Imperial utilizando brotos estiolados e subdivididos em secções com apenas um nó. Foram utilizadas brotações estioladas *in vitro* que, em condições assépticas, após serem retiradas as raízes e o meristema apical foram subdivididas em secções de 1 -1,5 cm com apenas um nó e colocadas em placas de Petri contendo 25 ml de meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962) gelificado com 6 mg.L<sup>-1</sup> de agar, pH a 5,8 e autoclavado por 15 minutos a 120°C. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de 35 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2°C. O delineamento experimental foi inteiramente, em esquema fatorial 4 x 4 com cinco repetições, sendo cada repetição constituída de 3 secções e um nó/secção. Foram avaliadas quatro concentrações (0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup>) de ácido naftaleno acético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) combinadas entre si. Aos 60 dias após inoculação foi avaliado o número de nós que apresentavam proliferação gemas e brotos. Após a última avaliação procedeu-se à avaliação do número de brotos desenvolvidos por nó individualizado. Quando se utilizou ANA 0,0 + BAP 0,5 mg.L<sup>-1</sup> e ANA 0,0 + BAP 2,0 mg.L<sup>-1</sup> o número médio de brotos obtidos em cada nó foi significativamente superior aos demais tratamentos (3,2; 2;7, respectivamente). Nestes tratamentos não se observou variação significativa no número médio de folhas por broto (4,2). Os tratamentos ANA 0,0 + BAP 1,0 mg.L<sup>-1</sup>; ANA 0,5 + BAP 0,5 mg.L<sup>-1</sup> e ANA 0,5 + BAP 1,0 mg.L<sup>-1</sup>; não diferiram entre si, alcançando, respectivamente, 1,4; 1,6; 1,3 e 1,2 brotos por nó. Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a individualização dos nós não influencia a indução e proliferação de brotos quando comparados a resultados obtidos por outros autores usando a técnica de multiplicação por segmentos nodais estiolados.

**PALAVRAS-CHAVES:** abacaxizeiro; multiplicação rápida; estiolamento *in vitro*



**<sup>1</sup>Avaliação da fidelidade genética de propágulos micropropagados de abacaxizeiro-ornamental [*Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindley) Coppens & Leal] utilizando marcadores moleculares tipo RAPD.**

Santos, Maria do Desterro Mendes dos<sup>1</sup>; Torres, Antonio Carlos<sup>2</sup>; Buso, Gláucia Sales Cartopassi<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UNB), Caixa Postal 218, CEP 70919-970 Brasília, DF, fone (61) 3307-2828, email: [maria@cnph.embrapa.br](mailto:maria@cnph.embrapa.br); <sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Hortaliças, Br060 Km 09, caixa postal 218, CEP 70359-970, Brasília, DF, fone (61) 3385-9079, email: [torres@cnph.embrapa.br](mailto:torres@cnph.embrapa.br); <sup>3</sup>Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P 2372, CEP 70849-970 Brasília, DF, e-mail:[buso@cenargen.embrapa.br](mailto:buso@cenargen.embrapa.br).

O *Ananas comosus* var. *bracteatus*, é uma espécie com grande potencial ornamental, que vem sendo cultivada, no Brasil. Considerando a importância econômica dessa espécie para flor de corte, o seu cultivo *in vitro* vem sendo bastante utilizado para a produção de mudas em larga escala. Entretanto, a produção massal *in vitro*, com vários ciclos de subcultivos, pode ocasionar o aparecimento de variantes somaclonais. Uma das formas de avaliar o nível de mutações no material produzido é mediante a análise genética por meio de marcadores moleculares. O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade genética do material micropropagado utilizando marcador genético do tipo RAPD. O DNA foi extraído de folhas jovens de propágulos, desenvolvidos *in vitro*. As reações de amplificação do DNA foram feitas por PCR ("Polymerase Chain Reaction"). Cada 13 µl de reação continha: 3,0 µl de DNA genômico a 3,0 ng/µl; 4,92 µl de água milli-Q autoclavada; 1,30 µl de tampão 10X para Taq DNA polimerase; 1,04 µl de dNTPs 2,5 mM; 1,5 µl de primer (Operon Technologies, USA) 10 ng/µl e 0,2 µl de enzima Taq DNA polimerase. Foi testado o conjunto de 22 primers operon. Cada reação foi realizada em um termociclador Parkin Elmer, programado para 40 ciclos de: 1 min. a 92°C, 1 min. a 35°C, 2 min. a 75°C. Aos produtos das reações foram adicionados 3µl de tampão de carregamento. Após eletroforese em géis de agarose a 1,5%, os fragmentos foram visualizados, com marcadores 1000pb nos poços adjacentes às amostras já carregadas. As análises de RAPD foram feitas após 150 dias de subcultivo, em um total de 96 propágulos (clones) de abacaxizeiro-ornamental, oriundo da cultura *in vitro* de gemas laterais de muda tipo rebentão. Até o presente foram utilizados 22 primers, os quais produziram 296 amplicons. Desses, 32 foram polimórficos para esses propágulos. Os amplicons restantes foram monomórficos nos propágulos avaliados. A análise desses resultados demonstrou que a técnica de RAPD pode ser usada para determinar a qualidade genética em plantas micropropagadas de abacaxizeiro-ornamental, as quais não diferem morfológicamente da planta mãe.

**PALAVRAS-CHAVES**

*Ananas comosus* var. *bracteatus*; cultivo *in vitro*; RAPD; variação somaclonal.

---

<sup>1</sup> Agradecemos ao CNPq as bolsas concedidas

## Indução de calos em explantes foliares de cagaiteira com 2,4-D e BAP em meio líquido

Martinotto, Cristiano<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Souza, Humberto Dias<sup>3</sup>; Masetto, Tathiana Elisa<sup>4</sup>; Vargas, Daiane Peixoto<sup>5</sup>; Santos, Breno Régis<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Prof. Dr. DBI-UFLA e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Estagiário Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, e-mail: [betoadulterado@ig.com.br](mailto:betoadulterado@ig.com.br); <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal (UFLA), e-mail: [tmasetto@gmail.com](mailto:tmasetto@gmail.com). <sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com); <sup>6</sup>Doutor em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [brenors@yahoo.com.br](mailto:brenors@yahoo.com.br)

### INTRODUÇÃO

A cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.), também conhecida como cagaita devido às suas propriedades laxativas, é uma árvore frutífera nativa natural do Cerrado. Possui altura mediana, atingindo de 4 a 10 m, tronco tortuoso e cilíndrico com 20 a 40 cm de diâmetro e uma casca suberosa e fendada bem característica. A cagaiteira apresenta um grande potencial como planta frutífera, destaca-se das demais por apresentar uma produtividade elevada, chegando a 2.000 frutos por árvore.

Sua polpa de sabor doce levemente ácido é excelente para a produção de sorvetes, geléias, doces e licores (Almeida et al., 1987) e os frutos, ainda imaturos, podem ser utilizados como forragem para o gado (Donadio et al., 2002; Ribeiro et al., 1986). De sua polpa também são obtidos vinagre e álcool (Corrêa, 1984). Apresenta madeira pesada de boa qualidade. Suas folhas apresentam propriedades antidiarréica e utilizadas para problemas do coração. Costa et al. (2000) verificaram elevada atividade antifúngica no óleo hidrolisado de suas folhas. Devido ao seu florescimento abundante é considerada ainda como paisagística (Ribeiro et al., 1994; Gavilanes et al., 1991) e melífera (Brandão & Ferreira, 1991). Quanto a sua propagação por via sexuada, apresenta elevada variabilidade e certo grau de dormência (Rizzini, 1971). Andrade et al. (2003) verificaram que suas sementes apresentam recalcitrância, onde perdiam completamente a viabilidade quando eram dessecadas abaixo de 18 % de teor de água.

Técnicas de propagação vegetativa massal, como o cultivo *in vitro*, podem superar problemas de dormência e recalcitrância da espécie, produzindo mudas uniformes de qualidade e em larga escala. Dentre estas técnicas temos a propagação a partir da indução de calos (calogênese). Por meio da calogênese, pode-se obter a propagação massal de espécies que apresentem dificuldade de multiplicação por via sexuada, podendo ser empregada também na produção de metabólitos secundários, sendo ainda essencial em métodos de transformação genética de plantas. Calos são definidos como aglomerados de células parenquimáticas não organizadas, irregularmente diferenciadas, que se multiplicam desordenadamente e se desenvolvem em resposta a injúrias químicas ou físicas. No entanto, os calos podem se diferenciar em tecidos e órgãos (Torres et al., 1998).

O presente trabalho teve por objetivo a indução de calos de explantes foliares de cagaiteira em meio líquido utilizando BAP e 2,4-D.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em maio de 2006 no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizados explantes foliares de plântulas germinadas em areia em sala de crescimento sob fotoperíodo de 12 horas. Os explantes foram excisados e deixados em água corrente por 3 horas sendo após agitados em água com detergente neutro e submetidas a desinfestação em capela de fluxo laminar com álcool 70% por 30 segundos seguido do hipoclorito de sódio a 1% de cloro ativo por 10 minutos. Decorrido o tempo em hipoclorito, os explantes foram enxaguados três vezes em água destilada e autoclavada.

Após a desinfestação, foram riscadas como bisturi e inoculadas em frascos contendo 40 mL de meio WPM líquido com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 50 mg L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico e pH aferido para 5,8 previamente autoclavado por 20 minutos à 120° C. Os frascos após a inoculação foram

mantidos sob agitação constante em shaker a 90 rpm a temperatura de 27 °C. A incubação foi realizada sob fotoperíodo de 12h.

Os tratamentos consistiram em diversas concentrações de 2,4-D (0; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 mg L<sup>-1</sup>) e BAP (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 mg L<sup>-1</sup>) combinadas conforme Tabela 1. Foram feitos 4 repetições por tratamento e os dados foram avaliados pelo software estatístico R empregando o teste de Kruskal-Wallis a 1% de probabilidade.

TABELA 1. Tratamentos utilizados no experimento.

TRAT	2,4-D	BAP	TRAT	2,4-D	BAP
1	0	0	13	0,5	0
2	0	0,5	14	0,5	0,5
3	0	1,0	15	0,5	1
4	0	2,0	16	0,5	2
5	0,125	0	17	1,0	0
6	0,125	0,5	18	1,0	0,5
7	0,125	1,0	19	1,0	1
8	0,125	2,0	20	1,0	2
9	0,25	0	21	2,0	0
10	0,25	0,5	22	2,0	0,5
11	0,25	1,0	23	2,0	1
12	0,25	2,0	24	2,0	2

A avaliação foi realizada aos 45 dias após a inoculação, por meio de escores de 1 a 5 dadas à formação de calos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o resultado do teste estatístico não-paramétrico Kruskal-Wallis (Tabela 2), houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo o tratamento 22 (2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP) o que apresentou uma maior média de escores na avaliação.

TABELA 2. Análise não-paramétrica pelo teste de Kruskal-Wallis

Chi-squared	df	p-value
77.258	23	8.774e-08

Resultados idênticos foram obtidos por Oliveira et al. (2001), onde o melhor resultado de indução de calos em segmentos radiculares de copaiba (*Copaifera* sp.) foi com a utilização de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Também trabalhando com copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), Azevedo (2003) somente obteve calogênese utilizando 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP em meio MS na presença de luz.

Observa-se na Figura 2 que o escore=1 equivale a não indução de calos, enquanto que o escore=5 equivale à máxima formação de calos no experimento.

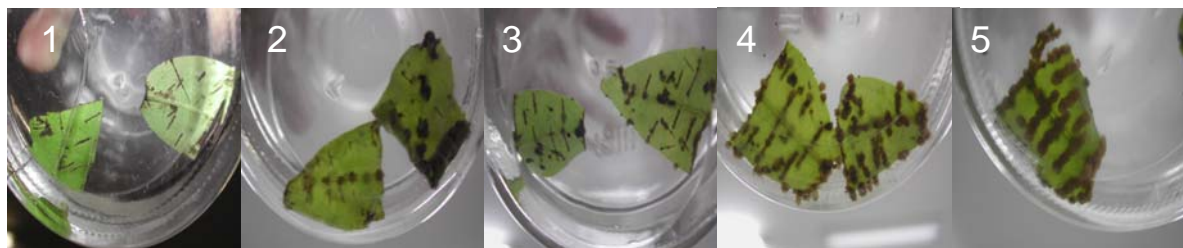


FIGURA 2. Aspecto dos calos obtidos e respectivos escores em escala crescente de nota.

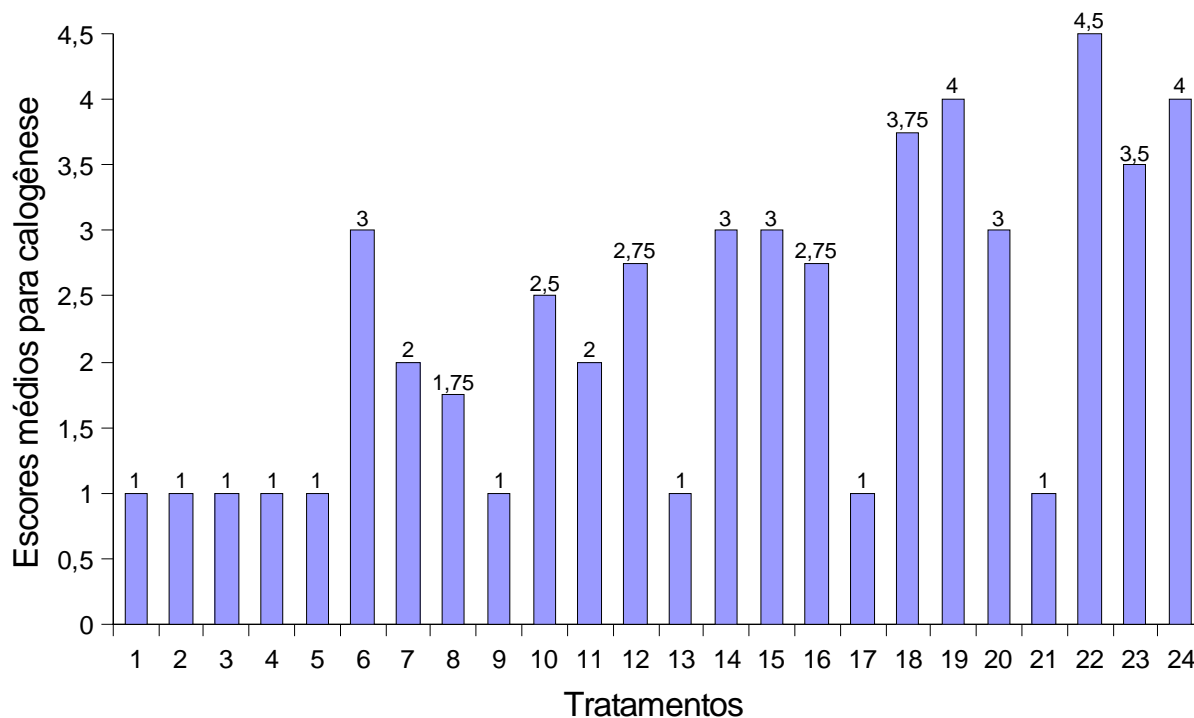


FIGURA 3. Escores médios para indução de calos em meio líquido.

De acordo com os escores médios apresentados no Figura 3, não foram obtidos calos (escore 1) em tratamentos onde não havia 2,4-D ou BAP, ou na ausência de ambos (Tratamento 1), ou seja, a interação dos dois reguladores foi essencial no processo de calogênese em explantes foliares de cagaiteira em meio líquido.

#### CONCLUSÃO

O 2,4-D e BAP são essenciais para indução de calos em explantes foliares de cagaiteira em meio líquido.

A melhor concentração de reguladores para a indução de calos foi  $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de 2,4-D +  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. A.; RIBEIRO, J. F. Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos cerrados: araticum, baru, cagaíta e jatobá. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1987. 83p. (**Documentos, 26**).

ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savannah tree, *Eugenia dysenterica* DC. , **Seed Science & Technology**, Zurich, 31, n. 1, 125-137, 2003.

AZEVEDO, K. de S. Indução e análises bioquímicas de calo e aspectos da anatomia foliar de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.). 2003. 86 p. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

BRANDÃO, M.; FERREIRA, P. B. D. Flora apícola do cerrado. **Informe Agropecuário**, Belo

Horizonte, v. 15, n. 168, p. 7-14, 1991.

CORRÊA, M. P. Dicionário de plantas Úteis do Brasil e das Exóticas **cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura-IBDF, 1984. v. I-VI.

DONADIO, L. C. **Frutas brasileiras Jaboticabal**: Novos Talentos 2002.

COSTA T. R.; FERNANDES O. F. L.; SANTOS S. C.; OLIVEIRA C. M. A.; LIÃO L. M.; FERRI P. H.; PAULA J. R.; FERREIRA H. D.; SALES B. H. N.; SILVA M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *Journal of Ethnopharmacology*, Oxford, v. 72, n. 1/2 p. 111-117, Sept. 2000

OLIVEIRA, G. M. R.; VIEIRA, I. M. S. ; BARBOSA, W. C.; SERRA, A. G. P.; SOUZA, D. M. G.; MORAES, M. Indução de calogênese em segmentos radiculares de copaíba (*Copaifera* sp). **In**: IV Encontro Latino Americano de Biotecnologia Vegetal (Resumo Expandido)

RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L.; ALMEIDA, S. P. et al. Espécies arbóreas de usos múltiplos da região do cerrado: caracterização botânica, uso potencial e reprodução. **Anais**, Porto Velho: Colombo, 1994. p. 335-355. (EMBRAPA-CNPF. Documentos, 27).

RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L.; MELO, J. T. et al. Propagação de fruteiras nativas do cerrado. **In**: PINTO, A. C. Q. (coord. ). Produção de mudas frutíferas sob condições do ecossistema de cerrados. Planaltina: EMBRAPAC/PAC. 1996. p. 55-80. (Documentos, 62).

RIZZINI, C. T. Aspectos ecológicos da regeneração em algumas plantas do Cerrado. **In**: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 3., 1971, São Paulo, SP. Anais... São Paulo: Edgard Blucher, 1971. p. 61-64.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; FERREIRA, A. T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. **In**: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 11-20.

Palavras-Chave: *Eugenia dysenterica*, calogênese, *in vitro*, escores, Cerrado.

Apoio: CNPq

## Brassinosteróide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro

Catunda, P.H.A<sup>1</sup>; Marinho, C.S<sup>1</sup>; Gomes, M.M.A<sup>2</sup>; Zullo, M.A.T<sup>3</sup>; Carvalho, A.J.C<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>UENF/ Campos dos Goytacazes-RJ, catunda@uenf.br; marinho@uenf.br; <sup>2</sup>FAETEC/  
Campos dos Goytacazes-RJ, <sup>3</sup> IAC

A otimização do processo de aclimatização envolve suprimento adequado de nutrientes, uso de substratos adequados, utilização de substâncias reguladoras de crescimento, controle do ambiente de cultivo, entre outros cuidados. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de um brassinosteróide (BIOBRÁS -16) e do uso de dois substratos sobre o crescimento e estado nutricional de mudas micropropagadas do abacaxizeiro 'Imperial'. O experimento foi conduzido em DBC, em esquema fatorial 2 x 5 x 5, no qual foram avaliados dois tipos de substratos (plantmax® e bagaço-de-cana+torta de filtro (BT)), cinco doses do BIOBRÁS - 16 (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1 mg L<sup>-1</sup>) e quatro épocas de amostragem (60, 90, 120 e 150 dias após plantio). Foram utilizadas 6 repetições sendo a parcela constituída por duas plântulas. As plântulas após cultivo in vitro foram transplantadas para tubetes cônicos e colocadas em casa de vegetação equipada com nebulizadores intermitentes. Foi observada interação entre as concentrações do BIOBRÁS - 16, os substratos e as épocas de amostragem. Aos 150 dias após plantio as plantas cultivadas no substrato composto por bagaço de cana e torta de filtro (BT) e pulverizadas com a concentração de 0,1 g L<sup>-1</sup> do BIOBRÁS - 16 apresentaram maior crescimento da parte aérea com maior número de folhas, diâmetro de roseta, largura de folha, massa fresca e massa seca. Nas plantas cultivadas no substrato BT as pulverizações com o BIOBRÁS - 16 na concentração de 0,1 g L<sup>-1</sup> proporcionaram acúmulo de matéria seca 2,8 vezes superior ao valor da testemunha cultivada no substrato plantmax®. A massa fresca e seca de raízes foram superiores no substrato plantmax® em relação ao BT, nas últimas épocas de amostragem.

Palavras chave: *Ananas comosus*, substratos, regulador de crescimento, BIOBRÁS - 16

## Estabelecimento *in vitro* de boldo-de-jardim (*Plectranthus ornatus*, Lamiaceae).

Passinho-Soares, Helna Célia<sup>1,3</sup>; Meira, Paloma Ribeiro<sup>2</sup>; David, Jucení Pereira de Lima<sup>3</sup>; David, Jorge Mauricio<sup>4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC-UEFS), caixa postal 252-294, CEP: 44031-460, email: helna@ufba.br; <sup>2</sup>IC/Bolsista AT3 FAPESB, Faculdade de Farmácia UFBA, Campus Universitário de Ondina, email: lubmel@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Professora da Faculdade de Farmácia da UFBA, Av. Barão de Geremoabo s/n Campus Universitário de Ondina, Salvador Bahia e-mail: juceni@ufba.br ; <sup>4</sup>Professor da Faculdade de Química da UFBA, email:jmdavi@ufba.Br; <sup>5</sup> Professor do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, email: raniere@uefs.br

### INTRODUÇÃO

O gênero *Plectranthus* L Her. pertencente à família Lamiaceae, subfamília Nepetoideae, possui cerca de 300 espécies e inumeráveis híbridos pertencentes ao mesmo. Essas espécies encontram-se distribuídas por regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, Austrália e Ilhas do Pacífico. Algumas espécies de *Plectranthus* têm importância econômica por serem fontes de óleos essenciais aromáticos, sendo também cultivados como plantas ornamentais, comestíveis, condimentares e medicinais. No Brasil, as espécies medicinais do gênero *Plectranthus* são citadas em levantamentos etnobotânico sobre plantas medicinais (Alcântara, 2005) e são conhecidas popularmente como, boldo, boldo-de-jardim, boldo-do-Brasil, boldo-falso, dentre outras sinônimas. São utilizadas na medicina popular como antidiarréica, anti-reumática, carminativa, colagoga, colerética, estomáquica, hiposecretora gástrica, hipotensora, tônica, analgésica, dentre outras indicações (Fischman, 1991 ; Câmara, 1998; Câmara, 2003; Shultze, 2005).

A eficácia e segurança de muitas plantas medicinais já foram comprovadas cientificamente, o que valida esse recurso como terapêutico benéfico e indispensável para a humanidade (Tyler, 1994). Entretanto, existem problemas de vários níveis que limitam o seu uso, entre eles pode-se citar o fato de que algumas espécies sintetizam os metabólitos secundários em concentrações muito baixas o que exige processos de extração dispendiosos e elaboração de formulações farmacêuticas complexas; outras espécies apresentam enorme variabilidade genética com alterações quantitativas e qualitativas nos metabólitos secundários o que dificulta a obtenção de droga padronizada; existe ainda o fato de que as plantas muitas vezes estão sob forte pressão antrópica, expostas a erosão genética e redução drástica de populações endêmicas o que dificulta a utilização em escala comercial.

O estudo da micropropagação de espécies utilizadas na medicina popular tem sido intensificado nos últimos anos, devido ao crescente investimento em pesquisas para a descoberta de novos fármacos. Desse modo, a utilização de técnicas biotecnológicas em plantas, tais como, micropropagação, cultura de células e tecidos vegetais, pode resolver ou minimizar alguns dos problemas relacionados acima e visam também o aumento e o direcionamento da propagação de plantas medicinais e produção de metabólitos secundários que tenham relevância do ponto de vista terapêutico e que por algum tipo de impedimento não podem ser produzidos por síntese (Debnath, 2006, Zhang, 2007; Zhao, 2005).

A utilização de substâncias reguladoras de crescimento apresenta importância fundamental para o estabelecimento da competência e determinação, imprescindíveis para a formação de meristemas caulinares e/ou radiculares (Kerbaui, 1999). Os reguladores de crescimento exercem sua ação por reconhecimento de receptores específicos, presentes em células responsivas, traduzindo sinais hormonais em eventos bioquímicos e fisiológicos (Guerra et al., 1999).

O presente trabalho teve por objetivo promover o estabelecimento *in vitro* de *Plectranthus ornatus* Codd.

## METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

Os explantes foram obtidos a partir de segmentos nodais e internodais, excisados de brotações jovens, provenientes de plantas matrizes com 6 meses de idade, mantidas em canteiro.

A desinfestação foi realizada através da lavagem inicial das folhas em água corrente por 60 minutos. A seguir, em câmara de fluxo laminar, as folhas foram imersas inicialmente em álcool 70% (v/v) por 1 minuto e em solução de hipoclorito de sódio (2,0% de cloro ativo) acrescida de 3 gotas de detergente neutro por 15 minutos. Em seguida, os segmentos foram lavados (3 vezes) em água destilada e estéril.

Os explantes com cerca de 1,5 cm de comprimento foram inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 3% de sacarose, 0,7% de ágar e diferentes combinações entre 6-Benzilaminopurina – BAP (1; 2; 4 mg.L<sup>-1</sup>) e ácido naftalenoacético – ANA (0; 1; 2; 4 mg.L<sup>-1</sup>). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7 ± 0,1, utilizando-se KOH ou HCl 0,1N, antes da autoclavagem.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, a temperatura de 25 ± 3°C, sob fotoperíodo de 16 horas, com umidade relativa de 60% e radiação fotossintética ativa de 30 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

Após 60 dias da inoculação, foram avaliadas as seguintes variáveis: presença de calos no ápice e na base do explante, número de raiz, número de brotos e número de folhas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x4 (BAP x ANA) com 4 repetições por tratamento, sendo cada repetição formada por 10 tubos. Os dados foram avaliados estatisticamente, mediante a análise de variância testando-se as médias pelo teste de Tukey. Os dados de percentagens foram transformados em arco-seno  $\sqrt{\%}$  e os números de contagem, em  $\sqrt{x+1}$ . Os dados foram analisados usando o programa SISVAR, v 4.3, desenvolvido pela UFLA (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram que a calogênese e a formação de brotos e raízes em *Plectranthus ornatus* é influenciada pelo balanço entre os reguladores de crescimento BAP e ANA.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos sobre a formação de calos na base do explante. Foi obtido até 100% de explantes responsivos para esse parâmetro na presença de 2 ou 4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e ausência de ANA, o que indica que não é necessária a adição de auxina para a indução de calogênese na base do explante em *P. ornatus*. Esses resultados diferem dos encontrados por Silva et al (2003) em carqueja, nessa espécie a presença de auxina em combinação com citocinina é essencial para a formação de calos.

Com relação a calogênese no ápice do explante, houve interação significativa entre os tratamentos utilizados. Para este parâmetro não houve diferença entre as concentrações de ANA, no entanto em meios sem ANA ou com 1 mg.L de ANA os melhores resultados foram obtidos com a utilização de 2 mg.L de BAP diferindo significativamente da concentração 4 mg.L, o que indica que balanços auxina/citocinina favoráveis à auxina são benéficos para a formação de calo no ápice do explante da espécie em estudo.

Foram observadas interações entre os tratamentos para as variáveis enraizamento, número de brotos por explante e número de folhas por broto.

Os melhores resultados para o enraizamento foram obtidos em meio com 4 mg.L de BAP e ausência de ANA (67,5%).



TABELA 1- Valores médios para presença de calos na base do explante (CB), presença de calos no ápice do explante (CA), presença de raiz (R), número de brotos (NB) e número de folhas (NF) em *Plectranthus ornatus* em função de diferentes concentrações de BAP e ANA.

ANA (mg.L <sup>-1</sup> )	BAP (mg.L <sup>-1</sup> )					
	1,0		2,0		4,0	
	Médias originais	Médias transformadas	Médias originais	Médias transformadas	Médias originais	Médias transformadas
<u>Calos na base do explante</u>						
0,0	90,8	77,2a A <sup>z</sup>	100,0	90,0aA	100,0	90,0aA
1,0	100,0	90,0aA	96,4	84,2aA	87,5	78,7aA
2,0	100,0	90,0aA	100,0	90,0aA	100,0	90,0aA
4,0	100,0	90,0aA	93,7	82,5aA	100,0	90,0aA
<u>Calos no ápice do explante</u>						
0,0	30,8	32,2abA	41,5	40,6aA	12,5	11,2bA
1,0	33,3	31,9abA	50,0	45,0aA	8,3	8,7bA
2,0	50,0	44,9aA	25,0	26,2aA	34,8	36,0aA
4,0	32,0	34,5aA	31,2	37,5aA	13,7	18,7aA
<u>Presença de Raiz</u>						
0,0	12,5	14,8bB	3,1	5,0bA	75,0	67,5aA
1,0	24,9	26,2abAB	0,0	0,0bA	41,6	36,2aB
2,0	13,3	15,4aB	0,0	0,0bA	0,0	0,0aC
4,0	50,0	50,2aA	0,2	0,0bA	10,2	16,0bBC
<u>Número de brotos</u>						
0,0	1,4	1,5aAB	1,8	1,6aA	2,2	1,7aAB
1,0	1,3	1,5aB	1,3	1,5aA	3,1	2,0aA
2,0	3,1	1,9aA	0,9	1,3bA	1,0	1,4bB
4,0	0,8	1,3aB	0,9	1,3aA	1,2	1,4aB
<u>Número de folhas</u>						
0,0	5,2	2,4bA	7,1	2,8bA	12,3	3,6aB
1,0	3,8	2,1bA	5,4	2,5bAB	22,0	4,7aA
2,0	6,8	2,7aA	2,7	1,8bBC	3,9	2,2abC
4,0	3,3	2,0aA	0,5	1,1aC	3,4	2,1aC

<sup>z</sup> - Médias seguidas pela mesma letra minúscula em cada linha e pela mesma letra maiúscula em cada coluna não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Obteve-se uma média de 0,9 a 2,0 brotos de *P. ornatus* nos tratamentos utilizados. As maiores médias foram obtidas em meios suplementados com 4 de BAP na ausência ou presença de 1mg.L de ANA.

Os melhores resultados observados para número de folhas foram obtidos com 4 mg.L de BAP na presença de 1 mg.L de BAP.

## REFERÊNCIAS

- CÂMARA, C.C., Estudos farmacológicos e metabólicos do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de *Plectranthus barbatus* Benth. (malva-santa). Fortaleza: UFC, CCS, DFF, 1998 (Dissertação de Mestrado em Farmacologia).
- CÂMARA, Carlos C; NASCIMENTO, Nilberto R; MACEDO-FILHO, Carlos L; ALMEIDA, Fábio B; FONTELES, Manasses C. Antipasmotic effect of the essential oil of *Plectranthus barbatus* and some major constituents on the guinea-pig ileum. **Planta Medica** 69(12), 1080-5 2003.
- DEBNATH M, MALIK CP, BISEN PS. Micropropagation: A tool for the production of high quality plant-based medicines. **Current Pharmaceutical Biotechnology** 7(1): 33-49, 2006.
- FISCHMAN, L.A., SKORUPA, L.A., SOUCCAR, C., LAPA, A.J., The water extract of *Coleus barbatus* Benth decreases gastric secretion in rats. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 86 (Supl 02), 141-3, 1991.
- SHULTZE, Carla. Mecanismo celular da ação anti-secretora ácida gástrica de frações isoladas de *Plectranthus barbatus* (Andr.) Benth, São Paulo, USP, EPM, PR-PGP, 2002 (Dissertação de Mestrado em Farmacologia).
- TYLER, V.E. **Herbs of choice**. New York: Haworth, 1994.
- ZHANG, CH; FEVEREIRO, PS. The effect of heat shock on paclitaxel production in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures: Role of abscisic acid pretreatment. **Biotechnology and Bioengineering** 96(3): 506-514, 2007.
- ZHAO, J.; DAVIS, L.C.; VERPOORTE, ROBERT. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances** 23:283-333, 2005.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In...**45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria**. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.
- GUERRA, M. P.; TORRES, A C.; TEIXEIRA, J. G. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, v. 2, p. 533-568. 1999.
- KERBAUY, G. B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1999. v. 2, p. 519-531.
- PALAVRAS-CHAVES:  
*Plectranthus ornatus*, Lamiaceae; organogênese

## Indução de calos *in vitro* em diferentes explantes de sisal (*Agave sisalana* Perrine)<sup>1</sup>.

Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,2</sup>; Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,4</sup>; Lyra, Camila dos Santos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>2</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sanqueiroz@ig.com.br](mailto:sanqueiroz@ig.com.br); <sup>3</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup> Prof. Dr. – Depto Biologia - UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

O sisal dá origem à principal fibra dura produzida no mundo, contribuindo com mais da metade da produção comercial de todas as fibras desse tipo. Sua exploração, no Brasil, concentra-se, no Nordeste, geralmente em áreas onde as condições de clima e solo são pouco favoráveis ou de escassas alternativas para a exploração de outras culturas que ofereçam resultados econômicos satisfatórios (EMBRAPA, 2003).

O sisal é propagado vegetativamente e de forma lenta, por bulbilhos e por rebentões. Os bulbilhos são produzidos no escapo floral, após a queda das flores, enquanto os rebentões se originam de rizomas subterrâneos emitidos pela planta –mãe (Silva *et al.*, 1999).

Devido a grande importância econômica desta espécie e da grande demanda de mudas, há necessidade de se acelerar o processo de propagação. Assim, a propagação *in vitro* utilizando bulbilhos como material vegetal pode ser uma técnica viável para o cultivo do sisal.

Estudos realizados na Índia demonstraram que plantas de *A. sisalana* podem ser propagadas *in vitro* com sucesso, tanto via embriogênese somática quanto via organogênese (Nikan, 1997; Hazra *et al.*, 2002a, Hazra *et al.*, 2002b).

O objetivo deste trabalho foi verificar qual melhor tipo de explante na indução de calos em sisal.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

Utilizou-se como material vegetal, bulbilhos de sisal estabelecidos *in vitro* de acordo com Queiroz *et al.* (2006). Utilizou-se três tipos de explantes: bases dos bulbilhos; folhas e raízes (Figura 1).

Empregou-se o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, solidificado com ágar (6,5 g/L), suplementado com sacarose (3%), com ANA (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L) e CIN (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L) sozinhos e em todas as combinações possíveis totalizando 20 tratamentos. O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos). Distribui-se 15 mL de meio de cultura em tubos de ensaio (150 x 25mm).

Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3°C, sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de 15 µmol.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas - frias.

O delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4 x 5 (Explante x ANA x CIN), com 5 repetições, cada uma formada de 4 tubos.

Aos 60 dias avaliou-se a porcentagem de explantes com calos (%CA).

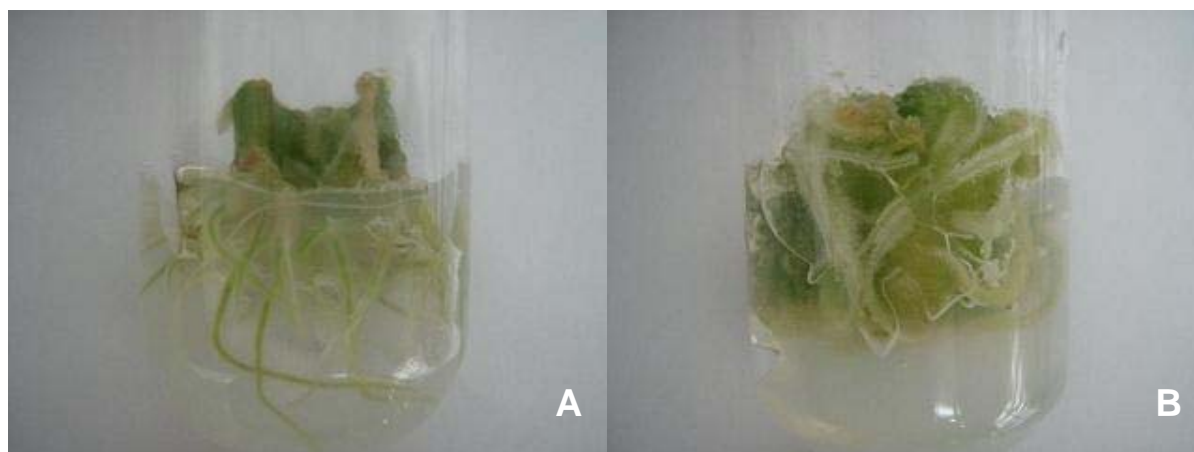
Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software Sisvar (Ferreira, 2003). Os dados de porcentagens foram transformados em  $\arcsin \sqrt{\frac{X}{100}}$ .



**Figura 1.** Diferentes tipos de explantes de sisal. A – base; B – folha e C – raiz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto o explante base como folha apresentaram excelentes respostas para calogênese. Os calos em geral tinham uma coloração verde clara e aspecto friável. Nas folhas houve grande formação de raízes (Figura 2), o que, segundo alguns autores não é desejável, pois prejudica a posterior regeneração da parte aérea (Scowcroft & Adamson, 1976; Mroginski & Kartha, 1981; Meijer & Broughton, 1981). Já os explantes raízes, apresentaram uma pequena porcentagem de calos e os mesmos escureceram rapidamente. Calos rizogênicos em sisal também foram observados por Nikam *et al.* (2003).



**Figura 2.** Folhas de bulbilhos de sisal. A e B – Indução de rizogênese.

Observou-se para dupla interação entre os explantes e ANA que tanto para base quanto para folha não houve diferenças entre as concentrações sendo que em média obteve-se mais de 70% de calos nesses explantes. Não houve indução de calos na ausência do regulador (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de porcentagem de calos para a dupla interação entre tipos de explantes e concentrações de ANA.

Explantes	Concentrações de ANA (mg/L)			
	0	0,25	0,5	1
Base	0,00bA	70,67aA	72,00aA	73,33aA
Folha	0,00bA	78,67aA	72,00aA	73,33aA
Raiz	0,00aA	12,00aB	8,10aB	8,00aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha, e maiúscula na mesma coluna para cada tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey.

Analisando-se os resultados obtidos para a tripla interação (CIN x ANA x EXP) verificou-se que independente das concentrações de ANA, os melhores resultados para o explante base, foram obtidos na concentração de 0,5mg/L de CIN, sendo que os valores variaram entre 80 e 100% de formação de calos e para o explante folha na concentração de 1,5 mg/L de CIN, os valores ficaram entre 93,33 e 100% (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios obtidos para a variável porcentagem de calos para a interação tripla entre os tratamentos: tipos de explante dentro de CIN e ANA em explantes de sisal.

CIN	ANA	EXPLANTES		
		BASE	FOLHA	RAIZ
0	0	0,00a	0,00 a	0,00 a
0	0,25	53,33b	86,67a	13,33c
0	0,5	60,00a	60,00a	6,67b
0	1,0	86,67a	86,67a	13,33b
0,25	0	0,00a	0,00a	0,00a
0,25	0,25	80,00a	60,00a	0,00b
0,25	0,5	53,33a	26,67a	35,71a
0,25	1,0	60,00a	40,00a	6,67b
0,5	0	0,00a	0,00a	0,00a
0,5	0,25	86,67a	73,33a	13,33b
0,5	0,5	80,00a	100,00a	0,00b
0,5	1,0	100,00a	80,00a	13,33b
1,0	0	0,00a	0,00a	0,00a
1,0	0,25	80,00a	80,00a	33,00b
1,0	0,5	80,00a	73,33a	0,00b
1,0	1,0	40,00b	66,67a	0,00b
1,5	0	0,00a	0,00a	0,00a
1,5	0,25	53,33b	93,33a	0,00c
1,5	0,5	86,67a	100,0a	0,00b
1,5	1,0	80,00a	93,33a	6,67b

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey.

Binh *et al.* (1990), estudando espécies de Agave, verificaram uma intensidade mínima na indução de calos, quando utilizaram os hormônios CIN e ANA. Já em nosso estudo observou-se que a presença de ANA e CIN se faz necessária para a indução de calos em explantes de bulbilhos de sisal. Verificou-se também que as concentrações de cinetina utilizadas não inibiram a formação de raízes nos explantes (Dados não mostrados).

A melhor média para indução de calos dentro dos tratamentos de CIN associados ao ANA foi obtida na concentração de ANA (1mg/L) + CIN (0,5 mg/L). Resultados semelhantes foram encontrados por Nikam *et al.* (2003), que induziram calos dos bulbilhos de sisal em meio MS suplementado com ANA (0,25 – 1mg/L) + CIN (1 - 2 mg/L).

## CONCLUSÃO

Para a obtenção de calos em sisal faz-se necessário o uso de reguladores de crescimento;

Segmentos da base de bulbilhos de sisal apresentaram maior formação de calos que segmento foliar e radicular, sendo considerados como ótimos explantes para a indução de calos em *Agave sisalana*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BINH, L. T.; MUOI, L. T.; OANH, T. D.; THANG & PHONG, T. D. Rapid propagation of agaves *in vitro* tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* Vol. 23, 1990.

EMBRAPA. Informações gerais sobre o sisal. Disponível em: <<http://www.cnpa, Embrapa.br/>> Acesso em: 13 de outubro de 2003.

FERREIRA, D. F. **SisVar – Versão 4.3**. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Sisal plant regeneration via organogenesis. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, 70, n. 3, p. 235-240, dez., 2002a.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Plant regeneration via somatic embryogenesis in *Agave sisalana* Perr. Ex Engelm. **Phytomorphology**, v. 70, n. 2-3, p. 217-222, 2002b.

MEIJER, E.G.M.; BROUGHTON, W.J. Regeneration of whole plants from hypocotyl-, root-, and leaf-derived tissue cultures of the pasture legume *Stylosanthes guyanensis*. **Physiologia Plantarum**, 52 (2), p. 280-284, 1981.

MROGINSKI, L. A.; KARTHA, K. K. Regeneration of pea (*Pisum sativum* L. Cv. Century) plants by in vitro culture of immature leaflets. **Plant Cell Reports**, v.1, n. 2. p. 64-66, 1981.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, 15: 473-497, 1962.

NIKAM, T. D. High frequency shoot regeneration *Agave sisalana*. **Plant Cell Tissue and Organ culture**. Dordrecht, v. 51, n.3, p. 225-228, nov., 1997.

NIKAM, T. D.; BANSUDE, G. M.; ANEESH KUMAR, K. C. Somatic embryogenesis in sisal (*Agave sisalana* Perr. Ex. Engelm). **Plant Cell Report**. New York, v.22, n.3, p.188-194, out., 2003.

QUEIROZ, S. R. O. D.; RIOS, A. P. S. ; OSUNA, J. T. A.; SANTANA, J. R. F. Estabelecimento *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Perrine) I. Controle da contaminação e da oxidação. **Magistra**, V. 18, n. 3, Julho/Set, p. 130-139, 2006.

SCOWCROFT, W. R.; ADANSON, J. A. Organogenesis from callus cultures of the legume *Stylosanthes hamata*. **Plant Science Letters**, 7, 39-42, 1976.

SILVA, O. R. R. F.; CARVALHO, O. S.; RAMOS, E. S. B. Cultivo do Sisal no Nordeste. In: SILVA, O. R. R. F; BETRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Sisal no Brasil**. Brasília, EMBRAPA-SPI; Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999, p. 53-92.

PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per.; Calogênese; Rizogênese.

Agradecimentos: FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).

## Enraizamento de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti.

Nepomuceno, Cristina Ferreira<sup>1</sup>; Silva, Tecla dos Santos<sup>2</sup>; Fonseca, Priscila Tavares<sup>2</sup>; Lima Brito, Alone<sup>3</sup>; Santana, José Raniere Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, MSc. em Botânica, Bolsista DTI/CNPq/M (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal, Avenida Presidente Dutra, S/N, Santa Mônica, CEP: 44055-000, email: nepomucenocf@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, email: teclabio@yahoo.com.br, priscilauefs@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da UEFS, email: lima\_brito@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Biológicas, email: raniere@uefs.br.

*Syngonanthus mucugensis* é uma espécie ornamental com grande potencial econômico, devido à arquitetura de suas inflorescências e por estas apresentarem grande durabilidade mesmo depois de coletadas. O processo de enraizamento constitui uma etapa crucial para a aclimatização *S. mucugensis*, uma vez que a espécie apresenta sistema radicular deficiente impossibilitando o sucesso desta etapa. Este trabalho teve como objetivo otimizar a produção e melhorar a qualidade das raízes no cultivo *in vitro*, visando o sucesso da aclimatização. Plantas previamente estabelecidas *in vitro*, apresentando cerca de 1,5 cm de comprimento, com enraizamento irregular, tiveram suas raízes cortadas e foram submetidas a tratamento de indução radicular. As plantas foram inoculadas individualmente em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS $\frac{1}{2}$  (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 3% de sacarose, diferentes concentrações de AIB (0,0; 1,23; 2,46; 4,9  $\mu$ M) e solidificado com 0,6% de ágar. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16 horas, com umidade relativa de 60% e radiação fotossintética ativa de  $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 4 (planta com e sem raízes x concentrações de AIB), com dez repetições e cada repetição constou de três tubos. Aos cento e vinte dias da inoculação foram analisadas as seguintes variáveis: comprimento da maior raiz (mm), número de raízes formadas e matéria seca das raízes (mg). A maior média (18,76) para o número de raízes formadas foi na presença de 4,9  $\mu$ M de AIB em plantas com as raízes cortadas, ocorrendo o mesmo para o comprimento da raiz (20,52 mm) e para a matéria seca das raízes (16,63 mg). Estes resultados indicam que a concentração 4,9  $\mu$ M de AIB favorece o incremento das raízes em *Syngonanthus mucugensis*.

### PALAVRAS-CHAVES:

*Syngonanthus mucugensis*; Eriocaulaceae; enraizamento; ácidoindolbutírico



## Relação entre o conteúdo relativo de água, densidade estomática e formação de cera epicuticular em folhas de plantas micropropagadas de bananeira.<sup>1</sup>

Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>; Castro, Evaristo Mauro de<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Pio, Leila Aparecida<sup>2</sup>; Costa, Larissa Correa do Bomfim<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970, Rio Branco, AC.

### INTRODUÇÃO

No processo de micropropagação, a realização de uma fase de aclimatização *ex vitro* logo após a remoção das plantas dos recipientes de cultivo tem sido considerada imprescindível para o pleno sucesso desta técnica. Isso porque durante este período de adaptação, as anormalidades morfológicas e/ou fisiológicas induzidas durante o crescimento *in vitro* são parcialmente ou completamente corrigidas.

Entre as alterações geralmente observadas, a falta ou reduzida produção de cera epicuticular em associação com a baixa regulação estomática são os principais fatores reportados como responsáveis pela alta mortalidade das plantas micropropagadas, já que possuem importante papel regulatório sobre a excessiva transpiração das plantas (Cappelades et al., 1990; Romano & Martins-Loução, 2003). Diante desse contexto e devido aos poucos estudos a esse respeito, objetivou-se avaliar as respostas de diferentes tipos de folhas quanto à perda de água e sua relação com os estômatos e formação de cera epicuticular em plantas de bananeira micropropagadas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi constituído de plantas micropropagadas de bananeira 'Preciosa' (AAAB) (5,26 cm), originadas do enraizamento/alongamento *in vitro* de brotações axilares em basal de MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, com pH 5.8. As culturas foram mantidas em frascos de 250 mL, selados com filme transparente e expostos à 25±2 °C e 16 horas de irradiância (42 W.m<sup>-2</sup>), fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial), por 24 dias.

Os tratamentos consistiram de seis tipos de folhas: T1) folhas de plantas *in vitro* ao final da fase de enraizamento; T2) folhas persistentes de plantas com um mês de aclimatização; T3) novas folhas formadas *ex vitro* de plantas com um mês de aclimatização (folhas de transição); T4) folhas de transição submetidas a mais 30 dias de aclimatização; T5) novas folhas de plantas com 60 dias de aclimatização e T6) folhas de plantas com 120 dias de aclimatização. Para pleno controle das folhas dos tratamentos (T2) e (T4) efetuou-se marcação com fitilho de cores distintas. Quanto a aclimatização, as plantas foram inicialmente removidas dos frascos, submetidas à lavagem de suas raízes e transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos pela mistura de terra:Plantmax<sup>®</sup> HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples e, posteriormente mantidas sob condições de casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns), sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente. Já as plantas do último tratamento (T6) foram transferidas para casa de vegetação desprovida de sombreamento, após 60 dias, sendo irrigadas manualmente.

A avaliação do conteúdo relativo de água (RCW) foi realizada pela exposição das plantas as condições de laboratório (cerca de 63% de umidade relativa). Em intervalos de 10 minutos, durante 240 minutos, doze plantas de cada tratamento foram pesadas, em balança de alta precisão. Posteriormente, a massa seca das plantas foi determinada por secagem

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



em estufa (50°C) e o RCW para cada tempo foi estimado por:  $RCW (\%) = [(FW_t - DW) / (FW_s - DW)] \times 100$ , sendo  $FW_t$  a massa fresca ao tempo  $t$ ,  $FW_s$  a massa fresca inicial (tempo 0) e  $DW$  a massa seca (Romano & Martins-Loução, 2003). Já a avaliação da densidade estomática das faces *abaxial* e *adaxial* foi conduzida em microscópio Olympus CBB (objetiva de 40X), com auxílio de câmara clara, em quatro campos de seções paradérmicas da região do terço médio de cinco folhas/tratamento, num total de 20 observações/tratamento, sendo cada repetição representada pela média de quatro observações. As seções paradérmicas foram obtidas à mão livre de folhas completamente expandidas (segunda folha direção ápice-base), previamente fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) (Johansen 1940) por 72 horas e conservadas em álcool etílico 70% (v/v). Quanto à preparação, as seções foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio (50% v/v), seguida de lavagem em água destilada, coloração com safranina 1% e montagem em água glicerínada.

Para as observações de microscopia eletrônica de varredura, segmentos foliares excisados do terço médio de folhas recém coletadas foram inicialmente montados em suportes de alumínio *stubs* com fita de carbono e, em seguida transferidos para dessecador. Posteriormente, as amostras foram cobertas com ouro no evaporador Balzers SCD 050 para observação em microscópio LEO EVO 40 sob 20Kv e distância de trabalho de 16 mm. Para o experimento de anatomia utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 repetições, enquanto o ensaio do RCW foi instalado em parcelas subdivididas no tempo, em DIC, com seis repetições (média de duas folhas). A análise dos dados foi feita com o software Sisvar (Ferreira, 2000) por meio de regressão e teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maiores densidades estomáticas de ambas as faces da epiderme foram observadas em folhas de plantas ao final do enraizamento *in vitro* (T1) e folhas persistentes (T2), que embora não tenham diferido entre si, foram superiores as folhas formadas *ex vitro* (T3, T4, T5 e T6) ( $P < 0,05$ ). Resultados que estão em concordância com trabalhos realizados anteriormente, nos quais elevada densidade estomática é relatada para folhas formadas em ambiente *in vitro* comparada as folhas desenvolvidas na aclimatização ou em campo, o que é atribuído, principalmente, a elevada umidade relativa do ar no interior dos frascos e baixa irradiância (Capellades et al., 1990; Sandoval et al., 1994; Sciutti & Morini, 1995).

**Tabela 1.** Densidade estomática (nº de estômatos.mm<sup>-2</sup>) das faces *abaxial* e *adaxial* em diferentes folhas de bananeira micropropagadas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

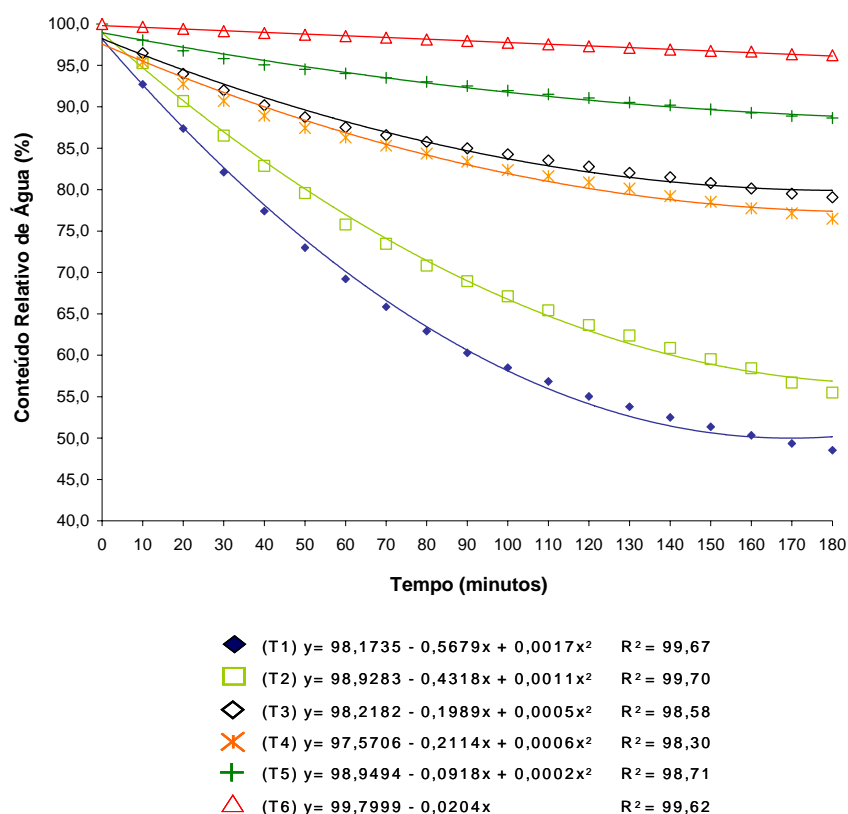
Tratamentos	Epiderme abaxial	Epiderme adaxial
T1	102,12 a	28,68 a
T2	97,68 a	32,56 a
T3	82,88 b	17,02 b
T4	87,32 b	19,98 b
T5	72,52 b	14,06 b
T6	86,58 b	19,98 b
C.V. (%)	13,79	33,17

Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade. (C.V.=coeficiente de variação).

Os resultados para o conteúdo relativo de água demonstraram uma considerável influência dos diferentes tipos de folhas. De fato, acetuanda perda de água com o tempo de exposição às condições de laboratório foi observada em folhas oriundas da fase final de enraizamento *in vitro* (T1) e folhas persistentes (T2) ( $P < 0,05$ ) quando comparadas aos tratamentos 3 e 4 e, estes em relação as folhas provenientes de plantas com 60 (T5) e 120 dias (T6) de aclimatização (Figura 1) ( $P < 0,05$ ), o que é confirmado quando se observam os valores médios do RCW, que foram de 65,64% e 72,29% (T1 e T2), 86,31% e 84,67% (T3 e T4), 92,90% (T5) e 97,97% (T6) (dados não mostrados). É provável que, uma maior funcionalidade e menor densidade dos estômatos das folhas desenvolvidas *ex vitro* associada à formação de cera epicuticular, observada principalmente na face *abaxial* (Figura

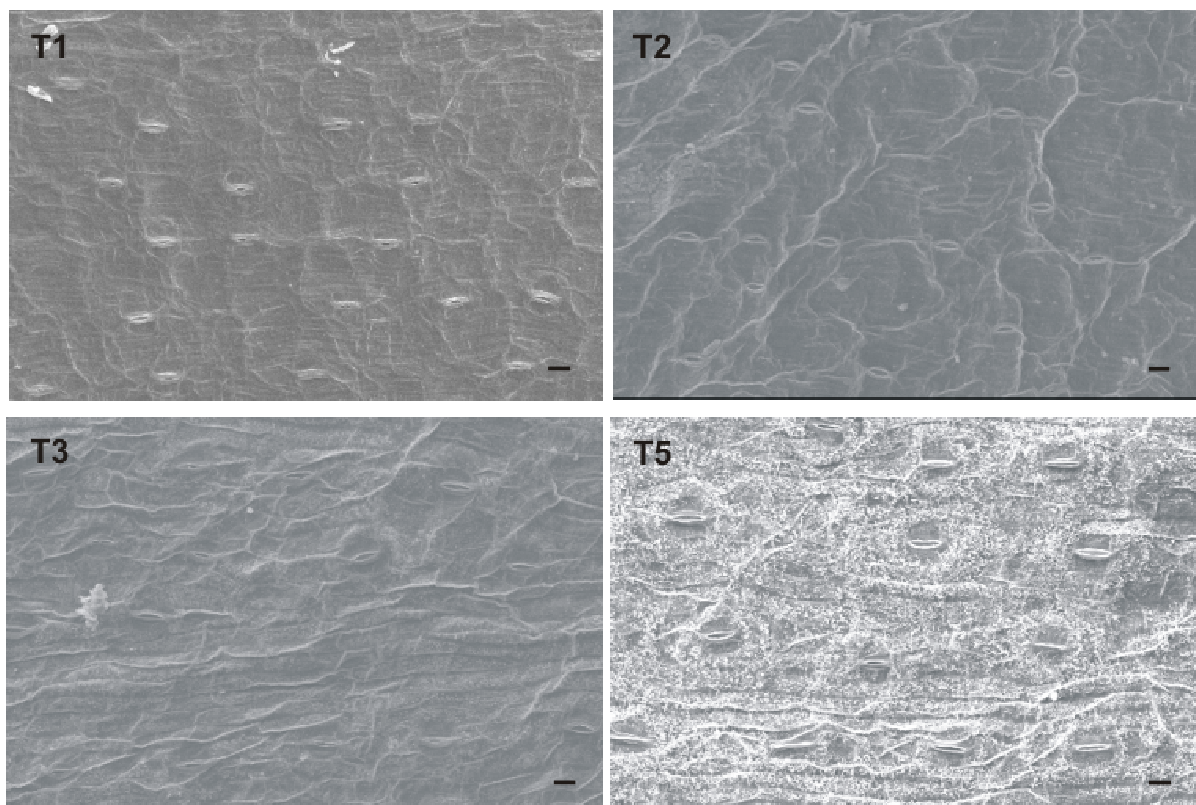
2), expliquem as reduzidas dessecações registradas (maior RCW) nos tratamentos T3 e T4 e, mais ainda no T5 e T6, durante os momentos iniciais após a retirada das plantas dos recipientes de cultivo, fato que é notável nas curvas referentes a cada tratamento (Figura 1). As observações por microscopia eletrônica (Figura 2) demonstraram ausência de cera epicuticular em folhas *in vitro* e persistentes (T1 e T2), enquanto que folhas formadas *ex vitro* (T3) mostraram formação de cera, fato mais evidente com a aclimatização (T5), concordando em parte com Sandoval et al. (1994), que evidenciaram apenas pouca quantidade de cera epicuticular em folhas de bananeira 'Grande Naine' *in vitro*, diferentemente das novas folhas formadas *ex vitro*, sobre as quais a camada de cera se tornou gradualmente espessa e melhor distribuída. Observações realizadas por Sciutti & Morini (1995) reportam a formação de cera epicuticular e falta de regulação estomática como causas da excessiva perda de água em plantas *in vitro*, neste caso com ameixeira.

Reduzido RCW em tecidos foliares de plantas *in vitro* foi observada por Romano & Martins-Loução (2003) durante a aclimatização de carvalho, com perda de água em torno de 53% nos primeiros 30 minutos, enquanto que as novas folhas após um mês de aclimatização perderam somente 14%, comparada a 29% de folhas velhas de plantas com um mês de aclimatização (folhas persistentes). Em adição, foi ainda observado que, ao final do período de desidratação, folhas oriundas do cultivo *in vitro* apresentaram estômatos abertos e colapso das células-guarda, fato não verificado em folhas de plantas aclimatizadas, pois estas se encontravam com os estômatos fechados, indicando funcionalidade dos mesmos.



**Figura 1.** Conteúdo relativo de água (CRW) em diferentes folhas de bananeira micropropagadas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Os resultados aqui obtidos fornecem pelo menos algumas características capazes de explicar o comportamento observado pela súbita exposição *ex vitro* das plantas cultivadas *in vitro* em ambiente heterotrófico, tais como a rápida dessecação e senescência foliar, reduzido crescimento nos primeiros dias após a transferência e conseqüentemente obtenção de perdas.



**Figura 2.** Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura mostrando a formação de cera epicuticular na face abaxial de diferentes folhas de bananeira micropropagadas. Escala da barra: 20  $\mu$ m (600X). UFLA, Lavras, MG, 2007.

## CONCLUSÃO

A redução na densidade estomática e o incremento na formação de cera epicuticular em novas folhas formadas *ex vitro* possuem efeito regulatório sobre a excessiva perda de água das plantas micropropagadas de bananeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAPELLADES, M.; FONTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosamultiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 1, p. 141-145, Jan. 1990.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA;DEX, 2000. Software.
- JOHANSEN, B. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- ROMANO, A.; MARTINS-LOUÇÃO, M.A. Water loss and morphological modifications in leaves during acclimatization of Cork Oak micropropagated plantlets. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 616, p. 439-442, 2003.
- SANDOVAL, J. A.; MÜLLER, L. E.; WEBERLING, F. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field-grown plants. **Fruits**, Paris, v. 49, n. 1, p. 37-46, Jan./Feb. 1994.
- SCIUTTI, R.; MORINI, S. Water loss and photosynthesis of plum plantlets is influenced by relative humidity during rooting *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.10, n.2, p.221-228, 1995.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; cultivo heterotrófico; perda de água; anatomia; cerosidade.

## Efeito do pH no meio de cultura líquido e sólido em cultivos de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti.

Nepomuceno, Cristina Ferreira<sup>1</sup>; Silva, Tecla dos Santos<sup>2</sup>; Fonseca, Priscila Tavares<sup>2</sup>; Santana, José Raniere Ferreira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, MSc. em Botânica, Bolsista DTI/CNPq/M (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal, Avenida Presidente Dutra, Bairro Santa Mônica, S/N, CEP: 44055-000 email: nepomucenocf@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, email: teclabio@yahoo.com.br, priscilauefs@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Biológicas, email: raniere@uefs.br.

### INTRODUÇÃO

*S. mucugensis* é conhecida popularmente como sempre-viva, devido à aparência das flores, as quais permanecem com aspecto vivo durante muito tempo após terem sido coletadas, por isso possuem grande interesse ornamental e alto valor econômico.

Muitas espécies ocorrem nas regiões montanhosas da Venezuela e do Brasil, onde o centro de diversidade genética situa-se na Cadeia do Espinhaço, entre os Estados de Minas Gerais e Bahia (Giulietti et al., 1998; Scatena et al., 2004), de onde são extraídas indiscriminadamente as flores das espécies de maior importância econômica em decorrência do declínio de atividades mineradoras, afetando de forma significativa o ciclo reprodutivo dessas espécies e sua disponibilidade em campo. Essas áreas possuem baixos índices de capacidade suporte e uma flora com diversos mecanismos de resistência, adaptada à vida em situações extremas, principalmente com relação ao déficit hídrico (Joly, 1970).

Dentre as técnicas de culturas de tecidos, a micropropagação apresenta vantagens para a obtenção de um grande número de plantas saudáveis e de alta qualidade em pequeno espaço físico e em curto tempo, independentemente de fatores climáticos limitantes. Alguns fatores no cultivo *in vitro* precisam ser ajustados para que possam proporcionar as melhores condições para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Entre esses fatores encontra-se o pH do meio de cultura, que pode ter efeitos diretos ou indiretos, portanto é necessário adequá-lo de forma a manter as condições favoráveis aos cultivos. Segundo Caldas et al. (1998) valores mais baixos dificultam a utilização do amônio, enquanto valores mais altos diminuem a utilização do nitrato. Durante o crescimento das células, o pH do meio se altera à medida que diferentes íons são absorvidos pelas células e os produtos metabólicos são excretados para o meio.

Um outro fator que influencia o crescimento das culturas é o estado físico do meio de cultura, podendo este ser líquido ou sólido. De acordo com Caldas et al. (1998) é possível que as concentrações ótimas de sais, num meio sólido, sejam mais elevadas do que as concentrações ótimas para o crescimento em meio líquido, em virtude das restrições da velocidade de difusão de nutrientes que o meio sólido impõe.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do pH no crescimento das plantas de *S. mucugensis* em meio de cultura líquido e sólido.

### METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, pertencente à Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), localizado no município de Feira de Santana, região do semi-árido da Bahia.

O material vegetal utilizado foram plantas com 60 dias de idade provenientes da germinação *in vitro*, apresentando 1,5 cm de comprimento aproximadamente. As plantas foram inoculadas individualmente em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS½ (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 3% de sacarose, modificado em

relação ao estado físico do meio de cultura (sólido com 0,7% de ágar e líquido), ajustado os pHs 4,0; 4,5; 5,0 e 5,7. Sendo que para o meio de cultura sólido o pH foi ajustado apenas para 5,0 e 5,7. As plantas estabelecidas em meio de cultura líquido em ponte de papel-filtro foram mantidas em ausência de agitação.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16 horas, com umidade relativa de 50% e radiação fotossintética ativa de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições e cada repetição constou de três tubos.

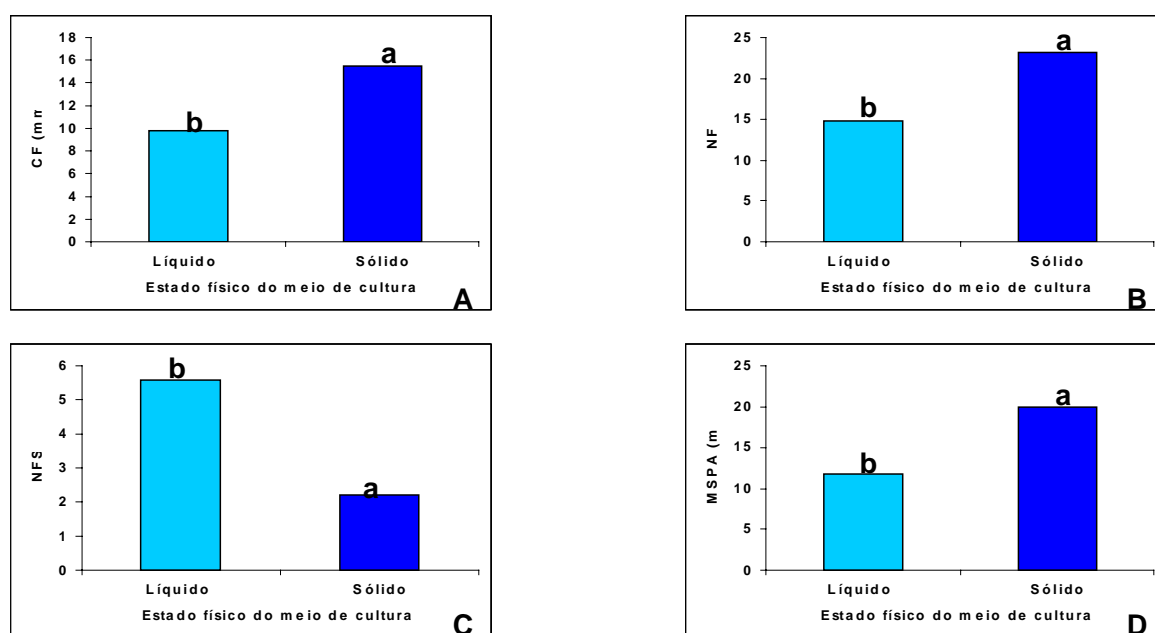
Aos sessenta dias da inoculação foram analisadas as seguintes variáveis: comprimento da maior folha e da maior raiz (mm), sendo que para a realização da medida utilizou-se régua graduada em mm; número de folhas e raízes, as quais foram realizadas através de contagem. Para matéria seca da parte aérea e das raízes (mg), inicialmente separou-se a parte aérea da raiz e estes foram acondicionados em sacos de papel e mantidos na estufa com ventilação forçada, com temperatura mantida em  $60^\circ\text{C}$ , até que atingissem o peso constante.

Os dados foram avaliados estatisticamente mediante a análise de variância, testando-se as médias pelo teste de Tukey. Os dados foram analisados usando o programa SISVAR, v 4.3, desenvolvido pela UFLA (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância o pH não mostrou diferença significativa as variáveis de crescimento avaliadas, podendo ser utilizado o pH (5,7) nos cultivos de *S. mucugensis*. Os resultados indicaram diferenças significativas em relação ao estado físico do meio de cultura (sólido e líquido) para todas as variáveis estudadas, exceto para matéria seca de raiz.

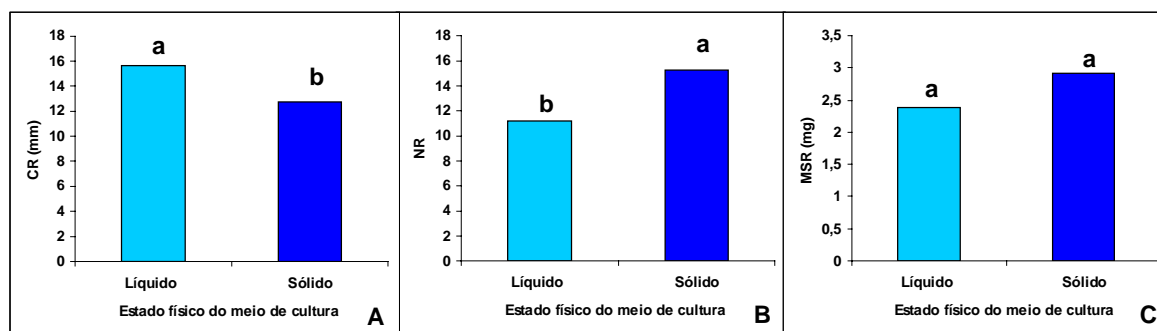
As maiores médias para o comprimento da maior folha (15,50 mm), número de folhas (23,10) (Figura 1A, B). Resultados semelhantes foram encontrados por Pasqual et al. (2002) em cultivos de citros, quando o meio foi solidificado com ágar, mas em presença de pH baixo. Em relação à matéria seca de parte aérea a maior média (19,97 mg) foi encontrada em meio de cultura sólido (Figura 1D). Diferentemente do observado por Pasqual et al. (2002) que obtiveram maior média para esta variável em meio de cultura líquido e em pH 3,7 em cultura de *Citrus*.



**Figura 1:** Médias do comprimento da maior folha (CF) (A), número de folhas (NF) (B), número de folhas senescentes (NFS) (C) e matéria seca de parte aérea (MSPA) (D) de plantas de *S. mucugensis* submetidas ao meio líquido e sólido MS $\frac{1}{2}$ . Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento (estado físico do meio de cultura – líquido e sólido) não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Feira de Santana, 2007.

Para o número de folhas senescentes obteve-se a menor média quando foi utilizado o meio de cultura sólido, evidenciando que o cultivo de plantas de *S. mucugensis* em meio líquido não é ideal para o crescimento das plantas (Figura 1C).

O meio de cultura líquido mostrou-se eficiente para o comprimento da maior raiz (15,61 mm) (Figura 2A), ocorrendo o mesmo para as culturas de *Citrus* (Pasqual et al., 2002), contudo o meio sólido promoveu o incremento do número de raízes (15,30), apresentando valor superior a aquele encontrado quando se utilizou o meio de cultura no estado físico líquido (11,17) (Figura 2B). Em relação à matéria seca da raiz a melhor média ocorreu em meio de cultura solidificado (Figura 2C).



**Figura 2:** Médias do comprimento da maior raiz (CR) (A), número de raízes (NR) (B) e matéria seca de raiz (MSR) (C) de plantas de *S. mucugensis* submetidas ao meio líquido e sólido MS½. Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento (estado físico do meio de cultura – líquido e sólido) não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Feira de Santana, 2007.

Embora o meio de cultura sólido exerça influência sobre o potencial osmótico do meio de cultura, esta concentração (0,7%) utilizada de agar, não apresentou-se como fator limitante ao crescimento, pois o crescimento e desenvolvimento da cultura de *S. mucugensis* foi melhor do que quando cultivada em meio de cultura sem agar.

Apesar das plantas terem apresentado maior comprimento da raiz em meio líquido, recomenda-se a utilização de meio sólido para o cultivo de *S. mucugensis*, uma vez que apresentou o número de raízes superior ao meio de cultura sem agar, pois o incremento de raízes em número é muito interessante para a etapa de aclimatização, já que aumenta a área de absorção nutrientes e água.

## CONCLUSÃO

Não houve interferência do pH no crescimento de *S. mucugensis*. O meio de cultura sólido proporcionou o melhor crescimento para o cultivo *in vitro* de *S. mucugensis*.

## REFERÊNCIAS

Caldas, L. S.; Haridasan, P.; Ferreira, M. E. Meios nutritivos. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, v.1, p.87-132, 864p., 1998.

FERREIRA, D. F. **Sisvar** – Versão 4.3. DEX/UFLA – Lavras, MG, 2003.

Giulietti, N.; Giulietti, A. M.; Pirani, J. R.; Menezes, N. L. 1998. Estudos em sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 1(2):179-193. Suplemento.

Joly, A. B. **Conheça a vegetação brasileira**. São Paulo: EDUSP, Polígono. 181p. 1970.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15:473-497.

Pasqual, M.; Finotti, D. R.; Dutra, L. F.; Chagas, E. A.; Ribeiro, L. de O. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerina 'poncã' em função do pH e da concentração de agar. **Revista Brasileira de Agrociência.** v.8, n.3, p.199-202, set-dez, 2002.

Scatena, V. L.; Vich, D. V.; Parra, L. R. 2004. Anatomia de escapos, folhas e brácteas de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. Ex Koern.) Ruhland (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica** 18(4):825-837.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Syngonanthus mucugensis*; Eriocaulaceae; sempre-viva; pH; estado físico do meio de cultura.



## Influência de explantes e reguladores de crescimento na micropropagação de sisal (*Agave sisalana* Per.).

Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,2</sup>; Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,4</sup>; Lyra, Camila dos Santos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP. 44100-000; <sup>2</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sanqueiroz@ig.com.br](mailto:sanqueiroz@ig.com.br); <sup>4</sup> Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. Fisiologia Vegetal, Coordenador do LCTV – UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

A *Agave sisalana* Per. é uma espécie vegetal altamente produtora de fibra e extremamente resistente à seca (Binh *et al.*, 1990). Possui uma grande importância econômica para o nordeste do Brasil, principalmente para a Bahia. Atualmente, cerca de 70 mil brasileiros dependem da cultura do sisal para sobreviver (Silva, 2003).

O sisal é propagado vegetativamente por bulbilhos e por rebentões. A propagação no campo é muito lenta, sendo insuficiente para uma produção massiva de plantas de interesse comercial, já que se trata de uma espécie de grande potencial econômico para o nordeste.

Segundo Bosa *et al.* (2003) a técnica de propagação *in vitro* vem sendo utilizada com amplo sucesso para produção de mudas em escala comercial.

A utilização das técnicas de cultura de tecidos vegetais *in vitro*, oferece uma propagação rápida e massiva de plantas livres de pragas e enfermidades (Blanco *et al.* 2004).

Vários trabalhos relatam sobre o rápido desenvolvimento *in vitro* de espécies da família Agavaceae (Powers & Backhaus, 1989; Groenewald *et al.*, 1977).

O processo de organogênese *in vitro* é muito complexo, pois envolve múltiplos fatores externos e internos, a interação entre fonte de explante, meio de cultura e fatores do ambiente (George, 1993). Este processo também depende da ação de reguladores de crescimento exógenos, em particular auxinas e citocininas e da habilidade do tecido em responder aos efeitos desses hormônios durante o processo de cultivo *in vitro* (Sugiyama, 1999).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos reguladores de crescimento vegetal BAP (Benzilaminopurina) e ANA (Ácido naftalenoacético) e de diferentes explantes na multiplicação *in vitro* de *Agave sisalana* Per.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

Utilizou-se como fonte de explante, bulbilhos de sisal, que foram desinfestados segundo Queiroz *et al.* (2006). Os explantes foram extraídos por cortes transversais realizados na base dos bulbilhos, sendo que foram divididos em dois tipos: base inteira e base cortada verticalmente ao meio (base ½).

Na multiplicação *in vitro* utilizou-se o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, solidificado com ágar (7,5 g/L), suplementado com ANA e BAP nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L) e (0; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/L), respectivamente. Adicionou-se ao meio o biocida PPM<sup>TM</sup> (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos). Distribuiu-se 15 mL de meio de cultura em tubos de ensaio (150 x 25mm).



Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de  $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $4 \times 5$  (ANA x BAP), com 5 repetições e cada uma formada de 4 tubos. Avaliou-se aos 60 dias de cultivo as variáveis: porcentagem de brotos (%B), número de brotos (NB), porcentagem de enraizamento (%E) e número de raízes (NR).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software SisVar (Ferreira, 2003). Os dados foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observaram-se efeitos significativos para as características %B e NR no tratamento tipo de explantes e para todas as variáveis avaliadas nos tratamentos com reguladores de crescimento BAP e ANA. Ocorreu tripla interação entre explantes (base e  $\frac{1}{2}$  base) e as diferentes concentrações de BAP e de ANA para as variáveis NB e %E (Dados não mostrados).

Analisando-se separadamente os tratamentos observou-se que o explante (base) apresentou maior número de raízes (6,84) e o explante  $\frac{1}{2}$  base apresentou superioridade quanto à %B (41,50%) e NB (3,19) por explante. Isto deve ter ocorrido devido à quebra da dominância apical nos explantes que foram cortados ao meio (Figuras 1A e 1B).

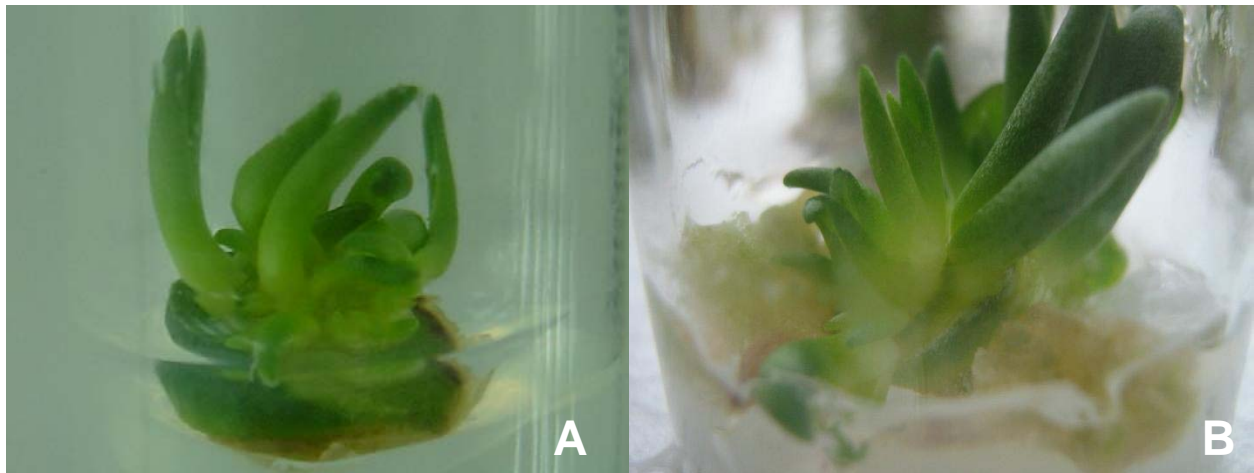
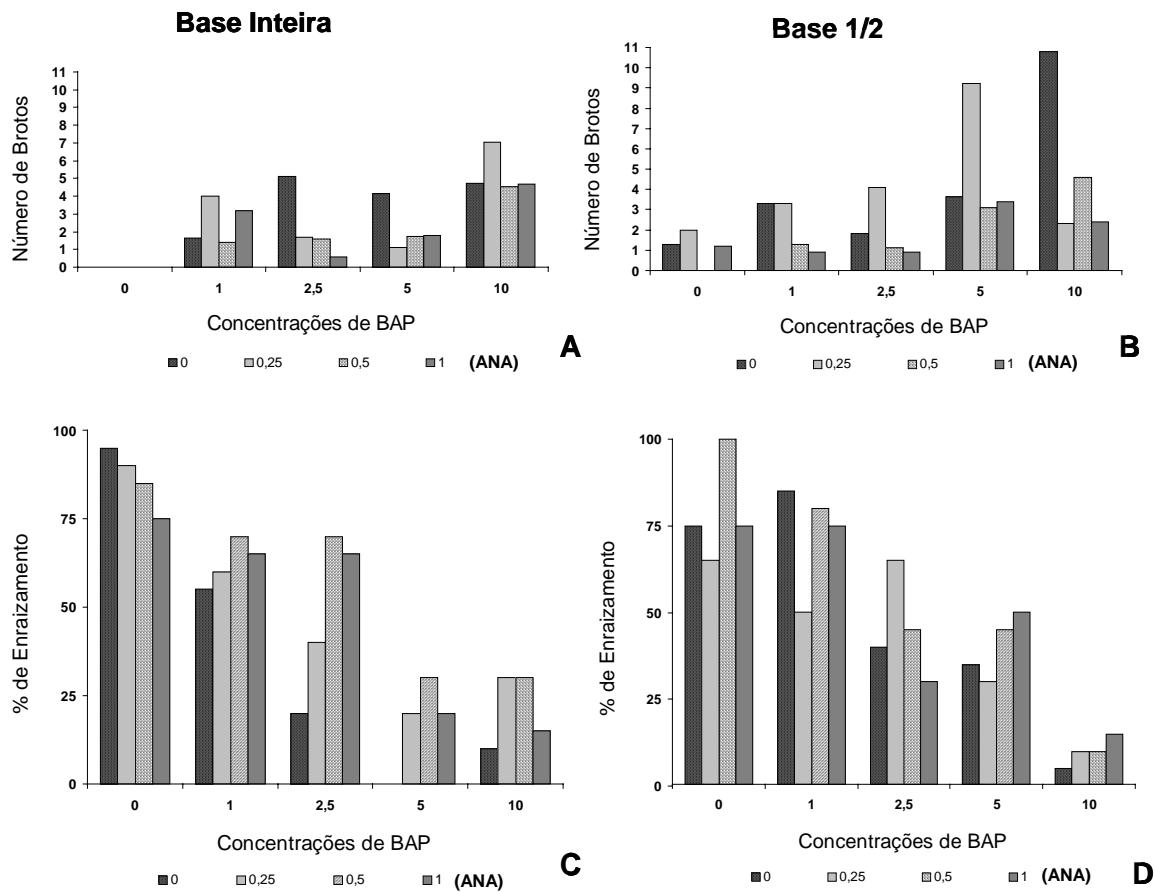


Figura 1. Explantes de sisal com brotos A – Base inteira, B – Base  $\frac{1}{2}$ .

Para as diferentes concentrações de BAP utilizadas, verificou-se que para %B e NB, a melhor concentração foi 10 mg/L apresentando 49,38% e 5,13, respectivamente. Já para ANA, quanto maior a concentração, menores os valores encontrados para brotos, sendo que os melhores resultados foram obtidos na ausência deste regulador (Dados não mostrados).

Para o explante base inteira, o melhor resultado obtido para número de brotos, foi na associação de 10 mg/L de BAP com 0,25 mg/L de ANA, obtendo-se 7 brotos por explante (Figura 2A). Já para base  $\frac{1}{2}$ , o maior valor (10,78 por explante) foi obtido utilizando 10 mg/L de BAP sem o regulador ANA (Figura 2B). Resultados semelhantes foram verificados por Diniz *et al.* (2004) em *Heliconia stricta*, onde a quebra da dominância apical através de cortes no meristema e/ou tecidos adjacentes a estes, com divisão em partes, mostrou uma tendência a aumentar o número médio de brotações de gemas em relação a gema inteira.



**Figura 2:** Interações Triplas (BAP x Explante x ANA): A e B – Número de Brotos; C e D – Porcentagem de Enraizamento.

Os resultados neste estudo foram bastante satisfatórios na otimização de brotos de sisal onde se observou até 10 brotos por explante. Binh *et al.* (1990), estudando *Agave sisalana* verificaram também uma boa resposta quanto à regeneração de brotos (4 a 5 brotos/explante), utilizando rizoma e folha como explantes e CIN e ANA como reguladores de crescimento.

Em relação a porcentagem de enraizamento a presença do BAP interferiu no enraizamento dos brotos formados sendo que os mesmos enraizaram melhor independente do tipo de explante utilizado na ausência ou na menor concentração de BAP (Figuras 2C e 2D). Esta redução no número de raízes por explante na presença de BAP comprova o efeito da citocinina na inibição do enraizamento (Kaminek, 1992). Natham *et al.* (1992) verificaram em gemas de *Heliconia psittacorum*, o enraizamento na ausência de BAP. O mesmo resultado foi verificado em explantes de *A. sisalana* que obtiveram uma alta porcentagem de enraizamento na ausência desse hormônio.

## CONCLUSÃO

Os explantes utilizados neste estudo foram eficientes para produzir grande quantidade de brotos vigorosos de sisal.

O sisal apresenta um excelente nível endógeno de auxina/citocinina, o que favorece a técnica de otimização de mudas em larga escala e com custo reduzido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BINH, L. T.; MUOI, L. T.; OANH, T. D.; THANG & PHONG, T. D. Rapid propagation of agaves in vitro tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* Vol. 23, 1990.

BLANCO, M. & VALVERDE, R. Micropropagacion de *Philodendron* sp (Possivelmente P. Corcovadense). *Agronomia Costarricense* 28 (1): 39-46.2004.

BOSA, N., CALVETE, E.O., NIENOW, A.A. & SUZIN, M. 2003. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. *Horticultura Brasileira* 21: 207-210, 2003.

DINIZ, J. D.N.; GOMES, S. O. ; INNECCO, R.; ALMEIDA, J. L.; COSTA, J.T.A. Avaliação dos efeitos da quebra da dominância apical e do BAP na multiplicação in vitro de *Heliconia stricta* Huber. *Revista Ciência Agronômica*, Vol. 35, Número Especial, out., 2004: 232 - 237 234.

FERREIRA, D. F. SisVar – Versão 4.3. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

GEORGE, E. F. *Plant propagation by tissue culture: the technology*. Great Britain: Edington: Exegetics Limited, 1993. 574p. (v.1)

GROENEWALD, E.G.; WESSELS, D.C.I. & KOELEMAN, A. Callus formation and subsequent plant regeneration and subsequent plant regeneration from seed tissue of an Agave species (Agavaceae). *Z. Pflanzenphysiol.* 81: 369-373, 1977.

KAMINEK, M. *Progress in cytokinin research*. Tibtech, v.10, p.159-164, 1992.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15: 473-497, 1962.

NATHAM, M. J.; GOH, C. J.; KUMAR, P. P. In vitro propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. *HortScience*, Alexandria, v.27, n.5, p.450-452, 1992.

POWERS, D. E. ; BACKHAUS, R. A. In vitro propagation in *Agave arizonica* Gentry and Weber. *Plant Cell Tissue Organ Cult* v.16, 57-60, 1989.

QUEIROZ, S. R. O. D.; RIOS, A. P. S. ; OSUNA, J. T. A.; SANTANA, J. R. F. Estabelecimento *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Perrine) I. Controle da contaminação e da oxidação. *Magistra*, V. 18, n. 3, Julho/Set, p. 130-139, 2006.

SILVA, O. R. R. F.; CARVALHO, O. S.; RAMOS, E. S. B. Cultivo do Sisal no Nordeste. In: SILVA, O. R. R. F.; BETRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Sisal no Brasil**. Brasília, EMBRAPA-SPI; Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999, p. 53-92.

SUGIYAMA, M. Organogenesis in vitro. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 2, p.61-64, 1999.

PALAVRAS – CHAVE: *Agave sisalana* Per.; brotos; organogênese direta.

## AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).

## Estudos preliminares do desenvolvimento *in vitro* do híbrido *Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*.

Melo, Gemima Manço de<sup>1</sup>; Willadino, Lília<sup>2</sup>; Paulino, Patrícia Maria de Souza<sup>1</sup>; Souto, Nise de Fátima Coutinho<sup>3</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>4</sup>; Camara, Terezinha Rangel<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6364, email: [gemimamelo81@yahoo.com.br](mailto:gemimamelo81@yahoo.com.br); [patriciaso\\_1@hotmail.com](mailto:patriciaso_1@hotmail.com); <sup>2</sup>Professora do Departamento de Biologia – Área de Botânica (UFRPE), email: [lilia@truenet.com.br](mailto:lilia@truenet.com.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE), email: [nise\\_souto@hotmail.com](mailto:nise_souto@hotmail.com); <sup>4</sup>Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE), Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, Pernambuco, fone (87) 3761-0969, email: [claudia@nlink.com.br](mailto:claudia@nlink.com.br); <sup>5</sup>Professora do Departamento de Química – Área Química Agrícola (UFRPE), email: [tkrcamara@bol.com.br](mailto:tkrcamara@bol.com.br).

### INTRODUÇÃO

As orquídeas compõem uma família de plantas subdividida em mais de 1.800 gêneros e o número total de espécies oscila em torno de 35.000 distribuídas no mundo (Watanabe, 2002).

Na floricultura, as orquídeas são muito apreciadas, pois além de apresentarem uma boa durabilidade possuem também uma grande diversidade nas cores e nos formatos de suas flores. Entre as mais populares encontra-se o gênero *Cattleya* que possui cerca de 70 espécies (Watanabe, 2002).

Em relação à propagação, as orquídeas podem se reproduzir de forma assexuada, através da divisão do rizoma e da propagação de gemas e de forma sexuada, por meio da cultura simbiótica, onde as sementes se associam com fungos micorrízicos e de forma assimbiótica, onde as sementes são cultivadas *in vitro*, em meio nutritivo que fornece os nutrientes para que ocorra o desenvolvimento da plântula.

No meio nutritivo podem ser adicionados fitoreguladores como o ácido  $\alpha$ -naftalenoacético (ANA), uma das auxinas mais utilizadas para enraizamento em meio de cultura e citocininas como o 6-Benzilaminopurina (BAP) que é fundamental para multiplicação da parte aérea e indução de gemas adventícias (Tagliacozzo, 1998).

Este trabalho tem como objetivo avaliar o desenvolvimento do híbrido *Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*, mediante a adição de fitoreguladores, auxina e citocinina.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE, onde foram selecionadas plântulas do híbrido *Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*, possuindo entre 1 e 2 cm de altura, advindas da sementeira *in vitro* em meio MS (Murashige & Skoog, 1962). As plântulas foram repicadas em câmara de fluxo laminar, sendo inoculadas em tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) contendo 10 mL de meio MS, com diferentes concentrações de fitoreguladores.

Foram utilizados os seguintes tratamentos: M0 – Tratamento controle; M1 – 0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M2 – 0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M3 – 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M4 – 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M5 – 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M6 – 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M7 – 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; M8 – 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizado-se nove tratamentos e 10 repetições, contendo cada repetição um explante.

O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da adição de 6,5 g.L<sup>-1</sup> de ágar e da autoclavagem a 121°C, por 20 minutos. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25±2°C, sob fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 50µmol. m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup>.

Aos 60 dias de cultivo foram avaliados os seguintes parâmetros: altura das plântulas, número de folhas, número de raízes, número de gemas e contaminação. Os resultados obtidos referente ao número de gemas foram normatizados pela transformação

$\sqrt{x + 0,5}$  sendo eles e os outros parâmetros submetidos à análise de variância, tendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante 60 dias de cultivo notou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados (Tabela 1). Todas as plântulas apresentaram semelhanças quanto à altura (Figura 1), número de folhas, número de raízes e número de gemas. Esse fato pode ter ocorrido devido ao pouco tempo que essas plântulas estão expostas as baixas concentrações dos reguladores de crescimento.

Tabela 1 – Parâmetros avaliados durante 60 dias de cultivo em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com diferentes concentrações de ANA e BAP.

Tratamentos	Altura da plântula		Número de Folhas		Número de raízes		Número de gemas	
	0 dia	60 dias	0 dia	60 dias	0 dia	60 dias	0 dia	60 dias
M0 – 0 ANA 0 BAP	1,28a	1,44a	3,40a	3,70a	-	2,20a	-	0,70a
M1 – 0 ANA 0,5 BAP	1,52a	1,69a	3,80a	4,00a	-	2,70a	-	0,80a
M2 – 0 ANA 1,0 BAP	1,39a	1,59a	4,30a	3,70a	-	2,50a	-	0,75a
M3 – 0,5 ANA 0 BAP	1,45a	1,62a	4,40a	3,70a	-	2,40a	-	0,70a
M4 – 0,5 ANA 0,5 BAP	1,18a	1,36a	3,80a	3,50a	-	2,30a	-	0,84a
M5 – 0,5 ANA 1,0 BAP	1,38a	1,52a	4,00a	4,00a	-	2,20a	-	0,75a
M6 – 1,0 ANA 0 BAP	1,23a	1,35a	3,80a	3,70a	-	2,40a	-	0,75a
M7 – 1,0 ANA 0,5 BAP	1,47a	1,60a	3,80a	4,30a	-	2,50a	-	0,78a
M8 – 1,0 ANA 1,0 BAP	1,37a	1,43a	3,40a	3,30a	-	2,60a	-	0,89a
CV%	24,23	20,43	21,89	25,22	-	42,44	-	27,39

Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

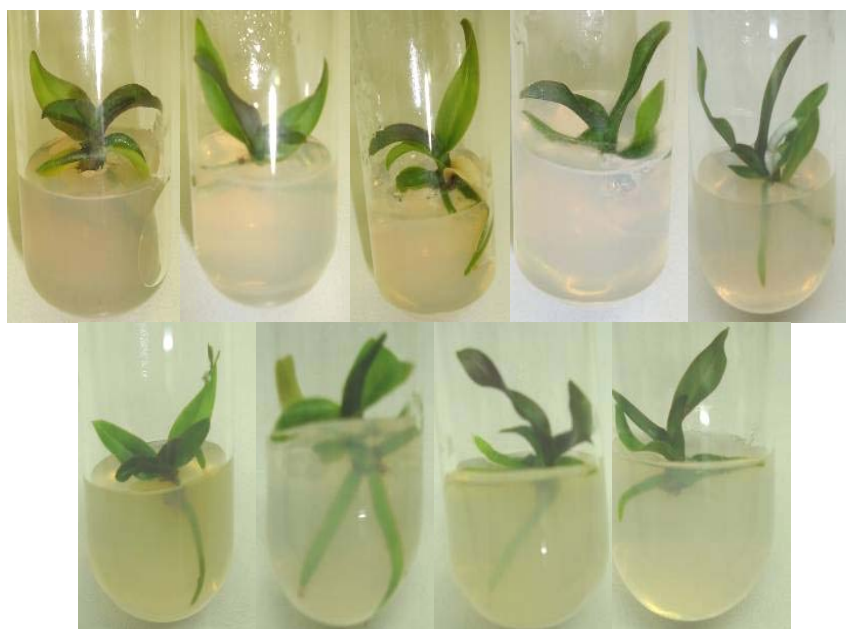


Figura 1 – Plântulas de *Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*: (1A) Tratamento controle; (1B) 0 de ANA e 0,5 de BAP; (1C) 0 de ANA e 1,0 de BAP; (1D) 0,5 de ANA e 0 de BAP; (1E) 0,5 de ANA e 0,5 de BAP; (1F) 0,5 de ANA e 1,0 de BAP; (1G) 1,0 de ANA e 0 de BAP; (1H) 1,0 de ANA e 0,5 de BAP; (1I) 1,0 de ANA e 1,0 de BAP.

Optou-se pela baixa concentração da citocinina no cultivo de *Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa* porque segundo Tagliacozzo (1998) o excesso de citocininas pode causar vitrificação nas plantas cultivadas *in vitro*. Da mesma forma concentrações excessivas de auxina podem inibir a multiplicação ou favorecer demasiadamente o enraizamento ou formação de calo em detrimento da multiplicação (Grattapaglia & Machado, 1998). Sendo assim é fundamental o balanço hormonal entre citocinina e auxina no controle da morfogênese e formação de órgãos em cultura de tecidos (Tagliacozzo, 1998).

Ramos & Carneiro (2007) verificaram que o uso de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP mostrou-se prejudicial, havendo um decréscimo de cerca de 41% na produção de novas brotações do híbrido *Cattleya x mesquithae*.

Até o presente momento o resultado foi satisfatório, já que é possível micropropagar a espécie sem utilização de altas concentrações de reguladores de crescimento, o que provoca redução nos custos.

A contaminação não foi detectada em nenhum indivíduo.

## CONCLUSÃO

O uso de reguladores de crescimento com diferentes concentrações não provocou alteração na taxa de multiplicação *in vitro* de *Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*, durante o período de 60 dias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.

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

RAMOS, T. V.; CARNEIRO, I. F. Multiplicação "*in vitro*" de *Cattleya x mesquithae* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37 n. 1, p. 10-15, 2007.

TAGLIACOZZO, G. M. D. Fitormônios e seus efeitos biológicos *in vivo* e *in vitro*. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. P. 58-62. (Boletim técnico, 174).

WATANABE, D. **Orquídeas: manual de cultivo**. 2. ed. São Paulo: AOSP, 2002. 296p.

## PALAVRAS-CHAVES

*Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*; Reguladores de crescimento; Cultivo *in vitro*.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela Bolsa de Iniciação Científica.

## **Efeito do potencial osmótico na germinação e crescimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti visando à conservação *in vitro*.**

Nepomuceno, Cristina Ferreira<sup>1</sup>; Fonseca, Priscila Tavares<sup>2</sup>; Silva, Tecla dos Santos<sup>2</sup>; Lima-Brito, Alone<sup>3</sup>; Santana, José Raniere Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, MSc. em Botânica, Bolsista DTI/CNPq/M (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal, Avenida Presidente Dutra, Bairro Santa Mônica, S/N, CEP: 44055-000 email: nepomucenocf@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, email: priscilauefs@yahoo.com.br; teclabio@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da UEFS, email: lima\_brito@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Biológicas, email: raniere@uefs.br.

### **INTRODUÇÃO**

*Syngonanthus mucugensis* pertence à família Eriocaulaceae, está entre as espécies do gênero *Syngonanthus* com grande valor ornamental e alto valor econômico devido ao bellissimo aspecto das inflorescências. As quais apresentam textura paleácea com cor bege e inflorescência em forma de capítulos com flores muito pequenas. É uma espécie endêmica da região da Chapada Diamantina, localizada mais precisamente na Serra do Sincorá, mas devido ao extrativismo encontra-se ameaçada de extinção.

O cultivo *in vitro* de *S. mucugensis* (sempre-viva) tem por meta viabilizar o aumento da produtividade, utilizando técnicas de cultura de tecidos vegetais que permitem a coleção de germoplasma, preservação e o cultivo em escala comercial (Paixão-Santos et al., 2006).

A análise da interferência do potencial osmótico constitui um processo importante na micropropagação e na conservação *in vitro* de germoplasma à medida que está associada à absorção de nutriente e H<sub>2</sub>O, interferindo nas reações metabólicas e, portanto, nos processos morfológicos e fisiológicos da planta. No processo de conservação *in vitro* é necessário que as plantas tenham o crescimento reduzido, ou seja, que a sua atividade metabólica seja reduzida, contudo sem afetar sua viabilidade, isto pode ser alcançado alterando-se o potencial osmótico do meio de cultura, reduzindo então a disponibilidade de água (Castro e Hilhorst, 2004).

A conservação *in vitro* possui grande importância não só sob o ponto de vista econômico como também prático, possibilitando a manutenção da fidelidade genética, além de facilitar a disponibilidade de material para o melhoramento genético e o intercâmbio de germoplasma (Withers e Williams, 1998; Faria et al., 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do potencial osmótico do meio de cultura na germinação e crescimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis*, permitindo o estabelecimento de estratégias para a conservação *in vitro*.

### **METODOLOGIA**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

As sementes foram desinfestadas através da imersão em álcool 70% por 1 minuto, seguido de solução de hipoclorito de sódio - NaOCl (2,5%) por 10 minutos e lavadas 4 vezes em água estéril. Em seguida foram inoculadas em frascos contendo 60 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) com a metade da concentração dos sais, suplementado com 0,7% de ágar e diferentes potenciais osmóticos (-0,1085; -0,2170; -0,3255; -0,4340 MPa), estes potenciais foram obtidos através da equação Van't Hoff's (Paiva Neto e Otoni, 2003) utilizando-se diferentes concentrações sacarose (15, 30, 45 e 60 g.L<sup>-1</sup>).

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16 horas, com umidade relativa de 60% e radiação fotossintética ativa de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

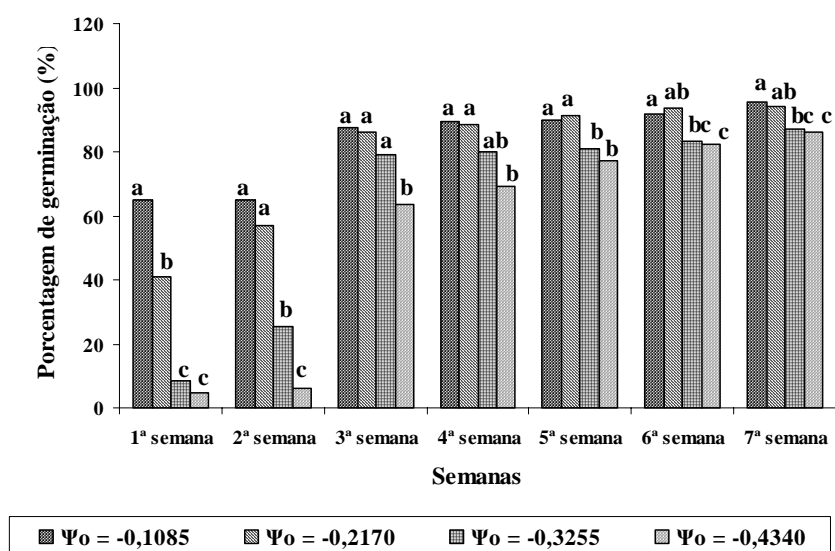
O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos (diferentes potenciais osmóticos: -0,1085; -0,2170; -0,3255; -0,4340 MPa), cada tratamento com sete repetições e cada uma constou com cinquenta sementes.

Foi avaliada a porcentagem de germinação a partir da emissão da primeira folha, seguido de observações semanais, por um período de 60 dias. Após esse período foi iniciada a análise de crescimento, através das seguintes variáveis: comprimento da maior folha e da maior raiz (mm), sendo que para a realização da medida utilizou-se régua graduada em mm; número de folhas e raízes, as quais foram realizadas através de contagem. Para matéria seca da parte aérea e das raízes (mg), inicialmente separou-se a parte aérea da raiz e estes foram acondicionados em sacos de papel e mantidos na estufa com ventilação forçada, com temperatura mantida em  $60^\circ\text{C}$ , até que atingissem o peso constante. Foram retiradas dez plantas por frasco nas sete repetições para cada tratamento. Os experimentos foram repetidos por três vezes.

Os dados foram avaliados estatisticamente mediante a análise de variância, testando-se as médias pelo teste de Tukey. Os dados foram analisados usando o programa SISVAR, v 4.3, desenvolvido pela UFLA (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *S. mucugensis* germinaram aos dez dias da inoculação, em todos os potenciais osmóticos testados. Entretanto apresentaram diferença significativa para a porcentagem de germinação *in vitro*. Observa-se que na primeira semana na presença do potencial osmótico ( $\Psi_0 = -0,1085$  MPa) ocorreu maior germinação das sementes (64,86%) em relação aos outros potenciais testados, indicando que o potencial osmótico interfere na porcentagem da germinação neste primeiro momento, mas não atua como fator limitante para a germinação *in vitro* de *S. mucugensis* (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados para sementes de erva-de-touro, onde a restrição hídrica afetou o comportamento germinativo das sementes (Guimarães et al., 2002).



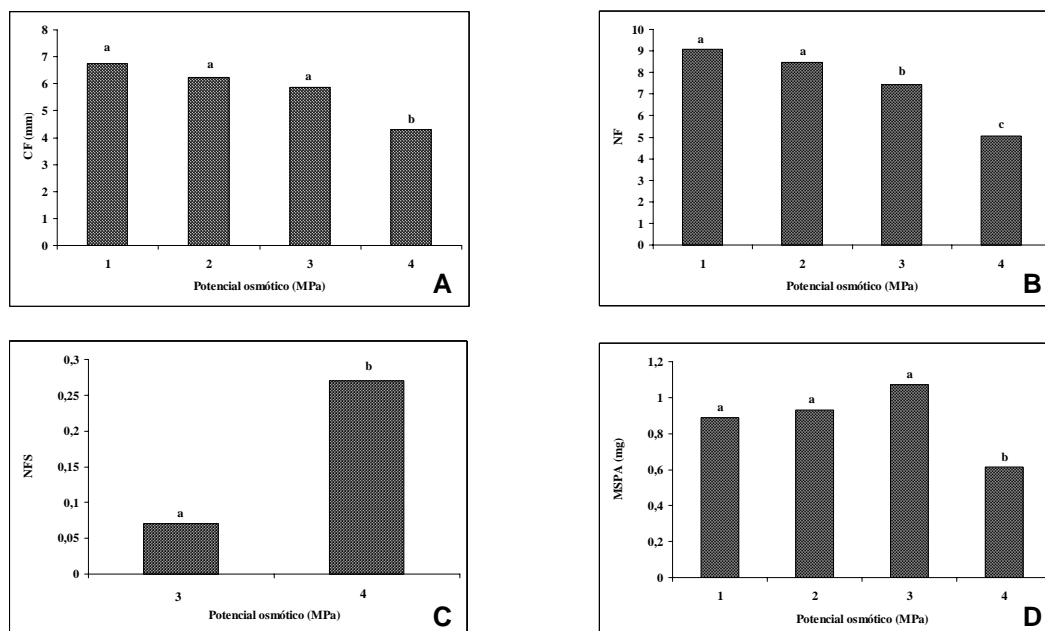
**Figura 1:** Porcentagem de germinação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (MPa) em meio de cultura MS  $\frac{1}{2}$ . Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey). Feira de Santana, 2007.



Com o aumento da restrição hídrica houve atraso na germinação *in vitro* de *S. mucugensis*. Na primeira semana, em meio com pouca restrição hídrica ( $\Psi_o = -0,1085$  Mpa) ocorreu a germinação de mais de 60% das sementes, enquanto que nos meios com maior restrição hídrica ( $\Psi_o = -0,3255$  e  $\Psi_o = -0,4340$  Mpa) a germinação foi reduzida drasticamente. A baixa disponibilidade de água no meio de cultura ( $\Psi_o = -0,4340$  MPa) não impede que a germinação de *S. mucugensis* ocorra, as sementes requerem apenas um período maior para atingir percentual de germinação elevado (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al. (1999) em cultivos de *Eucalyptus camaldulensis* encontraram redução da germinação quando utilizaram o meio de cultura com potencial osmótico -0,75 MPa. Segundo Castro e Hilhorst (2004) para a semente germinar, é necessário que o conteúdo de água da semente, alcance um nível de platô, o qual é mantido relativamente constante, ou aumenta pouco e muito lentamente por um período conhecido como fase de preparação e ativação do metabolismo. Para as sementes de *S. mucugensis* esse nível é logo alcançado quando no potencial osmótico de -0,1085 MPa, pois a disponibilidade de água é maior favorecendo maior porcentagem de germinação quando comparado aos outros potenciais osmóticos testados.

De acordo com a análise de variância o potencial osmótico mostrou diferença significativa para todas as variáveis de crescimento estudadas.

Para o comprimento da maior folha obteve-se a menor média (4,3 mm) em meio com o maior restrição hídrica ( $\Psi_o = -0,4340$  MPa), ocorrendo o mesmo para número de folhas (5,07) e matéria seca de parte aérea (0,615 mg) com este potencial (Figura 2 A, B e D). Resultados semelhantes foram encontrados para *E. camaldulensis* em relação ao comprimento da parte aérea que reduziu em função da diminuição do potencial osmótico do meio de cultura (Souza et al., 1999). Essa redução do crescimento acontece porque segundo Castro e Hilhorst (2004), sob baixos conteúdos de água, a atividade metabólica é reduzida.

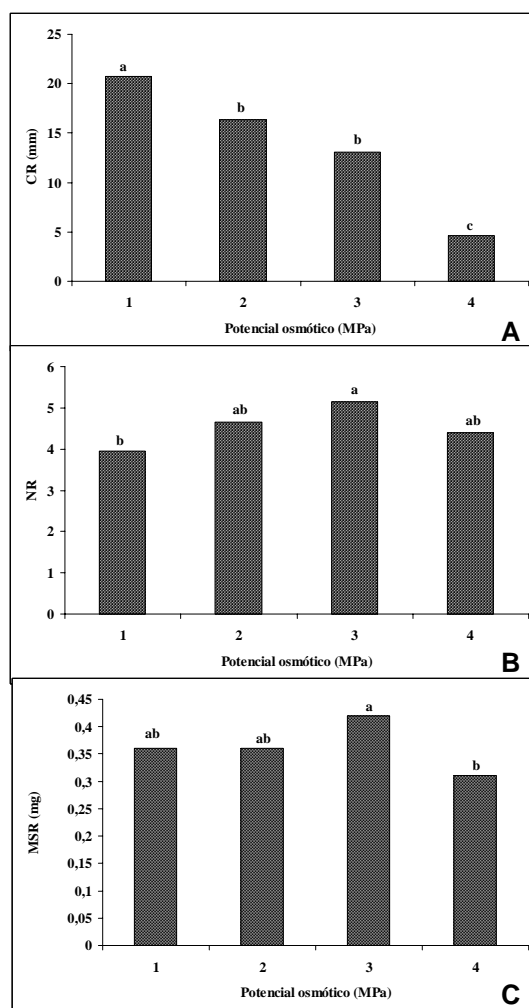


**Figura 2:** Médias do comprimento da maior folha (CF) (A), número de folhas (NF) (B), número de folhas senescentes (NFS) (C) e matéria seca de parte aérea (MSPA) (D) de plantas de *S. mucugensis* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (1 = -0,1085; 2 = -0,2170; 3 = -0,3255 e 4 = -0,4340 MPa) em meio de cultura MS $\frac{1}{2}$ . Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey). Feira de Santana, 2007.

Quando cultivadas em meios com potenciais osmóticos -0,1085 MPa e -0,2170 MPa, as plantas não apresentaram folhas senescentes, mas nos potenciais osmóticos -0,3255 MPa e  $\Psi_o = -0,4340$  MPa começaram a aparecer os primeiros sinais de folhas senescentes aos setenta dias da inoculação (Figura 2C), isso acontece porque uma vez iniciado o crescimento as plantas tornam-se altamente vulneráveis aos estresses ambientais, tais como o estresse hídrico (Castro e Hilhorst, 2004).

Em relação ao sistema radicular as respostas encontradas foram semelhantes às respostas da parte aérea das plantas de *S. mucugensis*, apresentando menor comprimento da raiz (4,62 mm) em meio de cultura com maior restrição hídrica ( $\Psi_o = -0,4340$  MPa), acontecendo também a menor média (0,31 mg) para matéria seca de parte aérea na presença deste potencial (Figura 3 A e C).

A maior média (4,65) para número de raízes foi encontrada quando as plantas estavam em meio de cultura com potencial osmótico -0,3255 MPa (Figura 3B). Esses resultados indicam que as plantas de *S. mucugensis* podem ser conservadas *in vitro* em potenciais osmóticos baixos, embora seja preciso avaliar o crescimento por período de tempo mais longo.



**Figura 3:** Médias do comprimento da maior raiz (CR) (A), número de raízes (NR) (B) e matéria seca de raiz (MSR) (C) de plantas de *S. mucugensis* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (1 = -0,1085; 2 = -0,2170; 3 = -0,3255 e 4 = -0,4340 MPa) em meio de cultura MS½. Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey). Feira de Santana, 2007.

## CONCLUSÃO

O potencial osmótico atrasou o processo germinativo das sementes de *S. mucugensis*. O menor potencial osmótico ( $\Psi_0 = -0,4340$  MPa) reduziu o crescimento das plantas de *S. mucugensis*.

## REFERÊNCIAS

Castro, R. D; Hilhorst, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira, A. G.; Borghetti, F. (Orgs.). **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

Faria, G. A.; Costa, M. A. P. de C.; Junghans, T. G.; Ledo, C. A. da S.; Souza, A. da S. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de *Passiflora giberti* N. E. Brown. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.28, n.2, p.267-270, 2006.

FERREIRA, D. F. **Sisvar** – Versão 4.3. DEX/UFLA – Lavras, MG, 2003.

Guimarães, S. C.; Souza, I. F. de; Pinho, E. V. de R. von. Efeito da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de erva-de-touro. **Rev. Agr. Trop.** v.6, n.1, p.97-111, 2002.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15:473-497.

Paiva Neto, V. B. de; Otoni, W. C. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?. **Scientia Horticulturae**. v. 97, p.193-202, 2003.

Paixão-Santos, J. da; Dornelles, A. L. C.; Silva, J. R. dos S.; Santana, J. R. F. de; Lima-Brito, Alone. Ajuste do meio MS para cultivo *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**. v. 6, n. 1, p. 36-39, 2006.

Souza, G. M.; Gonçalves, A. N.; Machado Neto, N. B. Crescimento *in vitro* de progênies de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Sob condições de deficiência hídrica. **Sci. Agric.** v.56, n.3, 1999.

## PALAVRAS-CHAVES

*Syngonanthus mucugensis*; Eriocaulaceae; sempre-viva; potencial osmótico.

## Aclimatização de *Dyckia maritima* Baker (Bromeliaceae) em hidropônia.

Da Silva, André Luís Lopes<sup>1</sup>; Walter, Juline Marta<sup>2</sup>; Bisognin, Dilson Antônio<sup>3</sup>; Quoirin, Marguerite<sup>4</sup>; Franco, Elci Terezinha Henz<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), 80035-050, Curitiba, PR, Brasil. E-mail:clonageinvitro@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Bióloga <sup>3</sup> Departamento de Fitotecnia, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil; <sup>4</sup> Departamento de Botânica, UFPR, 81531-990, Curitiba, PR, Brasil; <sup>5</sup> Professora Aposentada do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

### INTRODUÇÃO

*Dyckia maritima* Baker é uma bromélia ornamental rupícola com flores amarelo-alaranjadas, arranjadas em uma inflorescência de 1-2,5 m de altura. Além disso, suas folhas não formam um receptáculo para a retenção de águas pluviais e por isto não permitem a proliferação dos mosquitos transmissores da malária (Reitz, 1983), o que justifica o seu uso paisagístico.

A propagação *in vitro* tem demonstrado grande potencial em relação às técnicas convencionais como redução do tempo, espaço e custos (Grattapaglia & Machado, 1999), além de permitir a obtenção de um grande número de plantas geneticamente homogêneas (Droste et al., 2005). O maior problema que restringe o amplo uso comercial da micropropagação é a baixa taxa de sobrevivência das mudas produzidas *in vitro* durante a aclimatização *ex vitro*, que é resultante de uma alta perda de água pela transpiração (Díaz-Pérez et al., 1995). Porém, a perda de água da planta pela evapotranspiração pode ser reposta diretamente pela solução nutritiva de um cultivo hidropônico. Desse modo, o uso da hidroponia pode elevar as taxas de sobrevivência e diminuir o tempo durante a aclimatização das mudas (Da Silva et al., 2006).

Durante a comparação dos processos de aclimatização convencional e hidropônico em *Colocasia esculenta* (Araceae), foi constatado que o processo hidropônico foi superior ao convencional. Após 30 dias de cultivo hidropônico, as plantas apresentaram maior taxa de sobrevivência, maior número de folhas e altura das plantas (NHUT et al., 2004). Um breve cultivo hidropônico durante a aclimatização de *Cattleya tigrina* (Orchidaceae) permitiu um aumento de 40% na taxa de sobrevivência das mudas em comparação com o processo não hidropônico (Da Silva et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de aclimatização para *D. maritima* em hidroponia.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As mudas utilizadas neste trabalho foram clones de *D. maritima* obtidos por organogênese direta, conforme protocolo de micropropagação (Da Silva, 2005).

*Experimento 1* – As mudas foram retiradas das condições *in vitro*, suas raízes foram lavadas em água corrente para remoção do meio de cultura, e cultivados em bandejas alveoladas de isopor com 36 cm de comprimento, 21 cm de largura e 5 cm de altura. Esta bandeja ficou flutuando sobre o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) líquido sem sacarose, que foi usado como solução nutritiva. O meio MS ficou contido no interior de uma bacia de plástico. As mudas ficaram em contato direto com a bandeja alveolada e a solução, sem a presença de substrato. O pH da solução foi ajustado para 5,7 a cada cinco dias o nível da solução era ajustado com água destilada para um litro. As mudas permaneceram em hidroponia por 15 dias, sendo avaliadas e transferidas para terra vegetal (NutriPlan®) acondicionada em bandejas alveoladas, e irrigadas diariamente. Após 15 dias foi realizada avaliação. A cultura hidropônica foi realizada dentro de um telado e o cultivo convencional.

em condições naturais. Após todas as avaliações, as mudas ficaram em observação por mais 30 dias para confirmação da aclimatização.

*Experimento 2* – Este experimento seguiu a mesma metodologia do experimento anterior, porém com algumas modificações. Durante o cultivo hidropônico foram usados três substratos como tratamentos: fibra de coco, húmus de minhoca e uma mistura de fibra de coco e húmus de minhoca (1:1 v/v).

As características avaliadas foram: a massa fresca (g), o número de raízes, folhas, a altura da roseta (cm) e a sobrevivência das mudas (%). O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com 5 repetições de 5 plantas. Os dados foram submetidos à análise de normalidade pelo método de Bartlett, posteriormente submetidos a análise de variância e ao teste de comparação múltipla de médias de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Os dados de percentagem foram transformados para raiz quadrada de X/100.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os 15 dias de cultivo hidropônico, no experimento 1, foi observado um aumento na altura das rosetas e da massa fresca das mudas, porém houve uma diminuição do número de folhas e de raízes e do percentual de sobrevivência, que foi reduzido para 70,8% (Tabela 1). Após a transferência das mudas para o substrato, foi verificada uma rápida recuperação, tanto que a altura das rosetas aumentou aproximadamente 3 mm, concomitantemente houve um acréscimo no número de folhas, de raízes e da massa fresca (Tabela 1). Porém houve uma drástica redução no percentual de sobrevivência das mudas, atingindo 29,1%. Esta perda deve-se aos efeitos do cultivo hidropônico anterior, pois a morte das mudas ocorreu pelo apodrecimento das mesmas que estavam em contato direto com a solução nutritiva. Esta morte pode ser explicada pela diminuição do teor de O<sub>2</sub> da solução nutritiva, pois neste sistema hidropônico não houve aeração da solução, conseqüentemente não houve reposição de O<sub>2</sub>. Quando o teor de O<sub>2</sub> é baixo, a respiração das raízes é afetada, provocando a morte (Andriolo, 1999).

Durante o período de cultivo hidropônico, no experimento 2, o substrato que apresentou a maior taxa de sobrevivência das mudas após 15 dias foi à fibra de coco (95%), a qual foi estatisticamente superior à do substrato constituído da mistura de fibra de coco e húmus de minhoca (1:1 v/v), que alcançou um valor intermediário (80%) enquanto o húmus de minhoca apresentou o menor percentual (70%). Tais resultados podem ser explicados pelo fato da fibra de coco conseguir reter menor quantidade de água com relação ao húmus de minhoca, além de promover mais trocas gasosas (Tabela 2). Não houve diferenças significativas para as características altura das rosetas, número de folhas e massa fresca, porém a média do número de raízes apresentou diferenças significativas (Tabela 2).

Após o cultivo hidropônico, a média da altura das rosetas não apresentou diferenças estatísticas, mesmo tendo aumentado no caso das mudas cultivadas no substrato fibra de coco e não sendo alterada para as mudas nos demais substratos (fibra de coco+húmus de minhoca (1:1 v/v) e húmus de minhoca). As variáveis número de folhas, de raízes e a massa fresca também não diferiram estatisticamente. Porém, a sobrevivência das mudas foi significativamente maior na fibra de coco, com 80%, e 60% nos demais substratos. Após mais 30 dias de observação não houve diminuição nas percentagens de sobrevivência, confirmando o fim do processo de aclimatização.

Os resultados superiores obtidos com o uso de substratos deve-se ao fato de que o substrato permite trocas gasosas, além de auxiliar no suporte das mudas e do desenvolvimento do sistema radicular das mesmas (Gruszynski, 2001). Essa capacidade pode ter permitido superar a deficiência de O<sub>2</sub> da solução nutritiva e evitar o apodrecimento das mudas, como indicado pelos percentuais de sobrevivência. Outro fator que pode ter influenciado o consumo de O<sub>2</sub> foi o desenvolvimento de algas durante o cultivo hidropônico, que são favorecidas pela presença da luz. Durante a aclimatização de *Colocasia esculeta* este problema foi eliminado pela cobertura da solução nutritiva com material opaco (Nhut et al., 2004).

A elevada taxa de sobrevivência das mudas cultivadas em substrato fibra de coco e o tempo de aclimatização de 30 dias, define como eficiente e rápido este sistema de aclimatização em hidroponia, considerando que mudas de *D. distachya* cultivadas em túnel com nebulização intermitente apresentaram 90% de sobrevivência e que o período de aclimatização foi de 120 dias (Pompelli & Guerra, 2005). A razão para o excelente crescimento pode ser devido ao constante suprimento de nutrientes do meio líquido, que somente plantas hidrofílicas podem utilizar (Nhut et al., 2004).

## CONCLUSÃO

A técnica de aclimatização em hidroponia com o uso do substrato fibra de coco pode ser usada para promover uma rápida aclimatização de mudas micropropagadas de *D. maritima* com uma taxa elevada de sobrevivência.

Tabela 1. Características avaliadas em *Dyckia maritima* durante a aclimatização em sistema hidropônico em solução do meio MS (1962) sem uso de substrato após 15 dias de cultivo e após 30 dias de cultivo convencional.

Tempo de cultivo	Início do cultivo hidropônico	15 dias (Hidroponia)	30 dias (Convencional)
Altura da roseta (cm)	2,162 ± 0,10 <sup>1</sup>	2,494 ± 0,08	2,828 ± 0,46
Número de folhas	8,916 ± 2,01	8,470 ± 1,94	9,000 ± 1,77
Número de raízes	3,208 ± 1,97	2,352 ± 1,32	2,375 ± 1,30
Massa fresca (g)	0,203 ± 0,48	0,272 ± 0,57	0,301 ± 0,11
Sobrevivência (%)	100 ± 0,00	70,83 ± 8,33	29,16 ± 28,4

<sup>1</sup> Valores correspondentes ao desvio padrão da média

Tabela 2. Características avaliadas durante a aclimatização de *Dyckia maritima* em sistema hidropônico sobre meio MS (1962) após 15 dias de cultivo hidropônico com o uso dos substratos (fibra de coco, húmus de minhoca e fibra de coco+húmus de minhoca (1:1 v/v)) e após 30 dias de cultivo convencional.

Substrato	Fibra de Coco			Húmus de Minhoca		Fibra de Coco: Húmus de Minhoca (1:1 v/v)	
	0 <sup>1</sup>	15 <sup>2</sup>	30 <sup>3</sup>	15	30	15	30
Cultivo (dias)	0 <sup>1</sup>	15 <sup>2</sup>	30 <sup>3</sup>	15	30	15	30
Altura (cm)	2,2±1,2 <sup>4</sup>	2,4 a <sup>5</sup>	2,7 A <sup>6</sup>	2,3 a	2,3 A	2,7 a	2,7 A
Número de folhas	8,0±2,5	7,84 a	8,1 A	7,14 a	7,3 A	7,81 a	7,8 A
Número de raízes	1,5±1,2	2,73 a	3,5 A	1,61 b	3,7 A	1,93 ab	3,5 A
Massa fresca (g)	0,24±0,2	0,27 a	0,39 A	0,29 a	0,37 A	0,34 a	0,48 A
Sobrevivência (%)	100±0,0	95,0 a	80,0 A	70,0 c	60,0 B	80,0 b	60,0 B

<sup>1</sup> Fase inicial em hidroponia;

<sup>2</sup> Fim da fase hidropônica e início do cultivo convencional das mudas em terra vegetal (NutriPlan®);

<sup>3</sup> Avaliação das mudas em cultivo convencional;

<sup>4</sup> Valores correspondentes ao desvio padrão da média;

<sup>5</sup> Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro;

<sup>6</sup> Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIOLO, J. L. **Fisiologia das culturas protegidas**. Santa Maria: UFSM, 1999. 142p.

DA SILVA, A. L. L. **Micropropagação de *Dyckia maritima* Baker – Bromeliaceae**. 49f. Monografia (Especialização em Biologia) – Programa de Pós-Graduação em Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2005.

DA SILVA, A. L. L. et al. Aclimatização de mudas de *Cattleya tigrina* A. Rich. Ex Beer (Orchidaceae) em sistema hidropônico. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 18, n. 1, p. 129-139, 2006.

DÍAZ-PÉREZ, J. C. et al. Acclimatization and subsequent gas exchange, water relations, survival and growth of microcultured apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 95, p. 225-232, 1995.

DROSTE, A. et al. *In vitro* culture of *Vriesea gigantea* and *Vriesea philippocoburgii*: Two vulnerable bromeliads native to southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 5, p. 717-722, 2005.

GRATTAPAGLIA, D.E.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ, 1999. p.183-260.

GRUSZYNSKI, C. **Produção comercial de crisântemos: vaso, corte e jardim**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p166.

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

NHUT, D. T. et al. Direct microtuber formation and enhanced growth in the acclimatization of *in vitro* plantlets of taro (*Colocasia esculenta* spp.) using hydroponics. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 101, p. 207-212, 2004.

POMPELLI, M.F.; GUERRA, M.P. Micropropagation enables the mass propagation and conservation of *Dyckia distachya* Hassler. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 5, p. 117-124, 2005.

REITZ, R. **Bromeliáceas e a malária-bromélia endêmica (Flora Ilustrada Catarinense, parte 1)**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1983. 808p.

## PALAVRAS-CHAVES

solução nutritiva; aclimatização *ex vitro*; bromélias; substratos.

## **Desenvolvimento *in vitro* de raízes em brotos adventícios de sisal (*Agave sisalana* Per.) sob diferentes concentrações de AIB e Carvão Ativado.**

Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,2</sup> Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,4</sup>; Lyra, Camila dos Santos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>2</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sanqueiroz@ig.com.br](mailto:sanqueiroz@ig.com.br); <sup>4</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. Fisiologia Vegetal, Coordenador do LCTV – UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br)T.

### **INTRODUÇÃO**

A *Agave sisalana* Per é uma espécie vegetal pertencente a família Amarilidaceae, planta originária de solos pobres ou desérticos da A. Central e do México. É um vegetal rico em fibras vasculares que são longas e bastante resistentes. Estas fibras são excelentes para produção de cordas, barbantes, tapetes e esteiras (Braga, 1985).

Atualmente, o uso de técnicas de cultura de tecidos tem se apresentado como alternativa para obtenção de mudas de grande número de plantas, principalmente de interesse econômico, em curto espaço de tempo em qualquer época do ano.

Segundo Melo *et al.* (1999), outro fator importante para o sucesso do sistema de micropropagação, é a conjugação de fatores nutritivos, ambientais e endógenos. No caso específico de fatores ambientais, procura-se estudar os componentes do meio de cultura, como os sais minerais, vitaminas, entre outros. Além dos fatores externos como os reguladores de crescimento onde pode se destacar as auxinas que são indispensáveis à indução de divisão celular; diferenciação de raízes e crescimento das culturas (Preece, 1995).

Segundo George (1996), as raízes de plantas cultivadas *in vitro* não se desenvolvem de forma adequada para muitas espécies micropropagadas. O enraizamento *in vitro* sem o emprego de reguladores ou diretamente no solo é desejável sob o aspecto econômico e robotização. Poucos trabalhos tem sido conduzidos para este fim, especialmente para as espécies de interesse econômico, como o sisal.

Muitos autores têm verificado os efeitos benéficos da adição de carvão ativado ao meio de cultura como promotor de crescimento (Shi *et al.*, 2000) e indutor de raízes (George e Ravishankar, 1997).

Pouco se sabe sobre o enraizamento *in vitro* desta espécie por isso se faz necessário determinar as exigências qualitativas e quantitativas do fitoregulador AIB e do carvão ativado no enraizamento *in vitro* de brotos adventícios de sisal.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

Os explantes utilizados foram brotos adventícios provenientes de brotações micropropagadas de *A. sisalana* Per. em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com a metade das concentrações de sais e suplementado com BAP e ANA, com aproximadamente 3 cm de comprimento.

Os brotos adventícios retirados dos meios de multiplicação foram transferidos para o meio MS suplementado com AIB (0; 0,2; 0,4; 0,9 e 1,8 mg/L) e Carvão ativado (0 e 1g/L).

Aos 30 dias após a inoculação, avaliou-se o número e comprimento de raízes dos brotos adventícios de *A. sisalana*.



O delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 2 (AIB x carvão), com 5 repetições, cada uma formada de 3 tubos.

Os dados foram submetidos a análise de variância, de regressão e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software SisVar (Ferreira, 2003). Os dados foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$ .



Figura 1. Meio de cultivo para enraizamento. A – carvão ativado e B – sem carvão ativado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeitos significativos no tratamento carvão ativado para as características avaliadas no enraizamento dos brotos adventícios (NR e CR) e para as demais fontes de variação AIB e AIB associado com carvão ativado não ocorreu diferenças significativas (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância para as variáveis: número de raiz (NR) e comprimento da raiz (CR) em brotos adventícios micropropagados de sisal (*Agave sisalana* Perrine).

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS	
		NR	CR
Carvão	1	270,19 **	56,59 **
AIB	4	14,44	2,08
Carvão x AIB	4	8,39	1,05
Resíduo	30	11,92	3,16
CV (%)		29,14	27,6
Média Geral		11,8	6,43

\*\* significativo a 1% NR = número de raízes e CR = Comprimento de raízes.

Analisando-se separadamente os tratamentos observou-se que para AIB não houve diferença entre as concentrações deste regulador para as variáveis analisadas, sendo que os valores variaram entre 10,45 (0,9mg/L) e 13,50 (controle) raízes por brotos e de 5,83 (0,4 mg/L) e 6,84cm (controle) de comprimento de raiz. Já para o tratamento carvão ativado, houve diferença significativa para NR e CR sendo que na ausência do carvão, observou-se 14,44 raízes/ explante e 7,63cm de comprimento e com carvão, os brotos apresentaram 9,25 e 5,24cm respectivamente (dados não mostrados).

Analisando-se o desdobramento da interação entre as diferentes concentrações de AIB com a presença ou não de carvão ativado observou-se que para a característica números de raízes a maior média foi obtida na ausência de carvão ativado (16,92 raízes por explante), em relação à presença de carvão ativado (10,09 raízes por explante), dentro das

diferentes concentrações de AIB. Isso pode ter se dado provavelmente porque o carvão ativado adsorveu uma quantidade do AIB que havia sido adicionado aos meios dos diferentes tratamentos diminuindo a quantidade de raízes a serem formadas nos brotos adventícios.

Na variável número de raízes (NR), em relação as diferentes concentrações de auxina AIB testadas, obteve-se a maior média, na ausência dessa auxina, sendo que quanto maiores as concentrações de AIB, menores as médias para esta variável. Estes dados estão de acordo com os obtidos por Zimmerman & Broome (1981) nos quais, baixas concentrações de AIB, em torno de 0,1mg/L, proporcionaram melhor porcentagem de enraizamento para todas as cultivares testadas.

Os maiores comprimentos de raízes foram observados, principalmente, na ausência de carvão (Tabela 3). Resultados semelhantes foram verificados por Chagas *et al.* (2005) onde o maior comprimento do sistema radicular foi obtido com a utilização de 0,01 mg L<sup>-1</sup> de GA3, na ausência de carvão ativado.

Tabela 3. Valores médios obtidos no desdobramento das diferentes concentrações de AIB dentro das concentrações de Carvão Ativado para as variáveis número de raiz e comprimento de raiz.

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÕES DE CARVÃO	
	Número de raiz	
AIB	0	1
0,0 mg.L <sup>-1</sup>	16,92 aA	10,09 bA
0,2 mg.L <sup>-1</sup>	16,58 aA	9,05 bA
0,4 mg.L <sup>-1</sup>	12,08 aA	9,75 aA
0,9 mg.L <sup>-1</sup>	13,41 aA	7,5 bA
1,8 mg.L <sup>-1</sup>	13,25 aA	9,41 aA
Comprimento de raiz		
AIB	0	1
0,0 mg.L <sup>-1</sup>	8,27 aA	5,41 bA
0,2 mg.L <sup>-1</sup>	7,26 aA	5,54 aA
0,4 mg.L <sup>-1</sup>	7,19 aA	4,48 bA
0,9 mg.L <sup>-1</sup>	8,59 aA	5,49 bA
1,8 mg.L <sup>-1</sup>	5,29 aA	6,79 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha e maiúscula na mesma coluna para cada tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey

Os resultados obtidos revelam que não houve influência das doses do regulador de crescimento em nenhuma das variáveis analisadas. E que a ausência de AIB no meio MS promoveu maior formação de raízes nos brotos de sisal. Provavelmente, esta espécie apresenta níveis endógenos de auxina suficientes para induzir a formação de raízes, não necessitando de aplicação exógena deste regulador. Resultados semelhantes foram verificados por Carvalho *et al.* (2005) para explantes cultivados em meio MS. Gübbük & Pekmezci (2004) também concluíram ser desnecessária a adição de fitorreguladores (ANA e AIB) no meio MS para o enraizamento de *Musa spp.*

## CONCLUSÃO

Os brotos adventícios micropropagados de sisal, não necessitam do emprego do regulador de crescimento AIB e nem do auxílio do carvão ativado para promover ou acelerar o enraizamento *in vitro*, o que é economicamente desejável para um alto investimento nesse campo biotecnológico em produção massiva de mudas de sisal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAGA, R. Plantas do nordeste especialmente do Ceará, 4ª Edição, Natal, RN, Brasil, 1985
- CARVALHO, J. F. R. P. de; CARVALHO, C. R. de CARVALHO; OTONI, W. C. R. Regeração *in vitro* de urucum (*Bixa orellana* L.) a partir de diferentes tipos de explantes. Revista *Árvore*, Viçosa-MG, v.29, n.6, p.887-895, 2005
- EDVAN ALVES CHAGAS, MOACIR PASQUAL, JOSÉ DARLAN RAMOS, LEILA APARECIDA SALLES PIO, LEONARDO FERREIRA DUTRA, JAIRO OSVALDO CAZETTA. Cultivo de embriões imaturos de citros em diferentes concentrações de carvão ativado e ácido giberélico ciênc. agrotec., lavras, v. 29, n. 6, p. 1125-1131, nov./dez., 2005
- FERREIRA, D. F. SisVar – Versão 4.3. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.
- GEORGE, E.F. Plant propagation by tissue culture; Part 2 in practice. 2.ed. Edington: Exejetics, 1996. 1361p.
- GEORGE, P.S.; RAVISHANKAR, G.A. *In vitro* multiplication of *Vanilla planifolia* using axillary bud explants. *Plant Cell Rep.*, Berlin, v. 16, n. 6, p. 490-494. 1997.
- GÜBBÜK, H.; PEKMEZCI, M. In Vitro Propagation of Some New Banana Types (*Musa* spp.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, Istambul, v.28, p.355-361, 2004.
- MELO, N. F. de; OKASAKI, W. Y.; LEITE, C. B.; FARI, M. Estabelecimento do cultivo *in vitro* da aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) *Ciência e Agrotec.*, Lavras, v. 23, n.1, p – 102-107, jan/març., 1999
- MURASHIGE, T.& SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15: 473-497, 1962.
- PREECE, J. E. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulator. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, Dordrecht, v. 45, n. 1, p. 26-37, 1995.
- SHI, Y. Z. *et al.* *In vitro* conservation of *Dendrobium officinale* at low temperature. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.*, [sl] v. 6, p. 326-330. 2000.
- TISSERAT, B. Factors involved in the production of plantlets from date palm callus cultures. *Euphytica*, Wageningen, v. 31, n. 1, p. 201-214, 1982.
- ZIMMERMAN, R.H.; BROOME, O.C. Phloroglucinol and *in vitro* rooting of the apple cultivar cuttings. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, v.106, n.5, p.648-652, 1981.
- PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per., Brotos adventícios, AIB, carvão ativado.

## AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).

## Efeitos das auxinas na germinação *in vitro* de sementes de porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Stand.) – Cucurbitaceae.

Da Silva, André Luís Lopes<sup>1</sup>; Quoirin, Marguerite<sup>2</sup>; Horbach, Micheli Angélica<sup>3</sup>; Lima, Yohana de Oliveira Ugarelli<sup>1</sup>; Bisognin, Dilson Antônio<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmicos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFPR, e-mail: clonageinvitro@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Professora do Departamento de Botânica da UFPR; <sup>3</sup> Acadêmica do Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal da UFSM; <sup>4</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia da UFSM.

### INTRODUÇÃO

O porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl.) pertence à família Cucurbitaceae. Nos estados do sul do Brasil seu fruto é utilizado para servir o chimarrão (bebida típica dessa região). Pesquisas em cultura de tecidos vegetais exigem o uso de um grande número de explantes, o que geralmente é suprido através da germinação *in vitro* de sementes. Por esta razão é desejada uma alta taxa de germinação. As sementes de cucurbitáceas podem apresentar dormência ou germinação muito lenta (Casali et al., 1982). O processo de fermentação em água à temperatura de 25°C durante 72 horas promove a quebra da dormência e aumenta a qualidade fisiológica das sementes (Bisognin et al., 1997). No entanto, mesmo após esse processo, sementes inteiras de porongo não germinam em meio de cultura sob condições *in vitro*, sendo necessária a remoção do tegumento (Da Silva et al., 2004).

As auxinas promovem a biossíntese de giberelinas e, vice-versa, as giberelinas estão relacionadas com a germinação das sementes em algumas possíveis etapas: na ativação do crescimento vegetativo do embrião, no enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e que restringe o seu crescimento, além de também permitir a mobilização das reservas energéticas do endosperma (Taiz & Zeiger, 2004). Há muito tempo também se conhece o efeito da auxina na biossíntese do etileno, o qual possui o efeito de quebrar a dormência de sementes e iniciar a germinação em algumas espécies. Consequentemente têm se verificado que o etileno também promove um aumento na taxa de germinação de sementes de diversas espécies (Taiz & Zeiger, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do ácido naftalenoacético (ANA) e do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) na germinação *in vitro* de sementes inteiras e nuas de porongo.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos com sementes inteiras e nuas (sem a presença do tegumento). As sementes utilizadas para os experimentos foram fermentadas à 25°C por 72h. na proporção de uma parte de semente e placenta para cinco partes de água (Bisognin et al., 1997).

Sementes inteiras de porongo foram desinfestadas durante 3 minutos em álcool 70%, seguido de três lavagens com água destilada e autoclavada, posteriormente imersas em solução de NaOCl (2-2,5% de cloro ativo) por 40 minutos seguido de cinco lavagens de água destilada e autoclavada. Para a avaliação da germinação *in vitro* das sementes sem tegumento (nuas), o processo de desinfestação foi realizado da seguinte maneira: sementes foram desinfestadas por 1 minuto em álcool 70%, em seguida lavadas com água destilada e autoclavada, posteriormente o tegumento das sementes foi removido mecanicamente e as amêndoas (embrião zigótico e endosperma) foram imersas por 1 minuto em álcool 70%, lavadas com água destilada e autoclavada e imersas em uma solução comercial de NaOCl (2-2,5% de cloro ativo) por 6 minutos e novamente lavadas em água destilada e autoclavada por cinco vezes (Da Silva et al., 2004).

O meio de cultura para a germinação *in vitro* foi o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificado com 7 g.L<sup>-1</sup> de agar. O pH foi ajustado para 5,7. Os tratamentos consistiram das concentrações de 0; 0,1; 0,25; 0,5 e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ácido naftalenoacético (ANA) ou ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Foram avaliadas a percentagem de sementes germinadas e a percentagem de calogênese em sementes germinadas ou não. A avaliação da percentagem de germinação e de calogênese foram realizadas após 22 e 60 dias de cultivo *in vitro*, respectivamente.

Todos os cultivos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25°C ± 2°C e fotoperíodo de 16h, sob intensidade luminosa de aproximadamente 20 μM m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, obtidas por lâmpadas fluorescentes brancas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições de 10 sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão ao nível de 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes inteiras não germinaram na presença do 2,4-D e nem na presença de ANA. Possivelmente a causa desta inibição da germinação das sementes com tegumento *in vitro* esteja relacionada à persistência de uma dormência residual, a qual não é totalmente eliminada durante o processo de fermentação em água por 72 horas (Bisognin et al., 1997). Tal dormência pode estar ligada à presença de substâncias inibidoras da germinação, presentes no tegumento, pois foi observado nas sementes e no meio de cultivo uma coloração escura típica daquela produzida pela oxidação de compostos fenólicos. Essas substâncias contidas no tegumento, quando cultivadas *in vitro* podem ter dificuldade de difusão no meio de cultura sólido e permanecer associadas ao embrião, impedindo a germinação, visto que as mesmas sementes fermentadas começam a germinar a partir de quatro dias em condições *ex vitro* (Bisognin et al., 1991).

A presença de ANA favoreceu a germinação *in vitro* de sementes nuas. A maior percentagem de germinação foi na concentração de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de ANA, atingindo 27% após 22 dias de cultivo *in vitro*, cerca de 4 vezes mais do que na ausência de ANA (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados em *Carica papaya* L. onde a maior percentagem de germinação ocorreu na presença de 5 μM de ANA, atingindo 80% de germinação *in vitro* (Bhattacharya & Khuspe, 2001). O ANA pode induzir a expressão de lipoxigenases, algumas destas enzimas produzem oxilipinas que parecem ser importantes moléculas sinalizadoras, que induzem respostas a estresses, tais como as provocadas por ataque de insetos, por infecções de fungos ou bactérias e por ferimentos causados por danos mecânicos. As oxilipinas podem influenciar a biossíntese do ácido jasmônico, o qual aumenta a habilidade da planta de responder a situações de estresse (Wang et al., 1999). A remoção mecânica do tegumento da semente frequentemente causa ferimentos nos tecidos, gerando estresse, o qual pode ser responsável pela baixa taxa de germinação *in vitro*. Os resultados da suplementação do ANA no meio de cultura demonstraram um percentual de germinação superior à testemunha, o que sustenta esta hipótese.

Na presença do ANA, nem todas as sementes produziram plântulas completas. Foram observadas, em todos os tratamentos, 50% de plântulas completas, as outras 50% apenas não apresentaram formação de raízes. Este resultado pode estar associado ao fato da auxina induzir a biossíntese do etileno, o qual é um inibidor do crescimento de raízes (Taiz & Zeiger, 2004).

O 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) é uma auxina sintética extremamente eficiente, pois não é tão rapidamente metabolizada pela planta quanto é o AIA (ácido indol-3-acético) (Taiz & Zeiger, 2004). O 2,4-D produziu um efeito semelhante ao ANA na germinação *in vitro* das sementes, proporcionando um aumento na percentagem de germinação das sementes (Figura 1). As sementes germinadas na presença do 2,4 D não produziram apenas plantas inteiras, sendo observadas muitas plantas sem raízes.

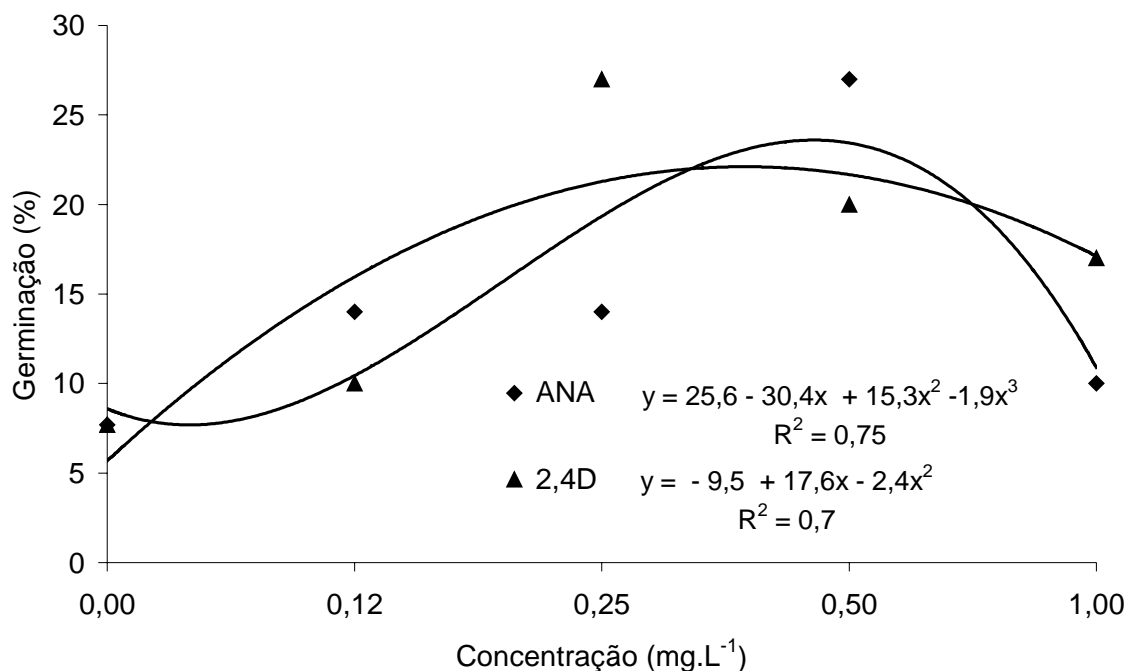


Figura 1. Efeitos do ANA e o do 2,4 D na germinação *in vitro* de porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl.) 22 dias após a semeadura *in vitro*.

A presença de ANA ou 2,4 D no meio de cultura não produziu nenhuma resposta de diferenciação ou desdiferenciação nos tecidos das sementes desprovidas de tegumento que não germinaram após 60 dias de cultivo *in vitro*. Não houve a indução de calos e não ocorreu embriogênese somática. Porém resultados diferentes foram observados em *Carica papaya*, onde concentrações de 1 a 20  $\mu$ M de 2,4-D promoveram o desenvolvimento de calos em embriões desprovidos de tegumento (Bhattacharya & Khuspe, 2001).



Figura 2. Indução de calogênese em hipocótilos de plântulas de *Lagenaria siceraria* originadas de sementes nuas após 50 dias de cultivo *in vitro* em meio MS suplementado com 2,4 D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético).

Após 50 dias de cultivo foi observada a calogênese nos hipocótilos das plântulas originadas das sementes nuas cultivadas tanto em ANA, quanto em 2,4-D (Figura 2). Este fato representa uma grande contribuição para a produção de calos em hipocótilos, abrindo perspectivas para o uso desta metodologia em estudos de morfogênese *in vitro* para esta espécie.

## CONCLUSÕES

O ANA e o 2,4 D na concentração de 0,1 a 1,0 mg.L<sup>-1</sup> não favorecem a germinação *in vitro* de sementes inteiras em meio de cultura. O ANA e o 2,4 D nas concentrações de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> e 0,25 mg.L<sup>-1</sup> proporcionam um aumento na taxa de germinação *in vitro* de sementes nuas de porongo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHATTACHARYA, J.; KHUSPE, S. S. In vitro and in vivo germination of Papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Scientia Horticulture**, v. 91, p. 39-49, 2001.

BISOGNIN, D. A.; IRIGON, D. L.; MARTINAZZO, A. A. Teste de germinação em porongo – *Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 21, n. 2, p. 159-167, 1991.

BISOGNIN, D. A.; MENEZES, N. L.; BELLÉ, R. A. et al. Efeito do tamanho de fruto e do método de extração na qualidade fisiológica de sementes de porongo. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.27, n.1, p.13-19, 1997.

CASALI, V. W. D.; SATURNINO, H. M.; PEDROSA, J. F. Botânica e origem das cucurbitáceas. In: EPAMIG. As cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 85, p. 22-23, 1982.

DA SILVA, A. L. L.; BISOGNIN, D. A.; RITTER, C. E. L.; BANDINELLI, M. G.; MÜLLER, D. R.; RAMPELOTTO, M. V. Propagação *in vitro* de porongo – *Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl. – Cucurbitaceae. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, suplemento CD-ROM, 2004.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p719.

WANG, C.; JÄRLEFORS, U.; HILDEBRAND, D. F. Regulation and subcellular localization of auxin-induced lipoxygenases. **Plant Science**, v. 148, p. 147-153, 1999.

## PALAVRAS-CHAVES

Calogênese; hipocótilo; tegumento; amêndoa.

## **Aclimatização de mudas micropropagadas de sisal (*Agave sisalana* Per.) em diferentes substratos.**

Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,2</sup> Lyra, Camila dos Santos<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,3</sup>; Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>2</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>4</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sandrarqueiroz@hotmail.com](mailto:sandrarqueiroz@hotmail.com); <sup>5</sup> Prof. Dr. Depto. Biologia – UEFS, e-mail: [ranieri@uefs.br](mailto:ranieri@uefs.br).

### **INTRODUÇÃO**

O sisal (*A. sisalana* Perrine) é uma espécie provavelmente nativa da península de Yucatan, no México, onde é designada pelo nome de Maia de “Yaxci”, porém tanto a fibra como a planta é conhecida mundialmente pelo nome de sisal (MEDINA, 1954).

O sisal dá origem à principal fibra dura produzida no mundo, contribuindo com mais da metade da produção comercial de todas as fibras desse tipo. Sua exploração, no Brasil, concentra-se, no Nordeste, geralmente em áreas onde as condições de clima e solo são pouco favoráveis ou de escassas alternativas para a exploração de outras culturas que ofereçam resultados econômicos satisfatórios.

A micropropagação é uma das técnicas da cultura de tecidos que apresenta melhor alternativa para produção de mudas, principalmente, de interesse econômico por permitir uma excelente qualidade das mesmas, produzir mudas livres de patógenos, além de desenvolver uma alta quantidade de mudas desejáveis em pequeno tempo e espaço, e independente da estação climática.

Uma das barreiras para a aplicação dos métodos de cultura de tecidos é a dificuldade de transferir com sucesso as mudas da condição *in vitro* para a *ex vitro*, pois segundo Silva *et al.* (2003), diversos fatores como genótipo, estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico para autotrófico, infecção por patógeno, estresse pela luz, além das mudanças de temperatura, interferem no sucesso da aclimatização.

A aclimatização é a passagem de plantas desenvolvidas *in vitro* para o ambiente *ex vitro* casa de vegetação e finalmente para o campo. A aclimatização pode chegar a ser um fator limitante no processo da micropropagação (Gratapaglia & Machado, 1998).

Muitas espécies desenvolvidas *in vitro* requerem um processo adequado de transferência para o ambiente de casa de vegetação para assegurar que um grande número de plantas sobreviverá e crescerá vigorosamente (Fidelis *et al.*, 2000) e para Deberg (1991) deve-se proporcionar alta umidade relativa do ar, baixa irradiação e temperatura amena para oferecer às plantas uma resposta eficiente no processo da aclimatização.

Segundo Pierik *et al.* (1990), as raízes produzidas *in vitro* são fracas e pouco funcionais, razão pela qual devem ser substituídas o mais rapidamente possível, o que só ocorrerá mantendo a planta com baixa transpiração. Por outro lado, George (1996) observou que raízes formadas *in vitro* não se desenvolvem adequadamente para muitas espécies micropropagadas.

Como o sisal é uma espécie de grande importância econômica para o país, existe a necessidade de se otimizar o processo desde o cultivo *in vitro* até o processo de aclimatização. Estes processos irão permitir a vantagem também de mudas uniformes, o que é muito interessante no replantio das mesmas, pois o que ocorre nos campos pelos pequenos produtores é a utilização de rebentões de diferentes idades para o replantio e isso vem acarretando numa pequena produção de fibras por campo, mediante a desuniformidade das mudas utilizadas.

O presente trabalho tem o objetivo de determinar o melhor substrato para o processo de aclimatização de mudas micropropagadas de *Agave sisalana* Per..



## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

As mudas utilizadas para a aclimatização foram micropropagadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com ANA e BAP nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L<sup>1</sup>) e (0; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/L), respectivamente. Adicionou-se ao meio o biocida PPM<sup>TM</sup> (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos).

Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de  $15 \mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias.

Após de 60 dias de cultivo *in vitro* as mudas micropropagadas que apresentavam comprimento de parte aérea acima de 7 cm e presença de raízes foram retiradas do meio de cultivo *in vitro* e suas raízes foram lavadas para retirar o excesso de meio de cultura. Em seguida foram transferidas rapidamente (para evitar o dessecamento das plantas) para vasos plásticos contendo diferentes substratos: Terra Vegetal (1); Solo de Conceição do Coité (1), Areia (1) e Terra Vegetal + Areia (1:1).

O processo de aclimatização foi realizado em casa de vegetação (30% sombrite) e temperatura ambiente de  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ , compreendendo um período de 60 dias. As plantas foram irrigadas uma vez ao dia, procurando-se manter as folhas sempre úmidas.

Para criar um microclima visando impedir a perda d'água pelas folhas colocou-se garrafas pet com tampas, fixadas no substrato envolvendo as mudas. Após 72 horas as tampas foram desenroscadas levemente, para propiciar a entrada lentamente de ar. Aos 21 dias retirou-se a tampa das garrafas e com 30 dias retirou-se a garrafa de todos os experimentos.

Avaliou-se aos 60 dias o melhor substrato utilizado neste processo, realizando medidas de espessura das folhas (EF), número de folhas (NF), Comprimento da parte aérea (CPA) e largura das folhas (LF), presentes nas mudas aclimatizadas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições, cada uma formada de 5 plantas.

Os dados foram submetidos a análise de variância, de regressão e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software SisVar (Ferreira, 2003). Os dados foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeitos significativos no tratamento substrato ( $p \leq 0,01$ ), apenas para as características CPA e LF (Dados não mostrados).

Para as características espessura de Folha e número de folha não houve diferença significativa entre os diferentes substratos, porém as maiores médias foram obtidas no substrato terra vegetal + areia, com 2,68 mm de espessura de folhas (EF) e de aproximadamente 9 folhas por mudas (Figura 1A e 1C). Em relação a variável largura de folhas (LF), ocorreu diferença significativa entre os substratos, e o melhor resultado (2,47 cm), foi constatado no substrato terra vegetal + areia.

Verificou-se que para as médias obtidas no comprimento de parte aérea dos brotos que foram multiplicados *in vitro*, o melhor resultado foi para o substrato (terra vegetal + areia), seguido do substrato (terra vegetal pura) com os valores respectivos de 16,09 cm e 14,4 cm de altura (Figura 1 D).

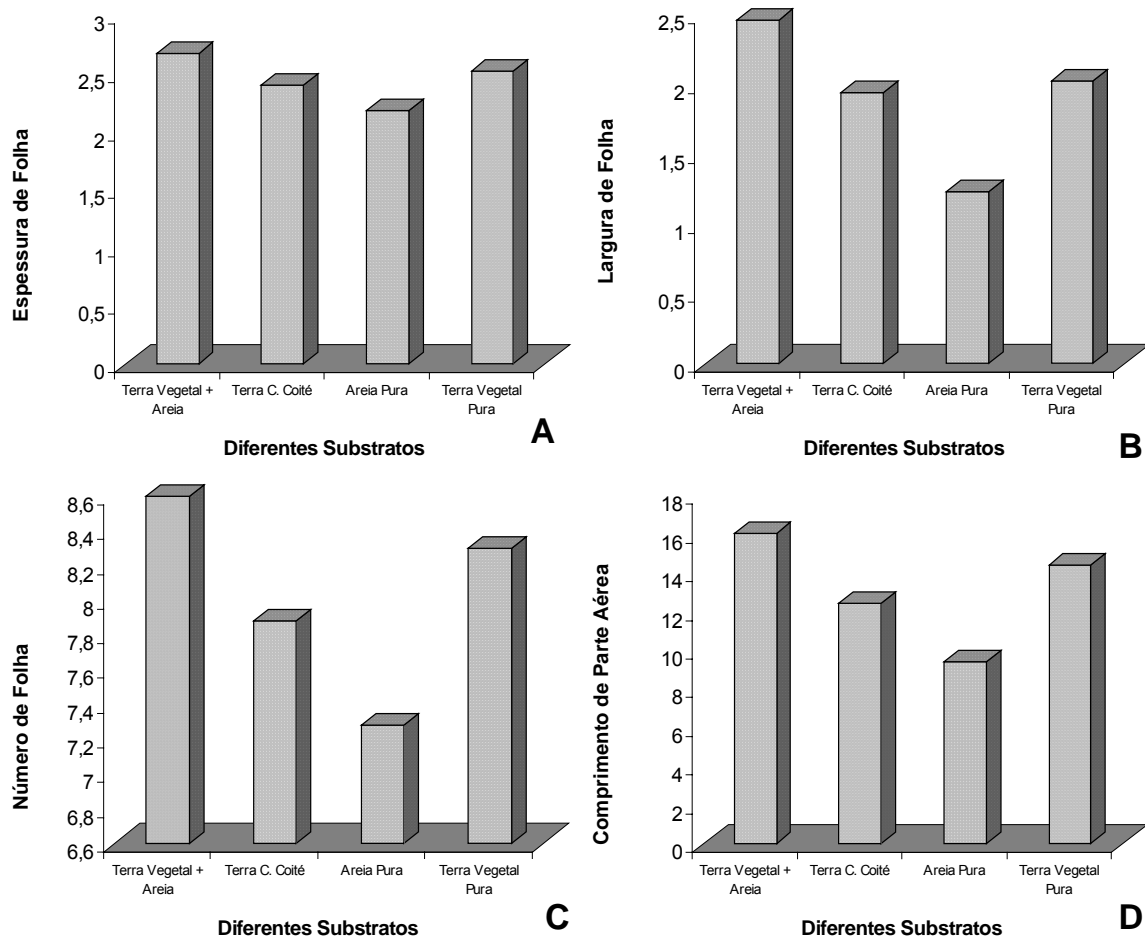


Figura 01: Valores médios obtidos para as características espessura das folhas (EF), número de folhas (NF), Comprimento da parte aérea (CPA) e largura das folhas (LF) em mudas de *Agave sisalana* Per., cultivadas em diferentes substratos.

A taxa de sobrevivência das mudas de sisal aclimatizadas em casa de vegetação com 30% de sombrite, atingiu 100% em todos os substratos no período de 30 dias de aclimatização, porém o tratamento que garantiu o melhor desenvolvimento das mudas foi o substrato terra vegetal + areia (1:1). Resultados semelhantes foram obtidos por Maciel *et al.* (2000), em plantas de violeta onde obtiveram sobrevivência de 100% em todos os substratos testados e sendo o melhor substrato a mistura de areia e composto orgânico, provavelmente por permitir maior aeração para as raízes. Pedrotti & Voltolini (2001), obtiveram altas porcentagens de enraizamento *ex vitro* do porta-enxerto de macieira devido também a aeração do substrato utilizado.

Considerando-se os substratos utilizados neste trabalho, não se verificou interferência no pegamento das mudas de sisal, onde com 15 dias de aclimatizadas já se verificava um aumento do número de folhas e tamanho das mesmas, constatando-se 100% de pegamento das mudas de sisal aclimatizadas (dados não mostrados). Sobrinho *et al.* (2007), também não verificaram a interferência na porcentagem de pegamento das plantas de capim-elefante aclimatizadas.

## CONCLUSÕES

Os substratos utilizados neste estudo não influenciaram a sobrevivência e o pegamento das mudas de sisal micropropagadas durante o processo de aclimatização, mas tiveram influência sobre o crescimento das mesmas.

Recomenda-se o uso de terra vegetal + areia no processo de aclimatização de sisal, por proporcionar um melhor desenvolvimento e crescimento das mudas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DEBERGH, P.C.; READ, P.E. Micropropagation. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H., ed. Micropropagation: technology and application. Amsterdam: Kluwer Academic, 1991. p.1-13

FERREIRA, D. F. SisVar – Versão 4.3. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

FIDELIS, I.; CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; GAVILANES, M. L.; SANTIAGO, E. J. A. Características anatômicas de estruturas vegetativas de *Brosimum gaudichaudii* TRÉC. Desenvolvidas *in vitro* e *in vivo*. Ciênc. agrotec., Lavras, v.24, n.2, p.327-336, abr./jun., 2000.

GEORGE, E.F. Plant propagation by tissue culture; Part 2 in practice. 2.ed. Edington: Exejetics, 1996. 1361p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPE/Embrapa-CNPq, 1998. p. 183-260.

MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, jan./mar. 2000.

MEDINA, J.C. O Sisal. Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. 1954, 286p.

MURASHIGE, T.& SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plantarum, Copenhagen, 15: 473-497, 1962.

PEDROTTI, E.L.; VOLTOLINI, J.A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta enxerto de macieira M.9. Revista Brasileira de Fruticultura, v.23, n.2, p.234-9, 2001.

PIERIK, R.L.M. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Mundi – Prensa, 1990. 326 p.

SILVA, A. B. da; PASQUAL, M; MACIEL, A. L. de R. ; DUTRA, L. F. Bap e substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* lood. hiern.) provenientes de cultura de tecidos Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.2, p.255-260, mar./abr., 2003

SOBRINHO, F. DE S.; PEREIRA, A. V.; LEDO, F. J. DA S.; OLIVEIRA, J. S. E; VARGAS, S. M. Aclimatização de germoplasma de capim-elefante, pós cultivo *in vitro*. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 1, p. 11-15, jan./fev., 2007

PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per., sobrevivência, aclimatização.

#### AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).

## **Estabelecimento *in vitro* e calogênese de *Rosa x hybrida* cv. Vegas.**

Lima, Yohana de Oliveira Ugarelli<sup>1</sup>; Quisen, Regina Caetano<sup>2</sup>; Quoirin, Marguerite<sup>3</sup>; Cuquel, Francine Lorena<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFPR. E-mail: yohana@ufpr.br; <sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental; <sup>3</sup> Professora do Departamento de Botânica da UFPR; <sup>4</sup> Professora do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR.

A rosa é a flor de corte mais comercializada no mercado nacional de plantas ornamentais, com tendência de aumento da área plantada devido a crescente produção voltada para a exportação. As mudas utilizadas pelos produtores são propagadas principalmente por estaquia e enxertia. Estes métodos demandam grande mão de obra além da possibilidade de estarem contaminadas por doenças. A cultura de tecidos permite obter um grande número de mudas sadias num curto espaço de tempo, numa área pequena e com reduzida mão de obra, além de permitir avanços no campo da engenharia genética. Este trabalho teve por objetivo avaliar uma metodologia de assepsia de explantes foliares para o estabelecimento *in vitro* da cultura e, testar diferentes reguladores de crescimento para indução da calogênese, visando a organogênese indireta. Para tanto, folhas jovens de estacas mantidas em sala de crescimento foram tratadas em etanol 70% (v/v) com Tween 20<sup>®</sup> (3 gotas/100 mL) por 1 minuto, e em hipoclorito de sódio 1% (v/v) por 5 minutos, seguidas por 5 lavagens em água deionizada estéril e inoculadas em meio MS/2. Após 7 dias os segmentos foliares desinfestados foram inoculados em meio MS com diferentes combinações de reguladores vegetais, nos seguintes tratamentos: T1 - MS + ANA 0,5 mg.L<sup>-1</sup> + BAP 0,2 mg.L<sup>-1</sup>; T2 - MS + ANA 0,5 mg.L<sup>-1</sup> + BAP 0,5 mg.L<sup>-1</sup>; T3 - MS + ANA 0,5 mg.L<sup>-1</sup> + TDZ 0,2 mg.L<sup>-1</sup> e T4 - MS + ANA 0,5 mg.L<sup>-1</sup> + TDZ 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, sendo após 14 dias avaliadas as porcentagens de contaminação, formação de calo e oxidação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 12 repetições por tratamento. A assepsia permitiu uma desinfestação em 95% dos explantes, entretanto houve perda por oxidação em 40% do material vegetal. A maior porcentagem de calos (83,3%) foi obtida no tratamento 4, não sendo observada contaminação em nenhum dos tratamentos na fase de calogênese.

### **PALAVRAS-CHAVES**

planta ornamental; micropropagação; organogênese indireta; floricultura.

## Organogênese e regeneração de brotos adventícios *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Per).

Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,2</sup>; Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,4</sup>; Lyra, Camila dos Santos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>2</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sandrarqueroz@hotmail.com](mailto:sandrarqueroz@hotmail.com); <sup>3</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup>Prof. Dr. Depto de Biologia - UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

O sisal é um vegetal eminentemente tropical, pertence ao gênero *Agave*, que engloba um grupo bem definido de plantas de consistência herbácea e escapo floral saliente podendo atingir 12 ou mais metros de altura (Silva *et al.*, 1999).

A propagação convencional de sisal pela via sexuada não é desejada, devido ao seu longo período vegetativo de aproximadamente 20 anos (Binh *et al.*, 1990). O cruzamento é prejudicado pelo limitado número de cultivares que carregam flores hermafroditas. A propagação via semente não é freqüente, e ainda assim a descendência sexual tem a desvantagem de exibir espinhos marginais nas folhas, o que não é indicado em clones para a exploração comercial (Medina, 1954). Normalmente o sisal é propagado vegetativamente por bulbilhos e por rebentões. A propagação via rebentão pode causar uma grande desuniformidade quanto ao porte e vigor das plantas, sendo um processo lento, oneroso e com baixas taxas de pagamento.

Uma alternativa para obtenção de mudas uniformes em sisal seria estabelecer uma tecnologia de propagação vegetativa para a formação direta das mudas, o que representará um significativo avanço na cultura do sisal. Então a micropropagação surge como esta alternativa, já que permite um grande número de plantas em pequeno espaço físico e livre de patógenos. Para tal são necessários ensaios que permitam conhecer e avaliar o potencial organogênico dos materiais de interesse (Costa, 2005).

Normalmente, se tem maior sucesso utilizando tecidos jovens, que possuem maior competência organogenética (Peres, 2002). Diferenças significativas na capacidade organogenética *in vitro* são encontradas ao se variar a composição nutricional do meio de cultura. Contudo, os componentes mais otimizados em meio de cultura, são os fitorreguladores (Peres, 2002).

O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor combinação de concentração dos hormônios BAP e ANA para a regeneração e desenvolvimento *in vitro* de brotos adventícios de sisal (*Agave sisalana* Per.).

### MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se como material vegetal, bulbilhos de sisal coletados do escapo floral, em uma plantação de sisal cultivada no município de Conceição do Coité-BA.

A desinfestação foi realizada segundo Queiroz *et al.* (2006). Utilizou-se como explante a base do bulbilho (0,5cm) cortada verticalmente ao meio.

Para a multiplicação *in vitro* empregou-se o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, solidificado com ágar (7,5 g/L), suplementado com ANA e BAP nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L) e (0; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/L), respectivamente. Adicionou-se ao meio o biocida PPM<sup>TM</sup> (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos). Distribui-se 15 mL de meio de cultura em tubos de ensaio (150 x 25mm).

Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de  $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias.

O delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 (BAP x ANA), com 6 repetições e cada uma formada de 5 tubos.

Aos 60 dias foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de brotos adventícios (%B), número de brotos adventícios por explante (NB), número de folhas em brotos adventícios (NF) e comprimento dos brotos adventícios (CB).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software SisVar (Ferreira, 2003). Os dados foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{X+1}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que ocorreram diferenças significativas ( $p < 0,01$ ), para todas as características avaliadas no tratamento isolado de ANA e para as características %B, NB e NFB no tratamento isolado de BAP. Na interação dos hormônios BAP com ANA houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), apenas para a característica NB (Tabela 1).

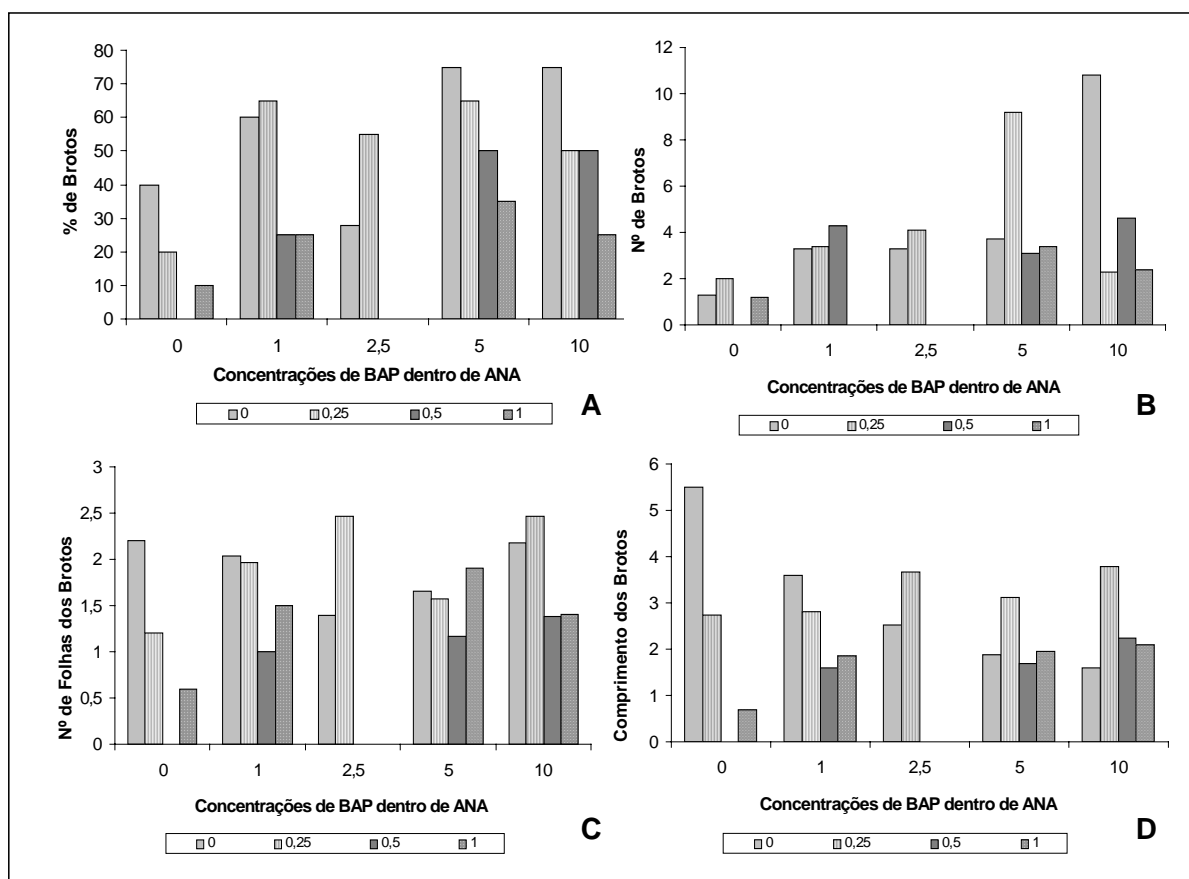
**Tabela 1.** Valores médios para os tratamentos com diferentes concentrações de BAP e ANA para as variáveis: porcentagem de brotos (%B), número de Brotos (NB), número de folhas de brotos (NFB) e comprimento de brotos (CB), em explantes de bulbilhos de sisal (*Agave sisalana* Perrine).

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		%B	NB	NFB	CB
BAP (B)	4	0,106**	3,782**	0,458**	0,380
ANA (A)	3	0,150**	2,228**	1,020**	2,380**
B x A	12	0,016	0,996*	0,153	0,480
Resíduo	84	0,011	0,533	0,121	0,303
CV (%)		8,90	40,71	23,29	32,90
Média Geral		36,78	2,97	1,40	2,18

\*\* e \* = significativo em nível de 1% e 5%, respectivamente. Dados transformados em  $\sqrt{X+1}$ .

Os resultados indicam que a quebra da dominância apical dos explantes resultou numa eficiente técnica para a produção de brotos em sisal cultivados *in vitro* num período de 60 dias. Isso se deu provavelmente pelo desenvolvimento de múltiplos meristemas, que podem ter sido causados pelo corte no tecido do disco da base dos bulbilhos, em combinação com a citocinina utilizada. Boas respostas regenerativas quanto a quebra de dominância apical e o uso de citocininas em cultivos prolongados também foram verificadas por Keller (1991) e Mohamed-Yasseen *et al.* (1994) em espécies de cebola e alho respectivamente.

Na interação dupla BAP dentro de ANA verificou-se para a característica %B, que a maior média obtida foi de 75% de formação de brotos nas concentrações de 5,0 mg/L e 10,0 mg/L de BAP com ausência de ANA. À medida que se aumentava a concentração da auxina, ocorria uma constante queda na formação de brotos adventícios, sendo que em algumas concentrações verificou-se a ausência dos mesmos (Figura 1 A).



**Figura 01:** Médias para dupla interação entre BAP e ANA. **A** – porcentagem de brotos adventícios por explantes (%B); **B** – número de brotos adventícios por explantes (NB); **C** – número de folhas por brotos adventícios (NFB) e **D** – comprimento dos brotos adventícios (CB).

Para a característica número de brotos (NB), os melhores resultados foram para as altas concentrações de citocininas como a de 5,0 mg/L de BAP associado com 0,25 mg/L de ANA e a concentração de 10,0 mg/L de BAP com ausência de ANA, atingindo 9,2 e 10,8 brotos/ explante, respectivamente (Figura 1B). Os brotos apresentaram em média 1,40 folhas por broto (Tabela 1) variando entre 0 e 2,47 folhas por brotos (Figura 1C). Verificou-se que ocorreu uma tendência a diminuição de folhas a medida que aumentava-se as concentrações de ANA e verificou-se que a ausência dessa auxina não interferiu na formação de folhas em brotos de sisal.

Analisando a característica comprimento de brotos (CB) na interação dupla BAP dentro de ANA, observa-se que a maior média (5,51cm), ocorreu no tratamento com ausência de reguladores de crescimento (Figura 1D).

Observou-se que o aumento de brotos na maior concentração de BAP (10,0 mg/L), induziu um baixo comprimento dos mesmos em relação aos produzidos em concentrações menores de BAP na ausência de ANA. Essas respostas estão de acordo com Hartmann *et al.* (2002), onde afirmam que altas concentrações de citocininas induzem muitos brotos, mas podem afetar a qualidade destes, produzindo brotos pequenos e incapazes de alongarem-se, dificultando a separação dos mesmos.

## CONCLUSÕES

A interação BAP e ANA (5,0 mg/L de BAP + 0,25 mg/L de ANA) foi a mais eficiente para a multiplicação e desenvolvimento *in vitro* de brotos adventícios em *Agave sisalana*.

A dosagem 10,0 mg/L de BAP interferiu negativamente no tamanho dos brotos adventícios, apesar de induzir maiores taxas de brotações em sisal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BINH, L. T.; MUOI, L. T.; OANH, T. D.; THANG & PHONG, T. D. Rapid propagation of agaves *in vitro* tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* Vol. 23, 1990.

COSTA, M. A. de C.; CARMO, D. O. do.; SOUZA, F. V. L. D.; MAGALHÃES, G. L. de; HANSEN, D. de S. Efeito de diferentes concentrações de GA3 (ácido giberélico) no alongamento de brotações *in vitro* de Jenipapo (*Genipa americana*). Disponível em [www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvcbf/propagação/705.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvcbf/propagação/705.htm), 2005.

FERREIRA, D. F. **SisVar – Versão 4.3**. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 7 ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002.

KELLER, J. *In vitro* cultivation of *Allium* species: a method for application in plant breeding and germplasm conservation. In: International Symposium on the genus *Allium*: Taxonomic Problems and Genetic Resources, 1991, Gatersleben. Proceedings, Gatersleben, p.137-152, 1991.

MEDINA, J.C. O Sisal. Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. 1954, 286p.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15: 473-497, 1962.

MOHAMED-YASSEEN, Y.; SPLITTSTOESSER, W. E.; LITZ, R.E. *In vitro* shoot proliferation and production of sets from garlic and shallot. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.*, 36: 243-247, 1994.

PERES, L.E.P. Bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, n.25, p.44-48, 2002.

QUEIROZ, S. R. O. D.; RIOS, A. P. S. ; OSUNA, J. T. A.; SANTANA, J. R. F. Estabelecimento *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Perrine) I. Controle da contaminação e da oxidação. *Magistra*, V. 18, n. 3, Julho/Set, p. 130-139, 2006.

SILVA, O. R. R. F.; CARVALHO, O. S.; RAMOS, E. S. B. Cultivo do Sisal no Nordeste. In: SILVA, O. R. R. F.; BETRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Sisal no Brasil**. Brasília, EMBRAPA-SPI; Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999, p. 53-92.

PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per.; Organogênese direta; Indução de brotos.

---

<sup>1</sup> FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).



## Efeito da luz, vedação e carvão ativado na micropropagação de cagaita.

Fernandes, Katryne R. G.<sup>1</sup>; Ximenes, Francimar Alves<sup>2</sup>; Rubio Neto, Aurélio<sup>3</sup>; Rodrigues, Márcio Alexandre<sup>4</sup>; Silva, Fabiano Guimarães<sup>5</sup>; Santana, João Das Graças<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda em Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal - UFV; <sup>2</sup>Biólogo, CEFETRV; <sup>3</sup>Bolsista de IC do CNPq/CEFETRV, discente de graduação; <sup>4</sup>Discente do Curso de Agronomia – FESURV; <sup>5</sup>Prof. Ds. CEFETRV. - Laboratório de Cultura de Tecidos; Rod. Sul Goiana; Km 01, Cx Postal 66; CEP 75901-490; fone (64) 36205617; Rio Verde, Goiás E-mail: [fabianocefetrv@yahoo.com.br](mailto:fabianocefetrv@yahoo.com.br)

### INTRODUÇÃO

A cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] é uma espécie do cerrado da família Myrtaceae. De porte arbóreo, com altura variando de 6 a 8 m de altura e 6 a 8 m de diâmetro de copa, produz de 500 a 2000 frutos por planta, que apresentam de 1 a 3 sementes (Silva *et al.*, 2001).

A espécie é melífera, possui aplicação ornamental e fornece cortiça e madeira para a construção civil. O fruto pode ser consumido *in natura* ou empregado na fabricação de sucos, licores, geléias, doces e sorvetes. A ingestão exagerada dos frutos pode ter efeito laxante, enquanto a “garrafada” das folhas tem ação antidiarréica e é usada também contra problemas cardíacos (Silva *et al.*, 2001; Almeida *et al.*, 1998).

A produção de mudas em larga escala via métodos convencionais de clones selecionados é um grande entrave na implantação de pomares ou fornecimento para programas de reflorestamento. Neste sentido, a micropropagação é uma alternativa eficiente na produção de mudas.

O tipo de vedação afeta a tanto a composição gasosa como o ambiente luminoso nos recipientes, influenciando portanto a ocorrência de hiperidricidade e o crescimento das plantas (Kozai *et al.*, 1997). Na cultura de tecidos, gases como oxigênio, gás carbônico, etileno, aldeído e outros voláteis eventualmente acumulam-se nos frascos e conseqüentemente promovem alterações no desenvolvimento dos tecidos. O etileno pode acelerar os processos de senescência, abscisão foliar e amadurecimento. Já o dióxido de carbono em altas concentrações conduz à anaerobiose, fermentação e produção de álcoois (CARVALHO & VIDAL, 2005).

Outro fator que pode comprometer o crescimento e desenvolvimento *in vitro* é a produção e acúmulo de compostos fenólicos e outros metabólitos no meio de cultura, fato que justifica o emprego de antioxidantes e agentes adsorvedores. A suplementação do meio com carvão ativado pode ser benéfica ou adversa, dependendo de fatores como meio de cultura, tecido usado e os objetivos do pesquisador. Os efeitos deste composto englobam proteção de substâncias presentes no meio contra luz, adsorção de substâncias inibitórias e reguladores de crescimento; e liberação de compostos pelo próprio carvão ativado (PAN & STADEN, 1998).

As condições luminosas também possuem extrema importância no crescimento e desenvolvimento dos explantes. KOZAI *et al.* (1997) ressaltam que a luz é um dos principais fatores do ambiente de cultivo.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da luz, tipo de vedação e utilização de carvão ativado em meio de cultura no crescimento de segmentos nodais de cagaita durante o processo de micropropagação.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os segmentos nodais provieram de propágulos originados da germinação *in vitro* de sementes de cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] conforme discutido por Fernandes *et al.* (2005).

Após a repicagem, segmentos constituídos por 2 a 3 gemas e desprovidos de folhas foram inoculados em frascos com capacidade de 268 mL, contendo 50 mL de meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com 50% da concentração dos sais, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose,

solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, 100 mg.L<sup>-1</sup> de inositol e pH 5,7. Utilizou-se 2 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado ou não, de acordo com o tratamento. Quanto à vedação, avaliou-se parafilme e tampa plástica Biossama<sup>®</sup>. A incubação ocorreu em sala de crescimento à temperatura de 25 °C, e fotoperíodo de 16 horas, no caso dos tratamentos dispostos na luz. Já para os mantidos no escuro, os frascos foram cobertos com papel alumínio.

O experimento foi constituído por um fatorial 2x2x2, sendo 2 tipos de vedação, 2 concentrações de carvão ativado e 2 ambientes. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso (DBC) com 6 repetições, perfazendo 288 unidades experimentais.

Aos 67 dias após a inoculação, o experimento foi avaliado aferindo-se comprimento dos propágulos, número de gemas/explante, número de brotações/explante, número de folhas/explante, número de folhas abscisadas/explante, fitomassa seca dos propágulos e conceito. Esta última característica baseou-se no aspecto visual dos explantes, levando em conta o desenvolvimento de gemas e brotos, além da manifestação de necrose nos mesmos. Os dados foram submetidos a ANOVA e as entre as médias dos tratamentos foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O carvão ativado não exerceu influência sobre as características de folhas avaliadas. Porém, o emprego de carvão ativado exerceu influência positiva no comprimento, número de gemas e brotações por explantes, conceito, e, em menor escala, na fitomassa seca de propágulos (Tabela 1).

Tabela 1: Comprimento, número de gemas/explante, número de brotações/explante, número de folhas/explante, número de folhas abscisadas/explante, conceito e fitomassa seca em propágulos de cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] nas condições testadas. CEFET – RV, Rio Verde – GO, 2005.

Parafilme		Tipo de vedação					
		Ambiente				Tampa plástica	
Escuro		Luz		Escuro		Luz	
Carvão ativado							
Meio I <sup>1</sup>	Meio II	Meio I	Meio II	Meio I	Meio II	Meio I	Meio II
Comprimento (cm)							
0,01Aa(a) <sup>z</sup>	0,19 Aa(a)	0,13 Aa(a)	0,33 Aa(a)	0,00 Ba(a)	0,31 Aa(a)	0,08 Ba(a)	0,45 Aa(a)
Número de gemas/explante							
0,95 Aa(a)	1,47 Aa(b)	1,33 Ba(a)	3,20 Aa(a)	1,06 Ba(a)	2,17 Aa(a)	1,87 Ba(a)	3,00 Aa(a)
Número de brotações/explante							
0,03 Aa(a)	0,17 Aa(b)	0,25 Aa(a)	0,47 Aa(a)	0,00 Ba(a)	0,25 Aa(a)	0,13 Ba(a)	0,42 Aa(a)
Número de folhas/explante							
0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,00 Ab(a)	0,17 Ab(a)	0,00 Aa(b)	0,00 Aa(b)	0,57 Aa(a)	0,81 Aa(a)
Número de folhas abscisadas/explante							
0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,06 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,07 Aa(a)	0,11 Aa(a)
Conceito							
0,47 Aa(a)	0,69 Ab(b)	0,31 Bb(a)	1,22 Aa(a)	0,45 Ba(b)	1,14 Aa(a)	0,93 Ba(a)	1,31 Aa(a)
Fitomassa seca (g)							
0,06 Aa(a)	0,08 Aa(a)	0,07 Aa(a)	0,11 Ab(a)	0,07 Aa(a)	0,08 Aa(b)	0,10 Ba(a)	0,15 Aa(a)

<sup>z</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre carvão ativado, minúscula, entre vedação e entre parênteses, entre ambiente (luz), não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. <sup>1</sup>Meio I refere-se aos tratamentos com meio de cultivo sem carvão ativado. Meio II refere-se aos tratamentos com meio de cultivo suplementado com carvão ativado.

É amplamente aceito que o efeito benéfico do uso de carvão ativado pode ser atribuído à remoção de substâncias inibitórias do meio, produzidas no processo de autoclavagem deste ou liberadas pelo próprio tecido. Muitos estudos têm demonstrado que a adição de carvão ativado geralmente possui efeito promotor no crescimento e organogênese de espécies lenhosas (PAN & STADEN, 1998). A influência benéfica do carvão ativado foi mais visualizada quando os frascos foram vedados com tampa Biossama<sup>®</sup>.

Quanto à vedação dos frascos, foi constatado que o parafilme exerceu influência negativa no número de folhas por explante, conceito e fitomassa, sendo mais pronunciado quando estes foram cultivados na luz.

O efeito de vedação hermética e não-hermética no crescimento *in vitro* de tomate foi estudado por CHANEMOUGASOUNDHARAM et al (2004). Plantas cultivadas em tubos vedados com folhas de alumínio e filme de polipropileno apresentaram maior massa fresca e comprimento, mas maior taxa de senescência e várias anormalidades morfológicas. Vedações não-herméticas como chumaços de algodão promoveram o crescimento de plântulas normais, as quais apresentaram baixa taxa de senescência e maiores níveis de conteúdo de clorofila. De acordo com RUBIN et al (2005), propágulos da espécie medicinal *Alternanthera dentata* obtidas em vedação com algodão apresentaram altura superior que as dos demais tipos de vedação testados. O número de folhas e de brotos, no entanto, foi maior nos frascos vedados com alumínio. As plantas tiveram melhor desenvolvimento na vedação com algodão, apresentando limbo foliar largo com coloração normal verde-escuro, possivelmente devido às maiores trocas gasosas.

O cultivo no escuro exerceu efeito negativo no número de gemas, brotações e folhas por explante, conceito e fitomassa seca. Tais diferenças foram dependentes do tipo de vedação. Esse resultado condiz com os encontrados por MOREIRA-DIAS et al (2000), os quais obtiveram um incremento na formação de ramos na luz em detrimento da incubação no escuro a partir de epicótilos do porta enxerto de laranja "Citrange Troyer *Poncirus trifoliata* Raf. X *Citrus sinensis* Osbeck". Esses resultados podem ser justificados pela importância da luz para o desenvolvimento e crescimento da planta como um todo, envolvendo mecanismos de sinalização e respostas dos tecidos meristemáticos, responsáveis pela multiplicação celular e formação de novos órgãos.

Vale ressaltar que não houve desenvolvimento visível do sistema radicular nos explantes em todos os tratamentos testados.

## CONCLUSÕES

Observou-se que o emprego de carvão ativado tendeu ao favorecimento do desenvolvimento dos explantes de cagaita micropropagados, sobretudo nos tratamentos com tampa Biossama<sup>®</sup>. Diante dos resultados, conclui-se que o carvão ativado, a vedação do frasco e a luz exerceram influência no crescimento dos explantes, porém tais diferenças não são suficientes para inferir, entre os tratamentos testados, qual é o mais adequado para a micropropagação desta espécie. Portanto, novos estudos não necessários para estabelecer melhores para o crescimento *in vitro*, uma vez que o observado não foi satisfatório.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 182 – 186.

CARVALHO, J. M. F. & VIDAL, M. S.; Fatores físicos que influenciam o crescimento e desenvolvimento do cultivo *in vitro*. Campina Grande - PB: **Embrapa-Cnpa**, 2005. p. 19-19.(Embrapa-Cnpa. Documentos, 140).

CHANEMOUGASOUNDHARAM, A.; SARKAR, D.; PANDEY, S.K.; AL-BISKI, F.; HELALI, O.; MINHAS, J. S. Culture tube closure-type affects potato plantlets growth and chlorophyll contents. **Biologia Plantarum**, vol. 48, p. 7-11, 2004.

FERNANDES, K. R. G. ; VASCONCELOS FILHO, S. C. ; SALES, J. F.; XIMENES, F. A ; SILVA, F. G.; SANTANA, J. G. Efeito de diferentes concentrações de GA3 e sais MS na germinação in vitro de sementes de cagaita. **Horticultura Brasileira**, Botucatu - São Paulo, v. 23, 2005.

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through in vitro techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, vol. 51, p. 49-56, 1997.

MOREIRA-DIAS J.M.; MOLINA, R. V.; BORDÓN, Y.; GUARDIOLA, J. L.; GARCÍA-LUIS, A. Direct and Indirect shoot organogenic pathways in epicotyl cuttings of Troyer Citrange differ in hormone requirements and in their response to light. **Annals of Botany**, vol. 85, p. 103-110, 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-493,1962.

PAN, M. J.; STADEN, J. VAN. The use of charcoal in *in vitro* culture – A review. **Plant Growth Regulation**, vol. 26, p.155-163, 1998.

SILVA *et al.*; **Frutas do Cerrado**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001.p.74.

RUBIN, S.; BANDEIRA, J. de M.; FIGUEIREDO, P. M.; LIMA, C. M.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B.; Efeito do tipo de vedação dos frascos no cultivo in vitro de *Alternanthera dentata* (moench) Stuebel ex R.E. Fries. In. **XIV Congresso de Iniciação Científica**, 2005, Pelotas, disponível em [http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/indice\\_CB.html](http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/indice_CB.html), acesso dia 12/06/2007.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Eugenia dysenterica*, Myrtaceae, segmentos nodais, vedação, carvão ativado.

## Germinação *in vitro* de quina (*Strychnos pseudoquina* A. St. Hil.), Loganiaceae.

Vasconcelos, Jaqueline Martins<sup>1</sup>; Leite, Flávia Guimarães Silva<sup>1</sup>; Cardoso, Thálita Vaz<sup>2</sup>; Vasconcelos Filho, Sebastião Carvalho<sup>3</sup>; Silva, Fabiano Guimarães<sup>4</sup>; Sales, Juliana de Fátima<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, FESURV - Universidade de Rio Verde-GO, Fazenda Fontes do Saber - s/n - Rio Verde - Goiás - CEP: 75.901-970; (64) 3620.2200; jaquevasconcelos@hotmail.com; <sup>2</sup>Bolsista de IC do CNPq/CEFETRV, discente de graduação. <sup>3</sup>Mestrando em Botânica, Universidade Federal de Viçosa; <sup>4</sup>Prof. Ds. CEFETRV, fabianocefetriv@yahoo.com.br. Rodovia Sul Goiana, km 01, Rio Verde, GO.

### INTRODUÇÃO

*Strychnos pseudoquina*, popularmente conhecida por quina-de-cerrado, atinge em média 4 metros de altura e pode ser encontrada no cerrado brasileiro. Possui folhas opostas, simples, pecioladas, ápice agudo a obtuso ou ligeiramente acuminado. A floração ocorre de janeiro a abril, e suas flores são pequenas, seu fruto possui baga com cerca de 2 cm, amarela; pericarpo coriáceo; possui de 1 a 4 sementes. O tronco possui casca espessa e rimosa e possui finalidade medicinal (Almeida et al, 1998).

O uso de fitoterápicos no mundo é cada vez maior e o Brasil possui um extensa flora utilizada na medicina. A quina já foi uma das plantas mais utilizadas no país por ser considerada tônica e febrífuga de alto valor, útil no combate as inflamações dos gânglios mesentéricos e as moléstias do fígado, baço e estômago (Almeida et al, 1998).

Reconhecendo a importância regional para a população da região do cerrado da referida espécie na medicina popular e alimentação, torna se necessário o estabelecimento de técnicas que tornem viáveis a multiplicação em larga escala desta espécie.

Este trabalho teve como objetivo estudar a germinação das sementes de quina em diferentes concentrações de meio de cultura e luz (claro e escuro), visando o estabelecimento *in vitro* desta espécie para futuros trabalhos sobre a multiplicação em larga escala.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos do CEFETRV, GO, no período de Outubro de 2006 a Março de 2007. Os frutos de quina (*Strychnos pseudoquina*) foram coletados no início do mês de outubro na região de Montes Claros, GO.

Foram estudadas as concentrações de 0, 25, 50 e 100%, dos sais MS (Murashige & Skoog, 1962) respectivamente MS-0, MS-25, MS-50 e MS-100, suplementados com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH foi ajustado a 5,7. O meio MS 0% continha apenas água destilada. Os tubos de ensaio, contendo 20 mL de meio foram esterilizados em autoclave por 20 minutos a 120°C.

Após toda retirada da polpa, as sementes foram previamente desinfestadas com solução de etanol 70% por 30 segundos e posteriormente em água sanitária concentrada durante 30 minutos. Em seguida, já em câmara de fluxo laminar, foram submetidas em três lavagens com água autoclavada.

A incubação ocorreu em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, em ausência ou presença de 15 µM.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

O delineamento do trabalho foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 (quatro concentrações de sais MS) x 2 (presença e ausência de luz), totalizando 320 unidades experimentais.

A germinação foi avaliada a cada 2 dias até a completa estabilização das germinações, que ocorreu após quatro meses, a fim de se calcular o IVG (Índice de Velocidade de Germinação) e a porcentagem de germinação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independente da ausência ou presença de luz, a maximização da porcentagem de germinação ocorreu em água destilada (MS 0), sendo as demais concentrações inferiores e não diferiram entre si (Tabela 1). Porém, quando se elevou a concentração dos sais MS para 25 e 50%, sementes mantidas em ausência de luz germinaram mais que as mantidas em presença. No meio MS-100 não ocorreram diferenças entre a ausência e presença de luz.

Quanto a velocidade de germinação, o ambiente exerceu efeito idêntico ao verificado para a porcentagem de germinação, sendo superior em ausência de luz nos meios MS-25 e MS-50 e igual nas demais concentrações. Na presença de luz, germinação mais rápida ocorreu em água pura e na ausência de luz nos meios MS-0 e MS-25.

Na germinação de sementes, aquelas espécies que possuem sementes contendo muitas reservas (produto prévio da fotossíntese) geralmente são capazes de germinar no escuro.

Rubio Neto et al., (2005) observou em seu experimento que essas mesmas concentrações dos sais do meio MS não influenciaram a porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação em sementes de gabioba.

Tabela 1: Germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de quina (*Strychnos pseudoquina* A. St. Hil.) submetidas a embebição em diferentes concentrações dos sais MS, ausência e presença de luz.

Concentração dos Sais MS	Luz			
	Presença		Ausência	
	IVG	GERM (%)	IVG	GERM (%)
0	0,061 Aa <sup>z</sup>	62,50 Aa	0,060 Aa	52,50 Aa
25	0 Bb	0 Bb	0,039 ABa	25,00 Ba
50	0 Bb	0 Bb	0,024 BCa	20,00 Ba
100	0 Ba	0 Ba	0,010 Ca	7,50 Ba

<sup>z</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

A melhor porcentagem de germinação de sementes de quina ocorre na ausência de sais MS e de luz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P; PROENÇA, C. E. B; S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p.343-345, 1998.

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

RUBIO NETO, A; XIMENES, F. A; SALES, J. DE F; SANTANA, J. DAS G; SILVA, F. G. Efeito de diferentes concentrações dos sais MS na germinação in vitro de sementes de gabioba. In: **XIX Congresso brasileiro de Fruticultura**, 2006, Cabo Frio. **Anais do XIX Congresso brasileiro de Fruticultura**, p. 330-330, 2006.

PALAVRAS-CHAVES: *Strychnos pseudoquina*, quina do cerrado, germinação, in vitro

## **Efeito da assepsia em sementes após a retirada do tegumento sobre a regeneração, contaminação e o desenvolvimento de propágulos de mamoneira (*Ricinus communis* L.) cultivados *in vitro*.**

Dias, Márcia Maria<sup>1</sup>; Vieira, Jaci Mendes<sup>2</sup>; Nietche, Silvia<sup>3</sup>; Faria, Maria Aparecida Vilela de Rezende<sup>3</sup>; Gonçalves, Nívio Poubel<sup>4</sup>; Pereira, Marlon Cristian Toledo<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós graduação em Agronomia (UFLA - DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 3829-1329, e-mail: [marciamaridias@yahoo.com.br](mailto:marciamaridias@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Graduanda em Agronomia da Universidade Estadual de Montes Claros – Campus de Janaúba;<sup>3</sup> Professores da Universidade Estadual de Montes Claros - Campus de Janaúba (UNIMONTES), CEP 39440-000, Janaúba, Minas Gerais, fone: (38) 3821-2756, e-mail: [marlonsilvia@nortecnet.com.br](mailto:marlonsilvia@nortecnet.com.br); <sup>4</sup> Pesquisador da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Rodovia MGT 122 KM 155, Caixa Postal 12, CEP 39525-000, Nova Porteirinha, MG, fone (38) 38212160, e-mail: [niviopg@epamiq.br](mailto:niviopg@epamiq.br).

### INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.), planta pertencente à família Euphorbiaceae é atualmente difundida em muitos estados brasileiros (Tavora, 1982). Constitui-se em importante atividade econômica e devido à rusticidade que apresenta, se adapta perfeitamente às regiões semi-áridas, atuando na fixação da mão de obra do homem no campo (Monteiro, 2005). A espécie é utilizada para produção de combustíveis renováveis alternativos aos combustíveis fósseis, devido à preocupação atual com a redução de gases poluentes e o aquecimento global (Barbosa, 2006).

A mamoneira é de fácil propagação, no entanto, no campo encontram-se misturadas cultivares produtivas, juntamente com espécies que produzem baixo teor de óleo. A maioria das frustrações pelos agricultores com a cultura é devido ao plantio de sementes não selecionadas (Barros, 1971). Várias espécies são utilizadas nos programas de melhoramento com o objetivo de aumentar a produtividade entre outras características de interesse pelo produtor.

Como forma de regenerar acessos importantes em programas de melhoramento para a seleção de espécies mais produtivas e visando a manutenção da qualidade fisiológica das sementes através das técnicas de cultura de tecidos torna-se necessário estabelecer um método eficaz para a regeneração de sementes da mamoneira. A utilização de sementes submetidas à retirada de tegumento antes da realização de assepsia agiliza o processo de introdução dos eixos embrionários devido à dificuldade de realização do corte destas sementes de tegumento duro dentro da câmara para a retirada dos eixos. No entanto sementes protegidas pelo tegumento apresentam menor contaminação por microrganismos.

Desta forma este trabalho tem como objetivo avaliar a regeneração, incidência de contaminações e o desenvolvimento de propágulos cultivados *in vitro* obtidas de eixos embrionários extraídos de sementes com e sem tegumento, posteriormente submetidas à assepsia.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais da Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, Campus de Janaúba, MG.

Para a condução do experimento, as sementes de *Ricinus communis* L. foram coletadas na Fazenda Experimental do Vale do Gortuba, localizada em Nova Porteirinha, Minas Gerais. Uma semana após a coleta, as sementes foram submetidas à assepsia conforme os tratamentos que foram constituídos de T1- assepsia de sementes inteiras, ou seja, com o tegumento e T2- assepsia de sementes sem o tegumento. A assepsia foi realizada submetendo-se as sementes com o tegumento e após a retirada deste, conforme os tratamentos, à solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo adicionado de 2

gotas de Tween 20 durante 20 minutos e em seguida realizada a tríplex lavagem em água desionizada, permanecendo em imersão durante 22 horas na última água. Posteriormente retirou-se a água e adicionou-se às sementes uma solução fungicida Derosal 0,3% por 10 minutos, em seguida imersas em Sulfato de Estreptomicina 0,3 g.L<sup>-1</sup> durante 10 minutos, e posteriormente em álcool 92,8° GL por 60 segundos e novamente em solução de hipoclorito de sódio 2,5% P/V (peso/volume) adicionada de 2 gotas de Tween 20. Nesta solução as sementes foram levadas para a câmara de fluxo laminar procedendo-se a retirada dos eixos embrionários. Estes eixos foram inoculados em tubo de ensaio contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem regulador de crescimento, suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 0,55% de agar. Ajustou-se o pH do meio para 5,7 e posteriormente procedeu-se a autoclavagem à 120° C durante 20 minutos. As culturas foram submetidas ao escuro por 72 horas e posteriormente mantidas por 37 dias em sala de cultivo com lâmpadas fluorescente do tipo super luz do dia de 40 watts e uma radiação fotossintética ativa de 52 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, temperatura de 25 ± 3°C e fotoperíodo de 16 horas de luz e oito horas no escuro.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (1- assepsia de sementes com tegumento e 2- sem tegumento), 4 repetições e 2 sementes por parcela. Foram avaliadas as seguintes características: porcentagem de regeneração, porcentagem de contaminação, comprimento radicular, comprimento da parte aérea, porcentagem de calos e porcentagem de brotações aos 40 dias após a introdução em meio de cultivo. O comprimento da parte aérea e comprimento da raiz foram medidos com auxílio de régua graduada de 30 cm e as demais características foram avaliadas visualmente. Os dados obtidos foram submetidos ao Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A análise foi realizada com auxílio do programa SISVAR (Sistema de Análise de Variância de Dados Balanceados).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados da tabela 1 ambos os tratamentos de assepsia com e sem o tegumento (93,75 e 100% respectivamente) apresentaram altas porcentagens de regeneração dos eixos embrionários, no entanto a assepsia de sementes após a retirada do tegumento apresentou resultado superior que não diferiu significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A porcentagem de regeneração dos eixos embrionários a partir de sementes de mamoneira das quais foram retiradas os tegumentos foi maior que o observado por Carvalho et al. (2005). Neste estudo, Carvalho et al. (2005) após desinfestar sementes de mamoneira sem tegumento em hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo e uma gota de Tween 20 por vinte minutos, emergiu as mesmas durante 24 horas em água bidestilada estéril e obteve maiores porcentagens de regeneração de plântulas (93,75; 93,75 e 62,5%) nos acessos BRA 12505, BRA 12769 e BRA 12777 do Banco Ativo de Germoplasma.

Tabela 1: Efeito da asepsia em sementes de mamoneira com tegumento e após a retirada do mesmo sobre a porcentagem de regeneração (PRG), porcentagem de contaminação (PCN), comprimento radicular (CPR), comprimento da parte aérea (CPA) porcentagem de calos (PCA), porcentagem de brotações (PBR) obtidos de explantes de *Ricinus communis* L.) Unimontes, Janaúba, MG, 2007.

ASSEPSIA	CARACTERÍSTICAS					
	PRG	PCN	CPR	CPA	PCA	PBR
Com tegumento	93,75 a	0,00 a	9,60 a	4,48 a	6,25 b	0,00 b
Sem tegumento	100,00 a	18,75 a	2,60 b	3,33 a	100,0 a	25,00 a

As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Apesar da maior porcentagem de regeneração obtida de eixos embrionários de sementes com tegumento retirado e posteriormente submetidas à assepsia, este tratamento apresentou 18,75% de porcentagem de contaminação não diferindo significativamente ao nível de 5% de probabilidade (tabela 1) em relação às sementes tratadas sem o tegumento em que não foram observadas contaminações.

Rocha et al. (2004) também não observou contaminação de eixos embrionários de sementes de mamoneira da cultivar Nordestina embebidas em água estéril por 24 horas e desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo adicionado de uma gota de Tween 20/100L de solução.

Em relação às características relacionadas ao desenvolvimento de propágulos de mamoneira (tabela 1), os eixos obtidos de sementes com tegumento apresentaram melhores resultados. Para o comprimento da parte aérea dos propágulos, o resultado superior obtido a partir de eixos embrionários de sementes submetidas à assepsia com tegumento (4,48 cm) não diferiu estatisticamente do observado em sementes que tiveram o tegumento retirado antes da realização da assepsia (3,33 cm). Semelhantemente o comprimento radicular foi maior em propágulos obtidos de eixos embrionários de sementes com tegumento (9,60), no entanto, para esta característica houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade quando comparadas aos propágulos oriundos de sementes sem tegumento (2,60 cm). Resultados semelhantes foram obtidos por Nunes (2007) na cultura de embriões *in vitro* de *Jatropha curcans*, a qual apresentou maior comprimento de parte aérea de 4,03 cm aos 30 dias, porém, deve-se enfatizar que no embrião existem reservas nutricionais nos cotilédones.

Quanto às porcentagens de calos e brotações, estas foram maiores no tratamento do qual as sementes tiveram retirados os tegumentos diferindo significativamente entre si para ambas as características, demonstrando-se que houve influência da assepsia sobre as sementes com tegumentos ausentes com relação à formação de calos e porcentagem de brotações, uma vez que estas se desenvolveram a partir dos calos.

## CONCLUSÕES

Os eixos embrionários de sementes sem tegumento submetidas à assepsia propiciaram maiores porcentagens de regeneração, formação de calos e brotações, enquanto que a partir de eixos de sementes com tegumento obteve-se propágulos mais desenvolvidos e com menor percentual de contaminação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, R. L. **Desempenho comparativo de um motor de ciclo diesel utilizando diesel e misturas de biodisel**. 2006. 55p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BARROS, M. R. **Mamona também pode ser lucrativa**. Cerrado, Brasília, 4(13): 11-3, 1971.

CARVALHO, J. M. F. C.; RIBEIRO, C. S. N.; SILVA, H.; SANTOS, J. W. Propagação In Vitro e Aclimação a partir de Sementes Inviáveis Armazenadas no Banco Ativo de Germoplasma de Mamona. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Algodão - Campina Grande, PB. N. 64, p.12, 2005.

MONTEIRO, J. V. **Produtividade da mamoneira ‘ Al Guarany 2002’ (*Ricinus communis* L.) em função de diferentes arranjos populacionais**. 2005. 89p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão-manso (*Jatropha curcans* L.)**. 2007. 78p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROCHA, M. S.; OLIVEIRA, K. C.; COSTA, M. N.; CUNHA, A. O.; CARVALHO, J. M. F. C.; SANTOS, J. W. Métodos de regeneração *in vitro* da mamoneira a partir de diferentes tipos de explantes. **Revista Brasileira de Oleaginosas e fibrosas**. Campina Grande, PB. v. 7, n. 1, p. 647-652, Jan/abr. 2003.

TAVORA, F. J. A. F. **A cultura da mamona**. Fortaleza, EPACE-CEARÁ, 1982, 112p.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Ricinus communis* L., mamoneira, cultivo *in vitro*, sementes, eixos embrionários.

---

Agradeço à Fapemig pela concessão da bolsa de estudos durante a Graduação.

## **Estabelecimento *in vitro* de Caju-de-Árvore-do-Cerrado a partir de segmentos nodais inoculados em diferentes concentrações dos sais MS em ausência e presença de luz.**

Lima, Rafael Espósito de<sup>1</sup>; Rubio Neto, Aurélio<sup>1</sup>; Ximenes, Francimar Alves<sup>2</sup>, Santana, João das Graças<sup>3</sup>, Silva, Fabiano Guimarães<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente do curso de Tecnologia em Produção de Grãos do CEFETRV. Bolsista IC CNPq/CEFET/RV, e-mail: rafhael\_tpg@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Biólogo. <sup>3</sup>Professor Doutor do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde. Rod. Sul Goiana, km 01, s/n, Rio Verde, GO, fone: (64) 36215617 CEP 75901970. e-mail: fabianocefetrv@yahoo.com.br.

### **INTRODUÇÃO**

O Cerrado está localizado basicamente no Planalto Central do Brasil sendo segundo maior bioma do país em área, apenas superado pela Floresta Amazônica (Sano & Almeida, 1998).

Ao longo do tempo, a ação direta e constante das queimadas e do desmatamento vem exercendo uma enorme pressão sobre a fauna e flora, contribuindo de forma significativa para a extinção de muitas espécies animais e vegetais, incluindo as fruteiras nativas, base de sustentação da vida silvestre e fonte de alimentos de fundamental importância na dieta alimentar dos índios e das populações rurais. Se essa exploração indiscriminada continuar, muitas espécies serão extintas antes mesmo de se tornarem conhecidas (Silva *et al.*, 2001).

A cultura de tecido tem como definição básica o cultivo asséptico de qualquer parte viva da planta (explantes) constituído por frações de tecidos, órgãos ou mesmo células em suspensão em meio de cultura sintético (nutrientes, reguladores de crescimento, etc.) sob condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade, para gerar uma nova planta. Esta técnica baseia-se, principalmente, na capacidade de células, tanto animal quanto vegetal de dar origem a novas células e, por conseguinte indivíduos, exatamente iguais à célula mãe. Esta propriedade é conhecida como totipotencialidade.

Algumas vantagens do uso da micropropagação em comparação com os sistemas convencionais de propagação são: incremento acelerado do número de plantas derivadas por genótipo, para obtenção de metabólitos importantes; redução do tempo de multiplicação; possibilidade de multiplicar grandes quantidades de plantas em uma área reduzida a baixos custos; maior controle sobre a sanidade do material propagado; facilidade para transporte do material *in vitro* de um lugar para outro (país ou região); intercâmbio de germoplasma; possibilidade de multiplicar rapidamente uma variedade da qual só exista poucos indivíduos, e criação e manutenção de bancos de germoplasma (Lameira *et al.*, 2000).

O objetivo do experimento foi avaliar o crescimento de explantes de caju-de-árvore-do-cerrado na ausência e presença de luz sobre diferentes concentrações dos sais MS (100, 50 e 25%), suplementados com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,1 g.L<sup>-1</sup> de inositol, 4 g.L<sup>-1</sup> de Agar, 2 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativo, 30 µm de BAP e autoclavados a 121 °C, sob pressão de 1,5 atm, por 20 minutos. As plantas matrizes foram pulverizadas 48 e 24 horas antes da coleta dos explantes com fungicida sistêmico Derozal<sup>®</sup> (2 mL.L<sup>-1</sup>).

### **MATERIAL E METÓDOS**

Os segmentos nodais contendo aproximadamente 1 centímetro de comprimento foram coletados em dezembro de 2006 de plantas *in vivo* (figura 1) semeadas em outubro de 2006 em casa-de-vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos, do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde. Para a desinfestação, os explantes foram submersos por 15 minutos em água corrente com 10 gotas de detergente comercial neutro, 30 segundos em álcool 70%, 15 minutos em água sanitária comercial (20%) com teor de cloro ativo de 2,0 a 2,5, sob agitação. Já na câmara de fluxo laminar, foram realizados 3 enxágües com água destilada e autoclavada. Em seguida, foram inoculados em tubos de ensaio (25 x 150 mm), contendo 10 mL de meio.

A incubação ocorreu em sala de crescimento com temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  com fotoperíodo de 16 horas com irradiância de  $15\text{ }\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e ausência de luz.

O experimento foi implantado em esquema fatorial 2 (presença e ausência de luz) x 3 [concentração dos sais MS (Murashige & Skoog, 1962)]. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados (DBC), com quatro blocos de dez repetições cada, perfazendo 240 unidades experimentais.

Ao final de 60 dias o experimento foi avaliado por meio das características de porcentagem de explantes contaminados, presença de brotações, número de brotações por explante, comprimento das brotações, número de folhas por explante, conceito, número de gemas por explante e presença calo. Para a característica conceito, atribuiu-se notas de zero a três, onde a nota zero foi atribuída aos explantes necróticos e/ou vitrificados; nota um, aos explantes com início de necrose e com brotações, ou não necróticos e sem a presença de brotações; nota dois, aos explantes com presença de brotação; e nota três, aos explantes com brotações vigorosas.



Figura 1: Plantas jovens de Caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.), com aproximadamente 2 meses, cultivadas em casa-de-vegetação.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

As concentrações dos sais MS não exerceram influência em nenhuma das características avaliadas (Tabela 1). Observação semelhante foi realizada para o ambiente de cultivo, onde apenas para o comprimento das brotações, as plantas cultivadas em meio MS 50%, e no escuro foram maiores. O número de folhas de plantas cultivadas em meio MS 100% foi superior na presença de luz. Por último, em meio MS 50%, o número de gemas foi superior em ausência de luz. As demais características avaliadas, não foram influenciadas pelas concentrações dos sais MS ou ambiente.

Tabela 1. Crescimento de segmentos nodais de Caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.), cultivados em diferentes concentrações dos sais MS.

<b>Concentração dos sais MS</b>			
Ambiente	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>
Contaminação (%)			
Claro	35,0 a <sup>z</sup>	57,5 a	42,5 a
Escuro	32,5 a	45,0 a	42,5 a
Presença de Brotações (%)			
Claro	41,00 a	72,00 a	43,00 a
Escuro	48,00 a	80,00a	55,00 a
Número de brotações/explante			
Claro	0,44 a	0,86 a	0,46 a
Escuro	0,62 a	1,04 a	0,63 a
Comprimento de brotações (cm)			
Claro	2,59 a	2,44 b	1,78 a
Escuro	7,90 a	14,15 a	5,69 a
Número de folhas/explante			
Claro	0,85 a	0,59 a	0,41 a
Escuro	0,17 b	0,14 a	0,03 a
Conceito			
Claro	1,08 a	1,40 a	0,93 a
Escuro	1,20 a	1,58 a	1,19 a
Número de gemas/explante			
Claro	1,19 a	1,05 b	1,13 a
Escuro	1,71 a	2,33 a	1,50 a
Presença de calo (%)			
Claro	5,00 a	0,00 a	0,00 a
Escuro	0,00 a	4,00 a	5,00 a
Explantos vitrificados (%)			
Claro	12,00 a	11,00 a	7,00 a
Escuro	0,00 a	0,00 a	0,00 a

<sup>z</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Os meios de cultura e os ambientes utilizados não apresentaram grandes diferenças. Concluimos que para melhor o cultivo e contenção de gastos o melhor meio de cultura a ser utilizado é o MS 50%. Contudo futuros estudos ainda devem ser feitos para estudar as exigências hormonais desta espécie.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Lameira, O.A.; LEMOS, O.F.; MENEZES, I.C. de; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de Tecidos (manual)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 41p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 66).

SILVA, D.B. da; SILVA, A.S. da; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. de. **FRUTAS do CERRADO**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 178p.

SANO, L. M.; ALMEIDA, S.P. de. **CERRADO ambiente e flora**. Planaltina, 1998. 285p.

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

PALAVRA CHAVE: *Anacardium othonianum* Rizz., Caju-de-Árvore-do-Cerrado, Anacardiaceae, explantes.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde pela oportunidade e ao PIBIC/CNPq-CEFETRV pela concessão da bolsa dos dois primeiros autores.

## Calogênese e brotações *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Per.) induzidas por diferentes concentrações de citocininas e auxina.

Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,2</sup>; Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,4</sup>; Lyra, Camila dos Santos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>2</sup>Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sangueroz@ig.com.br](mailto:sangueroz@ig.com.br); <sup>3</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. Fisiologia Vegetal, Coordenador do LCTV – UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

O sisal (*A. Sisalana* Perrine) é uma espécie provavelmente nativa da península de Yucatan, no México, onde é designada pelo nome de Maia de “Yaxci”, porém tanto a fibra como a planta é conhecida mundialmente pelo nome de sisal (Medina, 1954).

Além de planta ornamental, é a principal fonte de extração de fibras duras vegetais. O Brasil é o principal produtor mundial e exportador da fibra dura do sisal. Em 2004, já representava 62,5 % da produção mundial, com 191,7 mil toneladas (A Tarde, 2005). A cultura do sisal na Bahia está sofrendo grandes perdas devido às doenças causadas por fungos. A principal delas é a podridão vermelha do tronco, ou simplesmente podridão do tronco do sisal. A incidência desta doença varia bastante entre as regiões de cultivo; em algumas, não ultrapassa 5% da área e, em outras, pode alcançar 40% de infestação (Alves *et al.*, 2004). As plantas de sisal resistem a doença por um determinado tempo, embora seja fatal para a cultura (EMBRAPA, 2005).

A propagação vegetativa do sisal se dá por bulbilhos e por rebentões (Silva *et al.*, 1999). Essa propagação no campo é muito lenta, sendo insuficiente para uma produção massiva de plantas com tanto valor comercial, como é o caso desta espécie. Além disso, várias doenças, principalmente as sistêmicas, podem ser transmitidas para as sucessivas gerações por meio desse tipo de propagação.

Devido a grande importância econômica desta espécie e da grande demanda de mudas, há necessidade de se acelerar o processo de propagação. Assim, a propagação *in vitro* utilizando bulbilhos como material vegetal pode ser uma técnica viável para o sisal.

Estudos realizados na Índia demonstraram que plantas de *A. sisalana* podem ser propagadas *in vitro* com sucesso via organogênese direta e indireta (Nikan, 1997; Hazra *et al.*, 2002a, Hazra *et al.*, 2002b).

O Objetivo desse estudo foi obter resultados preliminares quanto a indução *in vitro* de calos e brotos em explantes de sisal cultivados em meio suplementado com diferentes concentrações de BAP, KIN e ANA.

### MATERAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

Utilizou-se, como fonte de explante, bulbilhos de sisal retirados do escape floral, que foram desinfestados segundo Queiroz *et al.* (2006). Os explantes foram extraídos por cortes transversais realizados na base dos bulbilhos (1 cm). Na multiplicação *in vitro* utilizou-se o meio

de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, solidificado com ágar (7,5 g/L), suplementado com ANA, BAP e KIN nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L), (0; 1,0; 2,5; 5,0) e (0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L), respectivamente sozinhos ou em combinações entre ANA e as citocininas. Adicionou-se ao meio o biocida PPM™ (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos).

Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de  $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias.

Foram avaliadas as variáveis: porcentagem de calos (%C), porcentagem de brotos (%B) e número de brotos (NB).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software SisVar (Ferreira, 2003). Os dados foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$ .

## RESULTADOS

Verificou-se diferenças significativas à 1% para porcentagem de calos (%C) em todos os tratamentos utilizados (BAP, KIN e ANA) como também para as interações. Para a característica porcentagem de brotos (%B), observou-se significância ( $p < 0,01$ ) para KIN e BAP, e para a interação dupla entre KIN e ANA. Para número brotos, os tratamentos KIN e BAP, como também na interação dupla entre BAP e ANA, apresentaram efeitos com diferenças significativas (dados não mostrados).

O melhor tratamento para a porcentagem de calos (%C) foi constatado com o balanço entre os reguladores ANA e KIN, onde se alcançou uma taxa de 100% de calos induzidos na concentração de 0,5 mg/L KIN associada com 1,0 mg/L ANA (Figura 1A). Para a interação BAP e ANA, o melhor resultado (81%) foi observado na ausência de BAP e 0,5 mg/L de ANA (Figuras 1 B; 2A).

Neste experimento não houve a formação de calos na ausência de ANA, independente da citocinina utilizada (BAP; KIN). A associação de ANA com KIN foi muito eficiente para a produção de calos em sisal.

Na regeneração de brotos verificou-se que a medida que se aumentava a concentração de BAP na ausência de ANA, ocorria a maior produção de brotos, contudo o máximo alcançado foi 44%, de brotos regenerados (Figura 1D) Já para as concentrações de KIN associadas a Ana ocorreu a maior porcentagem (40%) quando utilizou-se 1,5 mg/L de KIN associada a 0,25 mg/L de ANA (Figura 1C). A citocinina BAP mostrou-se mais eficiente na formação de brotos em sisal, quando comparado com KIN, independente da concentração de ANA.

Quanto ao número de brotos formados, as concentrações de KIN utilizadas neste estudo foram ineficientes para a proliferação de brotos, tendo em média 1 broto por explante (Figura 1E). Já para as concentrações de BAP houve uma média de 5 brotos por explantes para as concentrações de 2,5 e 5,0 mg/L na ausência de ANA (Figuras 1F; 2B). Carvalho *et al.* (2000) constataram resultados semelhantes em algodão, utilizando as mesmas citocininas. Os autores observaram que a cinetina (KIN) não teve efeito na indução dos brotos, mas que o BAP sozinho, ou associado a cinetina, induziu superbrotamento sendo o melhor meio de indução de brotos foi o suplementado com 2,5 mg/L de BAP. Os resultados neste estudo foram bastante satisfatórios na otimização de brotos em explantes de bulbilhos de sisal, sendo que o número de brotos obtidos foi igual ou superior ao encontrado por Binh *et al.*, (1990) em espécies do gênero *Agave*. Esses autores obtiveram para *A. sisalana* 4 a 5 brotos por explante, utilizando rizoma e folha como explantes e KIN e ANA como reguladores de crescimento.



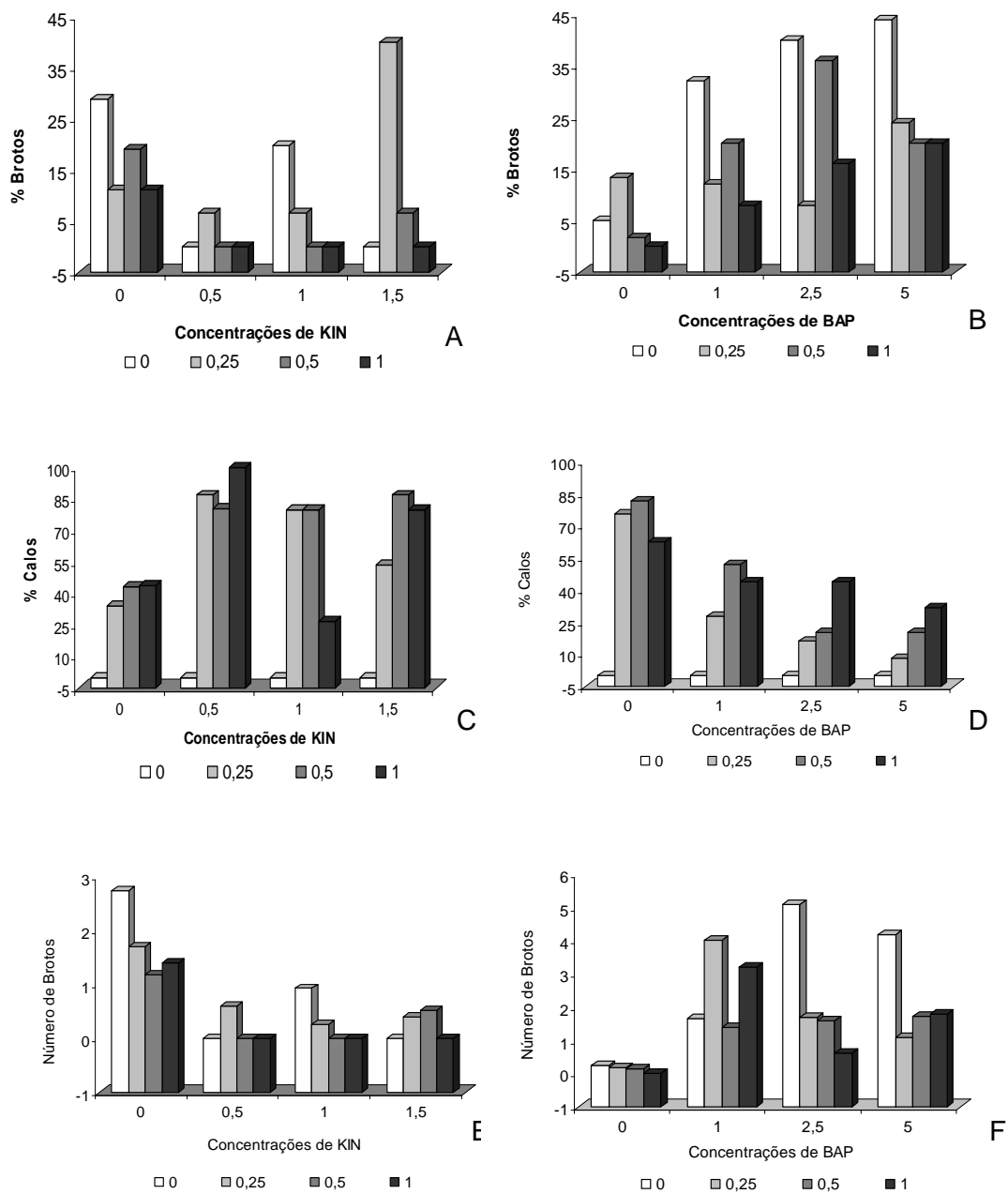


Figura 1: Médias para as duplas interações para as variáveis: A – porcentagem de calos (%C) ANA e KIN; B – porcentagem de calos- ANA e BAP; C – porcentagem de brotos (%B) ANA e KIN e D – porcentagem de brotos - ANA e BAP; E – número de brotos (NB) ANA e KIN e F – número de brotos - ANA e BAP.

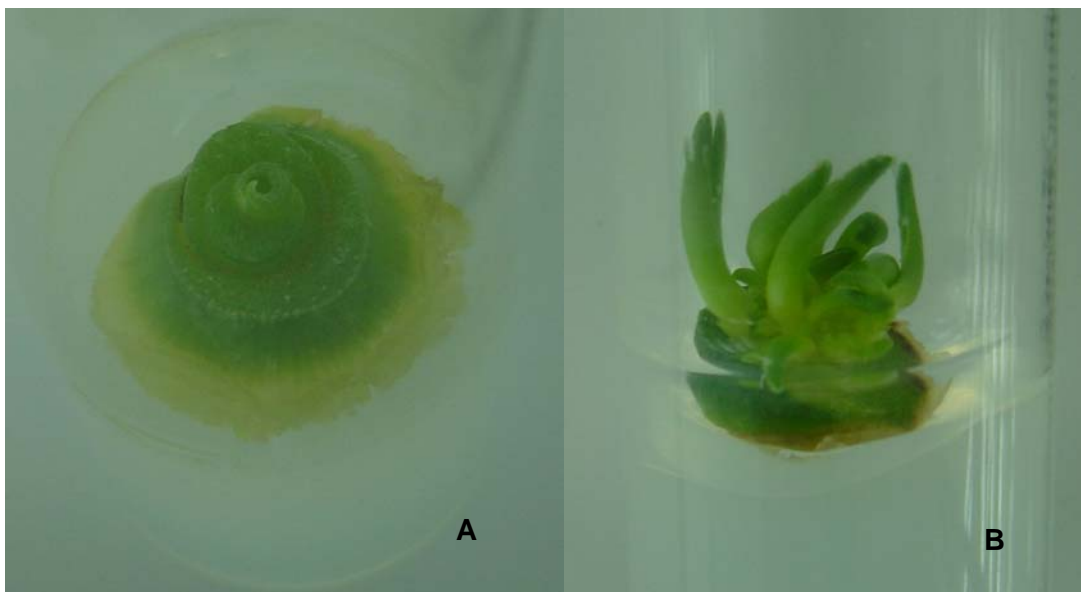


Figura 2. Explantes de sisal com A- Calo; B- Brotos.

## CONCLUSÕES

A utilização de KIN não foi eficiente para indução de brotos, porém o seu balanço com ANA proporcionou uma satisfatória produção de calos.

Brotos de sisal podem ser induzidos utilizando-se BAP (2,5 e 5,0 mg/L) associado ou não com ANA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALVES, M. O.; SANTIAGO, E. S.; LIMA, A. R. M. **Diagnóstico socioeconômico da região nordestina produtora de sisal** (versão preliminar). Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2004. 75p.

A TARDE – **Em busca da melhoria do sisal**. Salvador, segunda-feira, 18/04/2005, p. 3.

BINH, L. T.; MUOI, L. T.; OANH, T. D.; THANG & PHONG, T. D. Rapid propagation of agaves *in vitro* tissue culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Vol. 23, 1990.

CARVALHO, J.M.F.C.; SOUZA, D.M. de; SANTOS, J.W. dos. Indução de superbrotamento e regeneração de planta *in vitro* na cultivar de algodão CNPA 7H. **Revista de oleaginosas e fibrosas**, Campina Grande, v.4, n.2, p. 61 - 65, maio – ago. 2000.

EMBRAPA. **Informações gerais sobre o sisal**. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/>> - Acesso em: 13 de outubro de 2005.

FERREIRA, D. F. SisVar – Versão 4.3. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Sisal plant regeneration via organogenesis. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 70, n. 3, p. 235-240, 2002a.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Plant regeneration via somatic embryogenesis in *Agave sisalana* Perr. Ex Engelm. **Phytomorphology**, v. 70, n. 2-3, p. 217-222, 2002b.

MEDINA, J.C. O Sisal. **Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo**. 1954, 286p.

MURASHIGE, T.& SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, 15: 473-497, 1962.

NIKAM, T. D. High frequency shoot regeneration *Agave sisalana*. **Plant Cell Tissue and Organ culture**. V. 51, n.3, p. 225-228, 1997.

QUEIROZ, S. R. O. D. ; RIOS, A. P. S. ; OSUNA, J. T. A.; SANTANA, J. R. F. Estabelecimento *in vitro* de sisal (*Agave Sisalana* Perrine) I. Controle da contaminação e da oxidação. **Magistra**, V. 18, n. 3, Julho/Set, p. 130-139, 2006.

SILVA, O. R. R. da. **O Agronegócio do sisal no Brasil**. / organizado por Odilon Reny Ribeiro da Silva; Napoleão Esberard de M. Beltrão. – Brasília: Embrapa-SPI Campina Grande: Embrapa-CNPA, 205p, 1999.

PALAVRAS – CHAVE :

*Agave sisalana* Per., calos, brotos

AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).

## **Efeito de diferentes fungicidas na descontaminação de segmentos nodais de mangueira (*Mangifera indica* L.)**

Oliveira, Welmo da Costa<sup>1</sup>; Andrade, Solange Rocha Monteiro de <sup>2</sup>; Faleiro, Fábio Gelape<sup>2</sup>.; Santos, João Batista<sup>3</sup>; Neto, José<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Graduação, Universidade de Brasília; [welmocosta@yahoo.com.br](mailto:welmocosta@yahoo.com.br) <sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Cerrados, BR 020 Km 18, Planaltina\_DF; [solange@cpac.embrapa.br](mailto:solange@cpac.embrapa.br), <sup>3</sup>Técnico laboratório Embrapa Cerrados.

O Brasil situa-se entre os dez maiores produtores de manga no mundo, sendo Tommy Atkins a cultivar de maior expressividade na produção nacional de manga. O desenvolvimento de um protocolo de organogênese de segmentos nodais de mangueira tem sido um desafio, devido ao problema de contaminação por microrganismos, principalmente de explantes provenientes de matrizes de campos experimentais. Visando controlar a contaminação por fungos, buscou-se avaliar efeito *in vitro* de quatro fungicidas adicionados ao meio MS. Segmentos nodais da cultivar Tommy Atkins foram coletados no campo experimental da Embrapa Cerrados, submetidos à descontaminação superficial e inoculados em meio MS contendo fungicidas nos seguintes tratamentos: 2 g.L<sup>-1</sup> de Tebuconazole (Folicur 200 CE ); 2 g.L<sup>-1</sup> de Mancozeb (Manzate 800); 2 g.L<sup>-1</sup> de Promicidona (Sialex 500); 2 g.L<sup>-1</sup> de Benzimidazol (Derosal) e testemunha sem fungicida. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, em arranjo de parcela subdividida, sendo as parcelas formadas pelas 10 épocas de avaliação e as subparcelas formadas pelos 4 fungicidas +controle, totalizando 50 tratamentos, sendo a unidade experimental formada por dez vidros contendo um explante. As avaliações foram realizadas a cada 3 dias, observamos que a atuação dos fungicidas se evidencia a partir do 7 dia, inibindo o aparecimento de fungos. As análises estatísticas demonstraram que houve diferença significativa no efeito dos fungicidas, e que o princípio Tebuconazole apresentou maior eficiência no controle de fungos presentes na superfície do explante, com 20% de contaminação aos 24 dias após a inoculação. Os outros tratamentos não apresentaram o mesmo desempenho, sendo o tratamento com Manzate o de menor eficiência, com 45% de contaminação aos 45 dias após a inoculação.

### **PALAVRAS-CHAVES:**

*Mangifera indica*, descontaminação, fungicidas, organogênese

## **Estudo comparativo da indução de calogênese em três genótipos de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.) - CNPA 8H, CNPA 96117 e CNPA 981004.**

ALOUFA, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>1</sup> ; CÂMARA, Marianne de Mélo Arruda<sup>2</sup> ; SOUSA, Emerson de Medeiros<sup>3</sup> ; SILVA, Kleptura de Oliveira e<sup>4</sup> ; LIMA, Jailma Almeida de<sup>5</sup> ; LIMA, Simone Cassiano de<sup>6</sup> ; CAVALCANTI, Lony Lacerda<sup>7</sup>.

<sup>1</sup>Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)- Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Campus Universitário Lagoa Nova, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Natal, Rio Grande do Norte, fone: (84) 3211-9205, email: [magdi-aloufa@bol.com.br](mailto:magdi-aloufa@bol.com.br); <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente (UFRN), email: [mariannebio@hotmail.com](mailto:mariannebio@hotmail.com); <sup>3</sup>Aluno de iniciação científica (UFRN), email: [emerson\\_bioufrn@yahoo.com.br](mailto:emerson_bioufrn@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestre, pesquisadora da UFRN, email: [kletinha@hotmail.com](mailto:kletinha@hotmail.com); <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Bioquímica, email: [biolottus23@yahoo.com.br](mailto:biolottus23@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (UFRN), email: [biodarwin@yahoo.com.br](mailto:biodarwin@yahoo.com.br); <sup>7</sup>Aluno de graduação (UFRN), e-mail: [lonymat@yahoo.com.br](mailto:lonymat@yahoo.com.br).

A indução de calos constitui uma técnica de grande importância para a obtenção de variantes somaclonais e submissão destes a uma pressão de seleção para regeneração de plantas de interesse agrônomo. O trabalho teve como objetivo comparar a indução de calogênese em três variedades de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.) via cultura de hipocótilo. Sementes das variedades CNPA 8H, CNPA 96117 e CNPA 981004 foram esterilizadas em álcool a 70% (por cinco minutos) e hipoclorito de sódio a 2% (por vinte minutos), e lavadas em água destilada e estéril. Posteriormente, foram depositadas em frascos contendo 30 mL de água destilada e estéril e papel filtro, para a germinação das mesmas. Após dois dias da germinação, segmentos de hipocótilo medindo 01cm de comprimento foram retirados das plântulas germinadas *in vitro* e inoculados em meio MS suplementado com 30g/L de sacarose, 0,1g/L de mio-inositol, 8g/L de ágar e os hormônios KIN e NAA, cada um na concentração de 1,5 mg/L, para a indução de calogênese; cada unidade experimental recebeu um segmento. Foram utilizadas dez unidades experimentais com 03 repetições para cada variedade. Os calos foram analisados quanto à taxa de indução de calos, taxa de oxidação, taxa de contaminação, de sobrevivência e peso da matéria fresca. Os resultados demonstram que a variedade CNPA 8H apresentou a maior taxa de indução de calogênese (72%); a taxa de sobrevivência foi 36%, peso médio de 0,388g, taxa de oxidação de 41,52% e a taxa de contaminação foi 20%. A variedade CNPA 96117 obteve taxa de indução de calo de 54,5%, sobrevivência de 18,1%, peso médio de 0,418 g, oxidação de 18,65% e contaminação de 45,4%. A variedade CNPA 981004 apresentou taxa média de indução de calogênese de 60%, taxa de sobrevivência de 10%, peso médio de 0,592g, oxidação de 34,78%, e taxa de contaminação de 65%. Conclui-se que a variedade CNPA 8H foi mais responsiva à indução de calogênese.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Gossypium hirsutum*; cultivo *in vitro*; indução de calogênese; regeneração de plantas.

## **Embriogênese Somática indireta e respostas morfogenéticas *in vitro* de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.).**

ALOUFA, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>1</sup>; CÂMARA, Marianne de Mélo Arruda<sup>2</sup>; SOUSA, Emerson de Medeiros<sup>3</sup>; SILVA, Kleptura de Oliveira e<sup>4</sup>; LIMA, Jailma Almeida de<sup>5</sup>; LIMA, Simone Cassiano de<sup>6</sup>; CAVALCANTI, Lony Lacerda<sup>7</sup>.

<sup>1</sup>Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)- Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Campus Universitário Lagoa Nova, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Natal, Rio Grande do Norte, fone: (84) 3211-9205, email: [magdi-aloufa@bol.com.br](mailto:magdi-aloufa@bol.com.br); <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente (UFRN), email: [mariannebio@hotmail.com](mailto:mariannebio@hotmail.com); <sup>3</sup>Aluno de iniciação científica (UFRN), email: [emerson\\_bioufrn@yahoo.com.br](mailto:emerson_bioufrn@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestre, pesquisadora da UFRN, email: [kletinha@hotmail.com](mailto:kletinha@hotmail.com); <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Bioquímica, email: [biolottus23@yahoo.com.br](mailto:biolottus23@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (UFRN), email: [biodarwin@yahoo.com.br](mailto:biodarwin@yahoo.com.br); <sup>7</sup>Aluno de graduação (UFRN), e-mail: [lonynat@yahoo.com.br](mailto:lonynat@yahoo.com.br).

A embriogênese somática indireta é realizada por meio da indução de calos, constituindo uma técnica importante em programas de melhoramento de plantas. O calo corresponde a uma massa de células desorganizadas e parcialmente indiferenciadas, que variam quanto ao tipo, tamanho, conteúdo celular e espessura da parede celular, e que apresenta alta variabilidade genética. O presente trabalho teve como objetivo induzir a embriogênese somática indireta, bem como respostas morfogenéticas *in vitro*, em algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.), variedade CNPA 8H. Sementes da variedade CNPA 8H foram esterilizadas em álcool a 70% (por cinco minutos) e hipoclorito de sódio a 2% (por vinte minutos), e lavadas em água destilada e estéril. Posteriormente, foram depositadas em frascos contendo 30 mL de água destilada e estéril e papel filtro, para a germinação das mesmas. Após dois dias da germinação, segmentos de hipocótilo medindo 01cm de comprimento foram retirados das plântulas germinadas *in vitro* e inoculados em meio MS suplementado com 30g/L de sacarose, 0,1g/L de mio-inositol, 1,5g/L de gelrite e os hormônios KIN e NAA, cada um na concentração de 1,5 mg/L, para a indução de calogênese; cada unidade experimental recebeu um segmento. Foram utilizadas vinte unidades experimentais com 04 repetições. Os calos foram analisados quanto à taxa de indução de calogênese e taxa de diferenciação morfogenética. A taxa de germinação foi de 91,67% e a altura média das plântulas foi 4,96cm; os resultados obtidos mostraram uma taxa de indução de calogênese de 100%; e uma taxa de diferenciação morfogenética de 54%. Conclui-se que o meio de cultura utilizado foi altamente eficaz para a embriogênese somática e indução de respostas morfogenéticas *in vitro*.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Embriogênese somática; melhoramento de plantas; respostas morfogenéticas.

## **BAP e 2,4-D na diferenciação de calos em anteras de *Coffea arabica*.**

Luz, José Magno Queiroz<sup>1</sup>; Silva, Adelaide Siqueira<sup>1</sup>; Bittar, Cecília Alves<sup>1</sup>; Lino, Leandro de Oliveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (ICIAG-UFU), Campus Umuarama, Caixa Postal 593, CEP 38400-902Uberlândia, Minas Gerais, fone (34) 3218-2225, email: [jmagno@umuarama.ufu.br](mailto:jmagno@umuarama.ufu.br).

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil é o maior exportador mundial de café com aproximadamente dez milhões de pessoas envolvidas direta ou indiretamente com este agronegócio (USDA/FNP, 2005). O melhoramento genético do cafeeiro por meio de métodos convencionais, é um processo demorado, podendo levar mais de 30 anos para se obter uma nova cultivar, e pelo fato do cafeeiro ser uma espécie perene, de ciclo longo e porte arbustivo, as dificuldades práticas do melhoramento genético referem-se, principalmente, ao tempo e à extensão da área experimental necessários para o desenvolvimento de variedades (Almeida et al., 2000). Além de ser um processo demorado e trabalhoso, a eficiência da seleção nas primeiras gerações de autofecundação é muito baixa devido, principalmente, à ocorrência de alelos dominantes em heterozigose.

A redução deste tempo é possível por meio da produção de linhagens homozigóticas oriundas de dihaplóides (Araújo, 2004). Existem alguns métodos para a obtenção de dihaplóides, cuja eficiência é variável de acordo com a espécie. Uma das técnicas é a cultura de anteras, a qual tem se mostrado eficiente para diversas espécies, sendo uma alternativa para acelerar os programas de melhoramento genético na cultura do cafeeiro. Ela é considerada uma ferramenta importante, uma vez que pode auxiliar no melhoramento da cultura, permitindo a obtenção de haplóides em gerações segregantes, o que leva a rápida produção de plantas homozigóticas através da duplicação do número de cromossomos numa única etapa, substituindo as gerações de autofecundação.

Diante do exposto, por meio da cultura de anteras, o objetivo deste trabalho foi regenerar calos em anteras de *Coffea arabica* L. com o uso dos reguladores de crescimento BAP e 2,4-D.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no laboratório de Biotecnologia/Cultura de Tecidos do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia. Foi utilizado o genótipo de cafeeiro de *Coffea arabica* Catuaí Vermelho LCH-2077-2-5-44 plantado na área experimental da Universidade Federal de Uberlândia.

Os botões florais foram coletados por volta de 8:00 horas quando estavam com tamanho de 4,5 a 6,0mm correspondendo à anteras contendo micrósporos uninucleados, segundo Silva et al. (2004), depois foram mantidos em placas de Petri com papel de filtro umedecido para evitar a desidratação dos mesmos. Já no laboratório, os botões foram medidos e selecionados com o auxílio de um paquímetro e enrolados em uma gase para posterior desinfestação que foi feita em álcool 70% por 20 segundos e hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos sob agitação.

Em câmara de fluxo laminar foram lavados três vezes em água destilada e autoclavada. As anteras foram retiradas dos botões florais através de uma incisão em um dos seus lados com o auxílio de estereomicroscópio, pinça e bisturi; sendo os últimos flambados a cada novo botão. Posteriormente as anteras eram imersas por 1 segundo, antes de serem inoculadas, em uma solução de ácido ascórbico na concentração de 600 mgL<sup>-1</sup>, em hipoclorito de sódio à 0,2% e por fim em água destilada e autoclavada, respectivamente.

Para a obtenção dos calos, as anteras foram inoculadas em tubos de ensaio, contendo 20 ml do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com pH ajustado para 5,9,

adicionado de 7 g/L de ágar e previamente autoclavado, suplementado com o regulador de crescimento 2,4-D na concentração de 2 mgL<sup>-1</sup>. As inoculações das anteras ocorreram a partir das 1<sup>as</sup> semanas com florada. O material foi mantido em sala de crescimento com 25 ± 2°C na ausência de luz.

Após 90 dias da inoculação, os calos obtidos foram sub-cultivados para o meio de cultura sólido MS, acrescido de diferentes concentrações de BAP (0,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mgL<sup>-1</sup>) e 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL<sup>-1</sup>) e foram transferidos para sala de crescimento sob condições de obscuridade, com temperatura de 26°C. As avaliações foram realizadas aos 90 dias após a instalação do experimento, analisando as seguintes características: número de calos embriogênicos (CE), número de calos friáveis (CF), e diâmetro de calos (cm).

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial de 4x4, com 6 repetições, sendo cada tubo de ensaio contendo um calo, considerado uma parcela. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, com a utilização dos programas PROPHET, onde os resíduos não apresentaram distribuição normal e as variâncias não foram homogêneas, e transformados em  $\sqrt{x + 1/2}$ ; aplicação do teste Qui-Quadrado, a 5% de probabilidade e SISVAR para o teste de Tukey na comparação das médias com relação aos tratamentos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teste de significância estatística do quiquadrado realizado para calos friáveis da cv. Catuaí Vermelho 44 mostrou que de maneira geral aos 90 dias de cultivo o 2,4-D sozinho ou combinado com concentrações iguais ou próximas de BAP, foram os que apresentaram um número maior de calos friáveis, com exceção dos tratamentos com alta concentração de BAP (8 mgL<sup>-1</sup>) (Tabela 1). No entanto, estes últimos tratamentos não induziram a formação de pró-embrióides nos calos (Tabela 1). Calos friáveis e formação de pró-embrióides também foram encontrados por Figueira et al. (2005) em anteras de café em meio MS com 2 mgL<sup>-1</sup> de 2,4-D, obtendo 19,8% de pró-embrióides, sendo 21,5% pertencentes ao cv. Mundo Novo e 17,6% ao Catuaí Vermelho 44, tendo estas estruturas maiores índices quando estavam na ausência de AgNO<sub>3</sub>.

Com relação ao diâmetro dos calos não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos. Silva & Ferreira (2006) obtiveram resultados semelhantes ao deste trabalho com a utilização de BAP na indução à embriogênese somática em calos oriundos de anteras de café; os autores também não verificaram diferença significativa entre seus tratamentos quanto à variável diâmetro; mas ao contrário deste trabalho, eles tiveram embriões somáticos que posteriormente foram regenerados.



Tabela 1. Valores de qui-quadrado para os calos friáveis e calos com pró-embriões em anteras da cultivar Catuaí Vermelho 44 aos 90 dias de cultivo *in vitro*.

Tratamentos (BAP + 2,4-D/mgL <sup>-1</sup> )	Número de calos friáveis	fo-fe/fé*	Número de calos com pró- embriões	fo-fe/fe**
T1 (0 + 0)	1	0,796053	1	0,017857
T2 (0 + 1)	1	0,796053	3	5,160714
T3 (0 + 2)	4	1,111842	2	1,446429
T4 (0 + 4)	3	0,164474	1	0,017857
T5 (2 + 0)	3	0,164474	0	0,875
T6 (2 + 1)	3	0,164474	0	0,875
T7 (2 + 2)	4	1,111842	1	0,017857
T8 (2 + 4)	0	2,375	1	0,017857
T9 (4 + 0)	1	0,796053	2	1,446429
T10 (4 + 1)	2	0,059211	0	0,875
T11 (4 + 2)	3	0,164474	1	0,017857
T12 (4 + 4)	1	0,796053	2	1,446429
T13 (8 + 0)	2	0,059211	0	0,875
T14 (8 + 1)	4	1,111842	0	0,875
T15 (8 + 2)	3	0,164474	0	0,875
T16 (8 + 4)	3	0,164474	0	0,875
	38	10	14	15,71429

\* Apenas diferenças > ou = a 2 são significativas

\*\* Apenas diferenças > ou = a 3 são significativas

## CONCLUSÕES

2,4-D sozinho ou combinado com BAP em concentrações iguais ou próximas, é capaz de promover a formação de calos friáveis com pró-embriões.

Os reguladores BAP e 2,4-D não foram eficientes no desenvolvimento dos pró-embriões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. A. S.; SIMIONI, K. C.; FAZUOLI, L. C.; RAMOS, L. C. S. Indução de calos de explantes foliares de genótipos de café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos....** Poços de Caldas: EMBRAPA/CAFÉ, 2000. v. 1, p. 145-147.

ARAÚJO, J. S. de. **Calogênese em anteras de cafeeiro *Coffea arabica* L.** 2004. 41p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

FIGUEIRA, E.R.; LONDE, L.N.; SILVA, A.S.; MARQUES, R.V.; MARQUES, S.V.; LUZ, J.M.Q. Influência do 2,4-D, nitrato de prata e ácido acetilsalicílico no cultivo in vitro de anteras de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: 45 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 15 CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS E 2 CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 23, 2. 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: CBCEARÁ, 2005. p.595.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**. Copenhagen, v.15, n.3, p.473-479, 1962.

SILVA, A. S.; LUZ, J. M. Q.; FIGUEIRA, E. R.; LONDE, L. N.; SANTANA, D. G.; MUSTAFÁ, P. C. V.; PASQUAL, M. Relação entre os estádios de desenvolvimento dos micrósporos e as características morfológicas do botão floral para o cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 20, n. 1, p. 41-46, jan./abr., 2004.

SILVA, H.E., FERREIRA, G.B. **Efeito de diferentes concentrações de BAP na Indução de embriões somáticos em calos oriundos de anteras de café.** In: CONGRESSO REGIONAL DE BIOTECNOLOGIA – AVANÇOS E APLICAÇÕES, 2006, Uberlândia, **Anais...** Uberlândia: UFU, 2006. p. 38.

USDA/FNP. **Agrianual 2005 Mercado e Perspectiva**, 2005. p. 241-242

#### PALAVRAS-CHAVE

*Coffea arabica*; cultura de anteras; calogênese; reguladores de crescimento.

#### AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa.

## Indução de calos em anteras de *Coffea arabica* em função dos reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ.

Luz, José Magno Queiroz<sup>1</sup>; Marques, Soraia Viegas<sup>1</sup>; Marques, Raquel Viegas<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (ICIAG-UFU), Campus Umuarama, Caixa Postal 593, CEP 38400-902Uberlândia, Minas Gerais, fone (34) 3218-2225, email: [jmagno@umuarama.ufu.br](mailto:jmagno@umuarama.ufu.br).

### INTRODUÇÃO

Por se tratar de cultura perene propagada via semente, os programas de melhoramento do cafeeiro *Coffea arabica* demandam aproximadamente 25 anos desde a hibridação até a obtenção de uma nova variedade. Sendo assim, a cultura de anteras é considerada uma ferramenta importante, uma vez que pode auxiliar no melhoramento da cultura, pois permite a obtenção de haplóides em gerações segregantes, o que leva a rápida produção de plantas homozigóticas através da duplicação do número de cromossomos numa única etapa, substituindo as gerações de autofecundação. Além dos haplóides serem livres dos problemas de dominância e recessividade, por possuir apenas um alelo em cada loco gênico, acelerando drasticamente o processo de obtenção de novas cultivares (Andrade, 1998).

No Brasil, o *C. arabica* apresenta poucos progressos com relação à aplicação da cultura de anteras. Com isso objetivou-se com este trabalho avaliar, em diferentes épocas, o efeito dos reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ na indução de calos em anteras de *Coffea arabica*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Biotecnologia/Cultura de Tecidos do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia. Foi utilizado o genótipo de cafeeiro de *Coffea arabica* Catuaí Vermelho LCH-2077-2-5-44 plantado na área experimental da Universidade Federal de Uberlândia.

Os botões florais foram coletados por volta de 8:00 horas quando estavam com tamanho de 4,5 a 6,0mm correspondendo à anteras contendo micrósporos uninucleados, segundo Silva et al. (2004), depois foram mantidos em placas de Petri com papel de filtro umedecido para evitar a desidratação dos mesmos. Já no laboratório, os botões foram medidos e selecionados com o auxílio de um paquímetro e enrolados em uma gaze para posterior desinfestação que foi feita em álcool 70% por 20 segundos e hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos sob agitação.

Em câmara de fluxo laminar foram lavados três vezes em água destilada e autoclavada. As anteras foram retiradas dos botões florais através de uma incisão em um dos seus lados com o auxílio de estereomicroscópio, pinça e bisturi; sendo os últimos flambados a cada novo botão. Posteriormente as anteras eram imersas por 1 segundo, antes de serem inoculadas, em uma solução de ácido ascórbico na concentração de 600 mgL<sup>-1</sup>, em hipoclorito de sódio à 0,2% e por fim em água destilada e autoclavada, respectivamente.

As anteras foram inoculadas em tubos de ensaio, contendo 20 ml do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com pH ajustado para 5.9, adicionado de 7 g/L de ágar e previamente autoclavado, suplementado com os reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ nas combinações das concentrações 2, 4, 6 e 8 mgL<sup>-1</sup> x 0 e 0,5 mgL<sup>-1</sup>, respectivamente. As inoculações das anteras ocorreram a partir das 1<sup>as</sup> semanas com florada. O material foi mantido em sala de crescimento com 25 ± 2°C e presença de luz.

Após 30, 60 e 90 dias da inoculação dos explantes, foram avaliadas as variáveis oxidação e calosidade assim como a interferência dos dias nas mesmas.

Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados, em esquema fatorial 4 x 2 x 3 (concentrações de 2,4-D e TDZ, respectivamente e época de avaliação)

### AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa.

com quatro repetições por tratamento, sendo cada três tubos uma repetição, com cinco anteras por tubo.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, com a utilização do programa SANEST e as médias das concentrações de TDZ foram analisados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e as concentrações de 2,4-D e o fator época de avaliação foram analisadas por regressão polinomial.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contaminação se manteve baixa em todo o experimento não interferindo nos resultados. Com relação à variável oxidação, as combinações dos reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ não diferiram estatisticamente. Porém a que apresentou o maior número de anteras oxidadas foi a concentração de 8 mgL<sup>-1</sup> de 2,4-D associada à 0,5 mgL<sup>-1</sup> de TDZ.

A alta concentração do regulador 2,4-D pode ter influenciado numa maior oxidação. Giri et al. (1993) afirmaram que a presença de 2,4-D no meio de cultura está associada a uma maior oxidação do tecido. Figueira (2002), trabalhando com subcultivo de anteras de cafeeiro em doses menores de 2,4-D também obteve 100% de anteras oxidadas. A presença do regulador de crescimento TDZ no meio de cultura também pode influenciar no processo de oxidação das anteras.

A época de avaliação também interferiu significativamente, sendo que quanto maior o período de avaliação, maior foi o número de anteras oxidadas (Figura 1)

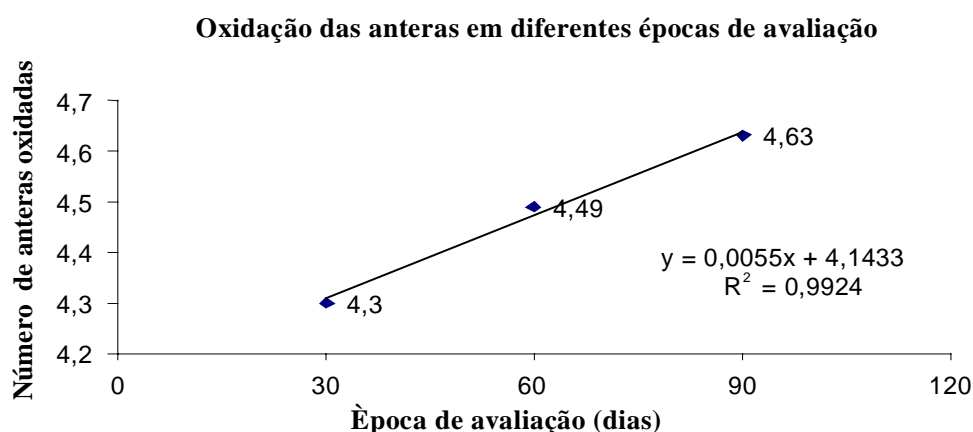


Figura 1: Número de anteras oxidadas aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação das anteras da cultivar Catuaí vermelho 44.

Houve diferença significativa entre as concentrações de 2,4-D em relação à variável calosidade de forma que a concentração de 2mgL<sup>-1</sup> resultou em uma maior média de calosidade. A partir desta, foi observado um decréscimo significativo de calosidade nas concentrações de 4 e 6mgL<sup>-1</sup>, seguido de um aumento da mesma na concentração de 8mgL<sup>-1</sup>, porém ainda se mantendo abaixo da primeira (Figura 2).

A interação entre as concentrações de 2,4D e TDZ foi significativa na indução de calos em anteras. Em termos de valores absolutos a combinação dos reguladores 2,4-D e TDZ nas concentrações de 2,0 mgL<sup>-1</sup> e 0,0 mgL<sup>-1</sup>, respectivamente, foi a que resultou no maior número de anteras com calos, apesar de não diferir das demais combinações, com exceção daquela em que se utilizou 6,0 mgL<sup>-1</sup> de 2,4-D e 0,0 mgL<sup>-1</sup> de TDZ, a qual estatisticamente proporcionou uma menor calosidade nas anteras inoculadas (Tabela 1).

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa.

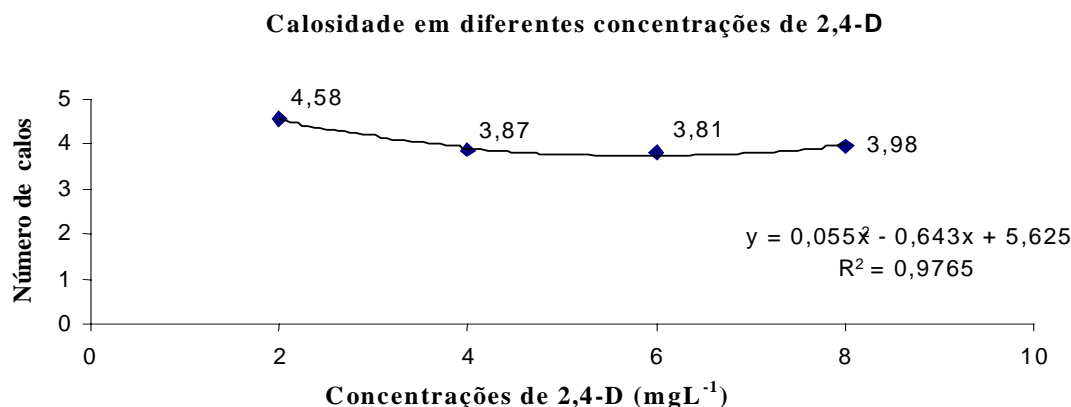


Figura 2: Número de anteras com calos sob diferentes concentrações de 2,4D, cultivar Catuaí Vermelho 44.

Tabela 1. % de calosidade de anteras, cultivar Catuaí vermelho 44, submetidas à diferentes concentrações dos reguladores de crescimento 2,4-D e TDZ,

Reguladores de Crescimento		Médias Originais	Média(%)
2,4-D (mgL <sup>-1</sup> )	TDZ (mgL <sup>-1</sup> )		
2	0	4,66 a	93,2
	0,5	4,51 a	90,2
4	0	4,05 a	81
	0,5	3,71 a	74,2
6	0	3,28 b	65,6
	0,5	4,37 a	87,4
8	0	4,35 a	87
	0,5	3,63 a	72,6

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

De acordo com Figueira et al (2005), os reguladores de crescimento 2,4-D (6 mgL<sup>-1</sup>) e TDZ (0,5 mgL<sup>-1</sup>) foram eficientes na indução de calos; porém não promoveram a regeneração dos mesmos para a cultivar Catuaí Vermelho.

Maciel (2001) e Palú (2002) citam que pelos resultados obtidos para a indução de calogênese em anteras de cafeeiro, observa-se que é necessária uma auxina juntamente com uma citocinina. Dentre as auxinas sintéticas, o 2,4-D é sem dúvida a mais adequada a indução e manutenção do calo (Gamborg et al., 1976).

Essas citações confirmam os resultados do presente trabalho onde a interação dos reguladores de crescimento 2,4-D, que é uma auxina, e o TDZ, que é um regulador de crescimento com ação citocinínica, mostrou-se eficiente à indução de calos. Além disso, o regulador de crescimento 2,4-D apresenta caráter indutor para o intumescimento e calosidade conforme proposto por Torres et al. (1998).

#### AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa.

## CONCLUSÕES

2,4-D na concentração de 2,0 mgL<sup>-1</sup> sem TDZ foi a que resultou no maior número de anteras com calos.

O aumento do período de avaliação proporcionou um maior número de anteras oxidadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L.M.C.O. **Otimização de técnicas de cultura de tecidos para o cafeeiro (*Coffea arabica*)**. 1998. 86p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FIGUEIRA, E.R.; LONDE, L.N.; SILVA, A.S.; MARQUES, R.V.; MARQUES, S.V.; LUZ, J.M.Q. Influência do 2,4-D, nitrato de prata e ácido acetilsalicílico no cultivo *in vitro* de anteras de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: 45 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 15 CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS E 2 CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 23, 2. 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: CBCEARÁ, 2005. p.595.

GAMBORG, O. L.; MURASHIGE, T.; THORPE, T. A.; VASIL, I.K. Plant tissue culture media. **In vitro**, v.12, n.7., p. 473-478, 1976.

GIRI, A.; AHUJA, P.S.; AJAYKUMAR, P.V. Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus cultures of *Aconitum heterophyllum* Wall. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Dordrecht, v.32, p.213-218, 1993.

MACIEL, A.L. de R. **Embriogênese somática indireta em *Coffea arabica* L.** 2001. 60 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, MG.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**. Copenhagen, v.15, n.3, p.473-479, 1962.

PALÚ, E. G. **Indução *in vitro* de calogênese em anteras e brotações em segmentos nodais de *Coffea arabica* L.** 2002. 47 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, A. S.; LUZ, J. M. Q.; FIGUEIRA, E. R.; LONDE, L. N.; SANTANA, D. G.; MUSTAFÁ, P. C. V.; PASQUAL, M. Relação entre os estádios de desenvolvimento dos micrósporos e as características morfológicas do botão floral para o cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 20, n. 1, p. 41-46, jan./abr., 2004.

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

## PALAVRAS-CHAVE

*Coffea arabica*; cultura de anteras; calogênese; reguladores de crescimento

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa.

## Etileno e Nitrato de prata na indução e regeneração de embriões em anteras de *Coffea arabica* L.

Luz, José Magno Queiroz<sup>1</sup>; Silva, Adelaide Siqueira<sup>1</sup>; Bittar, Cecília Alves<sup>1</sup>; Lino, Leandro de Oliveira<sup>1</sup>; Rodrigues, Tatiana Michlovská<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (ICIAG-UFU), Campus Umuarama, Caixa Postal 593, CEP 38400-902Uberlândia, Minas Gerais, fone (34) 3218-2225, email: [jmagno@umuarama.ufu.br](mailto:jmagno@umuarama.ufu.br).

### INTRODUÇÃO

A cafeicultura tem se expandido de tal forma, que cada vez mais têm se exigido melhores padrões na qualidade da bebida, na produtividade dos grãos, na maturação uniforme em épocas diferenciadas de colheita e resistência e, ou, tolerância a doenças, pragas e a condições adversas do meio ambiente e ainda a obtenção de novos cultivares adaptados às diferentes regiões cafeeiras e aos sistemas de cultivo. O uso de cultivares melhoradas geneticamente pode ser a solução, uma vez que os programas de melhoramento têm apresentado resultados promissores na cultura do café, no que se refere ao aumento de produtividade e obtenção de novos cultivares. As técnicas convencionais de melhoramento têm sido amplamente utilizadas neste propósito. O melhoramento genético do cafeeiro por meio de métodos convencionais, é um processo demorado, podendo levar mais de 30 anos para se obter uma nova cultivar.

A redução deste tempo é possível por meio da produção de linhagens homozigóticas oriundas de dihaplóides. Existem alguns métodos para a obtenção de di-haplóides, cuja eficiência é variável de acordo com a espécie. Uma das técnicas é a cultura de anteras, a qual tem se mostrado eficiente para diversas espécies, sendo uma alternativa para acelerar os programas de melhoramento genético na cultura do cafeeiro. Para se obter plantas dihaplóides, via androgênese, é necessário adaptar a composição do meio de cultura ao açúcar ou aminoácidos junto com os reguladores de crescimento (Nitsch, 1981).

Uma das linhas que está sendo explorada com o contínuo aumento dos estudos com o cultivo *in vitro* de vegetais é a composição e a influência de gases nos recipientes de cultivo. O etileno é um regulador de crescimento gasoso natural da planta. No cultivo *in vitro*, a produção e ação desse gás nos recipientes de cultivo afetam diretamente a resposta do explante, sendo ela positiva ou negativa (Pasqual et al., 2002). Por causa da ação negativa, há vários estudos sobre os inibidores do etileno, como por exemplo o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ).

Neste sentido este trabalho teve o objetivo estudar o efeito do etileno e do nitrato de prata na indução e regeneração *in vitro* de embriões em anteras de *Coffea arabica* L.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Biotecnologia/Cultura de Tecidos do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia. Foi utilizado o genótipo de cafeeiro de *Coffea arabica* Catuaí Vermelho 99 plantado na área experimental da Universidade Federal de Uberlândia.

Os botões florais foram coletados e desinfestados. As anteras foram retiradas e inoculadas em placas de petri esterilizadas com meio MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de  $2 \text{ mgL}^{-1}$  de 2,4-D na ausência e presença de  $5 \text{ mgL}^{-1}$  de nitrato de prata. Após a inoculação foi colocada no centro de cada placa uma gota de ETHREL<sup>®</sup> com auxílio de uma seringa previamente esterilizada. As placas foram lacradas e colocadas no escuro por diferentes períodos (testemunha, 2, 4, 6, e 8 dias). Logo após cada período, as placas foram abertas em câmara de fluxo laminar para que o ETHREL<sup>®</sup> fosse completamente evaporado e em seguida lacradas novamente e colocadas no escuro até 8 dias. Em seguida foram levadas para a sala de crescimento com temperatura de  $26^\circ\text{C}$  com 16 h de luz, onde permaneceram até 12º dia após a inoculação.

Ao final dos 12 dias, as anteras foram transferidas para um meio de regeneração intitulado de meio R pelos autores (Sibi et al., 1979), acrescido de  $0,108 \text{ mgL}^{-1}$  de cinetina, permanecendo nele por 30 dias.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), num fatorial de  $5 \times 2$ , sendo o 1º fator: dias na presença com etileno (2, 4, 6, 8 dias e testemunha) e 2º fator: ausência e presença de  $5 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{AgNO}_3$ , num total de 10 tratamentos, com 4 repetições, sendo cada placa de Petri uma parcela contendo 25 anteras por placa. Após 12 dias da inoculação, avaliou-se a percentagem de anteras oxidadas, contaminadas e com calosidades, e aos 30 dias pós-inoculação no meio R fez-se outra avaliação considerando-se os mesmos caracteres e o número de pró-embriões. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, com a utilização dos programas PROPHET, onde os resíduos não apresentaram distribuição normal e as variâncias não foram homogêneas e transformados em  $\sqrt{x + 1/2}$ ; e SISVAR, com aplicação do teste de F, a 5% de probabilidade e teste de Tukey para comparação das médias e regressão polinomial para estudo do etileno nos diferentes dias avaliados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A oxidação e contaminação das anteras foram menores no tratamento que não continha etileno (Tabela 1), que provavelmente contribuiu para maior oxidação e necrose das anteras.

Tabela 1. Percentagem de anteras oxidadas e contaminadas da cultivar Catuaí Vermelho 99 em função dos dias em meio de cultura em contato com etileno (ETHREL®).

	Tempo de contato com o Etileno (Dias)					Média
	0	2	4	6	8	
OXIDAÇÃO	11,74 b	23,65 a	20,63 a	22,36 a	21,52 a	19,96
CONTAMINAÇÃO	34,61 b	17,31 a	17,70 a	16,52 a	13,96 a	20,01

Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A contaminação também foi influenciada significativamente pelo nitrato de prata, sendo 41,6% e 58,4% na presença e ausência de nitrato de prata, respectivamente. Uma hipótese para este resultado é que a presença de nitrato inibiu a proliferação de contaminantes, como fungos ou bactérias. Marques (2005) também obteve uma contaminação considerada alta, equivalente a 35,87%, quando comparada a 2% obtidos por Palú (2002) com o uso de solução de PPM<sup>TM</sup> a 25% (v/v). Araújo (2004) visando a calogênese em anteras oriundas de uma população segregante F2 de *C. arabica* L. verificou que a adição de fungicida e bactericida ao meio de cultura reduziu consideravelmente a contaminação causada por microrganismos. Entretanto, o uso destes produtos *in vitro* têm sido limitados devido a grande toxicidade para as células de plantas (Arruda, 2000).

De maneira geral os melhores resultados para a formação de calos nas anteras ocorreram nos tratamentos que tinham  $\text{AgNO}_3$  e com relação ao etileno, a ausência e os primeiros dias de inoculação em contato com este, no meio de cultura, mostraram-se mais responsivos quanto à formação dos calos e à medida que o tempo de permanência no etileno aumentou o número de calos (Figura 1). Segundo Figueira (2005), o etileno, provavelmente, exerce um efeito benéfico na sua indução em cultura de anteras em café.



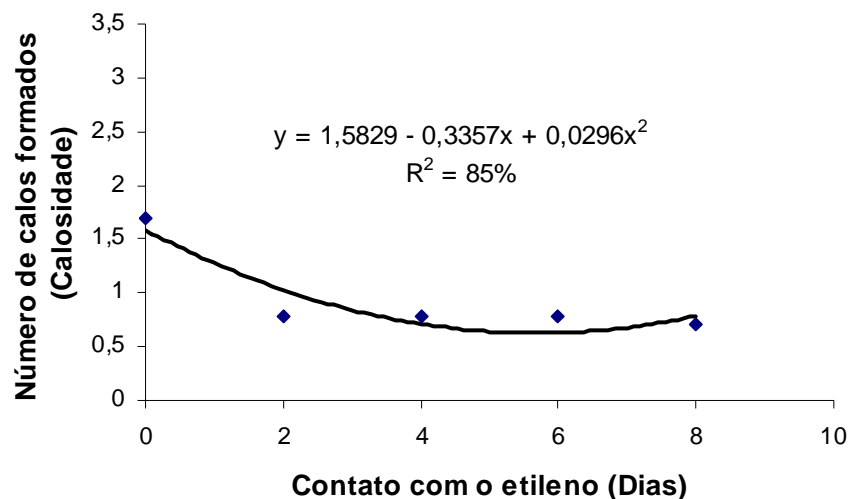


Figura 1. Número de calos formados, em contato com etileno em diferentes dias de inoculação.

Aos 30 dias de cultivo em meio R foi observado uma possível embriogênese direta nas anteras provenientes dos tratamentos com e sem  $\text{AgNO}_3$  e que não tiveram contato com o etileno. De acordo com Kumar et al. (2006) os efeitos do nitrato de prata na embriogênese somática sustenta a hipótese de que este composto age como um agente promotor da embriogênese somática direta e da formação de calos na embriogênese somática indireta, que podem estar atribuídos na regulação do etileno durante a ação em estágios específicos na embriogênese de *Coffea*. De acordo com os resultados, provavelmente, o  $\text{AgNO}_3$  juntamente com o 2,4-D foi quem ocasionou a embriogênese direta em anteras que não tiveram contato com o etileno, ao contrário dos outros resultados que mostram que o etileno é um bom agente indutor da embriogênese, sendo o nitrato de prata benéfico em alguns casos e contrários em outros. Trabalhos como os de Figueira (2005) e Gurel et al. (2000), relatam esta discordância da ação do nitrato de prata na indução de pró-embriões, não conseguindo induzir a formação dos mesmos.

#### CONCLUSÕES

O  $\text{AgNO}_3$  age como inibidor de contaminantes e juntamente com etileno, favorece a calosidade das anteras da cv. Catuaí Vermelho 99.

O  $\text{AgNO}_3$  juntamente com  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D podem promover embriogênese direta.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FIGUEIRA, E.R.; LONDE, L.N.; SILVA, A.S.; MARQUES, R.V.; MARQUES, S.V.; LUZ, J.M.Q. Influência do 2,4-D, nitrato de prata e ácido acetilsalicílico no cultivo in vitro de anteras de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: 45 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 15 CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS E 2 CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 23, 2. 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: CBCEARÁ, 2005. p.595.

GÜREL, S.; GÜREL, E.; KAYA, Z. Doubled haploid plant production from unpollinated ovules of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 19, p. 1155-1159, 2000.

KUMAR, V., NAIDU, E. M.M., RAVISHANKAR, G.A. Developments in coffee biotechnology-in vitro plant propagation and crop improvement. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 87, p. 49-65, 2006.

MARQUES, R.V. Indução de calos em anteras de *Coffea arabica* em função de diferentes reguladores de crescimento. 2006. P. 29. Monografia (Graduação Agronomia)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**. Copenhagen, v.15, n.3, p.473-479, 1962.

NITSCH, C. Production of isogenic lines: basic technical aspects of androgenesis. In: THORPE, T. A. (Ed.). **Plant tissue culture methods and applications in agriculture**. New York: Academic Press, 1981. p. 241-252.

PASQUAL, M., MACIEL, A.L.R. de., CAMPOS, K.P. de., SANTOS, E.C., CAMPOS, R.J.C. de. Indução de calos em anteras de café (*Coffea arabica* L.) cultivadas *in vitro*. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.26, n.1, p.71-76, 2002.

SIBI, M., DUMAS DE VAULX, R., CHAMBONNET, D. Obtention de plantes haplóides par androgenèse *in vitro* chez lê piment ( *Capsium annum* L.). **Annales de l' Ameriolátion dès plantes**, v. 29, n. 5, p. 583-606, 1979.

SILVA, A. S. **Indução de calos em anteras de *Coffea arabica* L., cultivadas *in vitro* na presença ou ausência de luz em meio com 2,4-D, BAP, TDZ, e cinetina**. 2003. 15p. Monografia (Graduação em Biologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2003.

SILVA, H.E., FERREIRA, G.B. **Efeito de diferentes concentrações de BAP na Indução de embriões somáticos em calos oriundos de anteras de café**. In: CONGRESSO REGIONAL DE BIOTECNOLOGIA – AVANÇOS E APLICAÇÕES, 2006, Uberlândia, **Anais...** Uberlândia: UFU, 2003. p. 38.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Coffea arabica*; cultura de anteras; embriogênese; etileno; AgNO<sub>3</sub>.

#### AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa.

# OBTENÇÃO DE MATRIZES ASSÉPTICAS DE PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora* Ducke) ATRAVÉS DA GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES

Soami Fernanda Caio Deccetti<sup>a</sup>; Monique Inês Segeren<sup>b</sup>; Analú Vicentin<sup>c</sup>

## RESUMO

Considerando a influência das plantas matrizes utilizadas sobre o sucesso na definição de um sistema de micropropagação, este trabalho teve como objetivo desenvolver metodologias para a germinação *in vitro* de sementes de Pau-rosa visando à produção de plântulas assépticas que fornecerão explantes com características mais adequadas para as fases posteriores do cultivo *in vitro*. Foram utilizadas sementes próximas ao estágio de maturação e testados diferentes tratamentos quanto à formulação do meio de cultura e à concentração de sacarose no meio visando maximizar o processo de germinação. Os resultados demonstraram que o aumento na concentração de sacarose do meio de cultura reduz a germinação das sementes. A utilização de sacarose sob concentração reduzida (10 g.l<sup>-1</sup>) possibilitou a germinação de uma porcentagem maior de sementes (80%) e favoreceu o crescimento *in vitro* das plântulas de Pau-rosa. De maneira geral, a formulação do meio MS também demonstrou ser mais satisfatória para a germinação e o crescimento das plântulas de Pau-rosa, quando comparado ao meio WPM. As metodologias de germinação *in vitro* testadas neste estudo possibilitaram a obtenção de matrizes assépticas em 75 dias.

<sup>a</sup> Coordenadora Projeto PIPE – FAPESP (FASE I) / ProClone  
Rua das Caneleiras, 90. Bairro Jardim. Santo André - SP  
[deccetti@yahoo.com.br](mailto:deccetti@yahoo.com.br)

<sup>b</sup> Diretora ProClone Comércio de Mudanças Matrizes – ME  
Rua dos Girassóis, 70. Centro. Holambra - SP  
[proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br)

<sup>c</sup> Bolsista Projeto PIPE – FAPESP (FASE I)

## INTRODUÇÃO

A utilização das técnicas de micropropagação pode constituir uma alternativa eficiente para contornar os obstáculos que atingem a propagação convencional do Pau-rosa, viabilizando a produção em escala de mudas, o cultivo racional e a exploração sustentável desta espécie, que se encontra em risco de extinção, para a produção comercial de seu óleo essencial, uma nobre essência aromática cobiçada nos mercados internacional e nacional. (May & Barata, 2004).

A fase de estabelecimento *in vitro*, que antecede as fases do cultivo *in vitro* propriamente dito, é fundamental para o sucesso no desenvolvimento de um sistema de micropropagação, principalmente para espécies lenhosas nativas. A utilização de material vegetal (explante) proveniente de matrizes obtidas por germinação de sementes *in vitro*, ao invés de árvores adultas no campo, constitui uma estratégia importante para reduzir os problemas com contaminação, muito freqüente em função da pressão de doenças em ambientes tropicais (Braga, Caldas e Habe, 1997), e garantir o fornecimento de material vegetal com características mais adequadas para o cultivo *in vitro*, rejuvenescido e com maior potencialidade regenerativa, além de reduzir a ocorrência de oxidação fenólica *in vitro* (Rasai et al., 1995).

Diversos fatores ambientais externos e intrínsecos à semente influenciam o processo de germinação, havendo a necessidade da ocorrência de um conjunto de condições favoráveis para que a mesma se complete satisfatoriamente. No entanto, através do cultivo *in vitro* de sementes, condições ambientais fundamentais, como disponibilidade de água, temperatura adequada, luminosidade e composição atmosférica apropriada, podem ser fornecidas e controladas para que o processo de germinação ocorra.

Em função da necessidade da disponibilização de mudas matrizes como fonte de explantes para o desenvolvimento de um sistema de micropropagação, o presente trabalho teve como objetivo definir metodologias para a germinação *in vitro* de sementes e a obtenção de plântulas assépticas de Pau-rosa.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório da empresa. Frutos de Pau-rosa próximos ao estágio de maturação, coletados em árvores adultas sob plantio na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM, foram utilizados para a obtenção das sementes. Após a extração manual da polpa, as sementes foram mantidas em água corrente por 72 horas. À seguir, foram lavadas com detergente e submetidas ao processo de desinfestação, em câmara de fluxo laminar, através da imersão em álcool 70% (v/v) por 5 minutos, seguido pela imersão em solução fungicida 1% (v/v - Derosal 500 CC) por 15 minutos, em associação com a imersão em solução de formaldeído comercial 50% (v/v) por 20 minutos. Após a tríplice lavagem para a eliminação do excesso de soluções desinfestantes, as sementes foram imediatamente inoculadas em recipientes de cultivo (frascos) contendo apenas água deionizada e autoclavada. Após um período de 30, as sementes que não apresentaram contaminação e oxidação fenólica foram consideradas estabelecidas *in vitro*.

As sementes intactas (sem danos causados pelo ataque de larvas de insetos) estabelecidas *in vitro* foram submetidas a diferentes tratamentos para acelerar o processo de germinação e a obtenção de plântulas assépticas. Com este objetivo, as sementes foram transferidas para frascos contendo 30 ml de meio MS (Murashigue e Skoog, 1962), com metade da concentração de sais, ou WPM (Lloyd & McCown, 1982), solidificado com 0,6% de ágar e suplementado com diferentes concentrações de sacarose (0, 10, 30 e 50 g.l<sup>-1</sup>), combinado com 375 mg.l<sup>-1</sup> de carvão ativado (antioxidante). O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,0 (MS) ou 6,2 (WPM) antes da autoclavagem. Após a inoculação, os frascos contendo as sementes foram mantidos em sala de crescimento, 15 dias no escuro e 30 dias sob fotoperíodo de 16 horas. Após 45 dias avaliou-se o número de sementes germinadas em cada tratamento e o comprimento médio da parte aérea e do sistema radicular. A germinação expressa em porcentagem, foi detectada com a protusão da radícula.

O experimento foi instalado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, sendo que cada recipiente de cultivo continha um explante (semente). O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para a análise de

variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Através dos resultados apresentados na tabela 1 pode-se observar que as maiores porcentagens de germinação foram obtidas utilizando o meio MS na ausência de sacarose (75%) ou sob concentração reduzida (80%). Nas duas formulações de meio de cultura (MS e WPM) o aumento na concentração de sacarose tende a reduzir a germinação das sementes e, provavelmente até inibir o processo. Essa inibição é decorrente da regulação osmótica do meio de cultura, visto que concentrações elevadas de sacarose fazem com que o meio de cultura não possua água disponível para a embebição das sementes (George, 1996). Essa condição seria interessante para impedir a germinação precoce de embriões imaturos, porém impossibilita o início do processo de germinação de embriões maduros ou próximos ao estágio de maturação.

De maneira geral o meio MS demonstrou ser mais satisfatório para a germinação das sementes de Pau-rosa, quando comparado ao meio WPM. O meio WPM possui em sua formulação baixas concentrações de sais inorgânicos, sendo comumente utilizado para espécies lenhosas devido à sensibilidade destas aos nutrientes minerais. Entretanto, ao utilizarmos o meio MS com a metade da concentração de seus sais também reduzimos a toxicidade dos nutrientes do meio de cultura sobre a semente, promovendo melhores resultados. O menor pH do meio MS (6,0) também pode ter influenciado os resultados, favorecendo a germinação.

Quanto ao crescimento das plântulas *in vitro*, os resultados demonstram que a maior disponibilidade de nutrientes no meio MS e a presença da sacarose sob baixa concentração (T2), favorece o crescimento das plantas após a germinação. As plântulas obtidas na ausência de sacarose (T1) apresentam menor crescimento e devem ser transferidas para outro meio de cultura contendo concentrações mais elevadas de sacarose, em função da necessidade de fonte exógena de carboidrato para o seu desenvolvimento. Nas

plântulas cultivadas sob meio WPM o crescimento também é favorecido pela adição de 10 g.l<sup>-1</sup> de sacarose.

Tabela 1. Efeito de diferentes composições do meio de cultura sobre a germinação de sementes e o crescimento *in vitro* de plântulas de Pau-rosa.

	Tratamentos	Germinação (%)	Comprimento Parte aérea (cm)	Comprimento Radícula (cm)
T1	MS ½ sem sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ.	75 b	0,7 c	2,1 b
T2	MS ½ 10 g.l <sup>-1</sup> sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ	80 a	2,0 a	3,0 a
T3	MS ½ 30 g.l <sup>-1</sup> sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ.	40 d	-	3,0 a
T4	MS ½ 50 g.l <sup>-1</sup> sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ.	33 e	-	1,5 c
T5	WPM sem sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ.	33 e	-	0,5 d
T6	WPM 10 g.l <sup>-1</sup> sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ	17 f	1,0 b	3,0 a
T7	WPM 30 g.l <sup>-1</sup> sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ.	50 c	-	0,5 d
T8	WPM 50 g.l <sup>-1</sup> sacarose 375 mg.l <sup>-1</sup> carvão ativ	15 g	-	0,5 d

Médias seguidas por letras distintas, em cada coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A adição de 375 mg.l<sup>-1</sup> de carvão ativado ao meio de cultura pode ter favorecido a germinação e o crescimento por adsorver parte dos compostos tóxicos (fenóis) liberados no meio de cultura pelos explantes. Através dos resultados obtidos pode-se concluir que as condições *in vitro* proporcionam uma germinação expressiva, quantitativamente, rápida e uniforme de sementes de Pau-rosa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAGA, M.F.; CALDAS, L.S.; HABE, M.H. Estabelecimento de acerola (*Malpighia glabra* L.) *in vitro*: efeito do clone e do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.19, n.3, p.335-346, 1997.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3 – Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**: part 1 – the technology. 2 ed. Edington: Exegetics limited, 1996. 1574p.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v.15, (abst. 321), p. 416, 1980.
- MAY, P.H.; BARATA L. E. S. Rosewood Exploitation in the Brazilian Amazon: Options for Sustainable Production. **Economic Botany**, v.58, n.2, p. 257–265, 2004.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- RASAI, S.; GEORGE, A.P.; KANTHARAJAH, A.S. Tissue Culture of *Annona* spp. (Cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): a review. **Scientia Horticulturae**, v.62. p.1-14, 1995.



## **Avaliação dos níveis de BAP na multiplicação *in vitro* do mamoeiro.**

Cardoso, Maria Gerolina Silva<sup>1</sup>; Souza, Antônio da Silva<sup>2</sup>; Vidal, Ádila Melo<sup>3</sup>; Dantas, Jorge Luiz Loyola<sup>2</sup>; Morais-Lino, Lucymeire Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista AT1 da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, CEP 44380-000, Cruz das Almas- BA, Fone (75) 3621-8072, e-mail: [ninaconceicao@hotmail.com](mailto:ninaconceicao@hotmail.com); <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas- BA, Fone (75) 3621-8000, e-mail: [assouza@cnpmf.embrapa.br](mailto:assouza@cnpmf.embrapa.br), [loyola@cnpmf.embrapa.br](mailto:loyola@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Mestranda da Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB), CEP 44380-000, Cruz das Almas- BA, Fone (75) 3621-6467, e-mail: [amelovidal@yahoo.com.br](mailto:amelovidal@yahoo.com.br); Doutoranda em Biotecnologia-UEFS, (Fapesb/Embrapa), CEP 44380-000, Cruz das Almas- BA, Fone (75) 3621-8072. e-mail: [ismorais@yahoo.com.br](mailto:ismorais@yahoo.com.br)

## **INTRODUÇÃO**

A forma de propagação do mamoeiro mais utilizado é por sementes (Drew, 1987). Sendo uma espécie de fecundação cruzada, ocorre segregação gênica nas progênes obtidas por sementes, não permitindo a manutenção do genótipo manifestado pela planta-mãe. De acordo com Rajeevan & Pandey (1986), além da heterozigose, também constituem problemas a natureza dióica e a susceptibilidade a um grande número de doenças viróticas, que tem imposto consideráveis limitações em trabalhos de melhoramento.

Com o avanço das técnicas de biotecnologia, foram estabelecidos vários protocolos para a micropropagação massal de diversas espécies de fruteiras. No caso específico do mamoeiro, apesar de diversos autores terem estudado metodologias para a multiplicação *in vitro*, ainda não é realizada a produção comercial de mudas por cultura de tecidos Litz (1984) e Winnaar (1988).

As plantas utilizadas nos trabalhos de micropropagação de mamoeiro são obtidas em casa de vegetação ou em laboratório. Apesar de estarem em segregação e terem sexo desconhecido, apresentam baixas taxas de contaminações fúngicas e bacterianas, e respondem bem em meio de cultura. Já o uso de explantes provenientes de plantas adultas, comprovadamente superiores, mantidas em condições de campo, ainda não é bastante explorado. Litz & Conover (1977, 1987) citam que explantes de tecido maduro raramente respondem em meio de cultura, como os provenientes de plantas.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de estudar a multiplicação *in vitro* do mamoeiro, em diferentes concentrações de BAP.

## **METODOLOGIA**

Este trabalho foi realizado em Cruz das Almas, BA, no Laboratório de Cultura de Tecidos da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, empregando o mamoeiro híbrido Tainung nº 1.

Inicialmente, ápices caulinares, com tamanhos variando de 1,0 a 1,5 cm, obtidos de plantas já estabelecidas *in vitro*, foram inoculadas em frascos contendo 25 ml de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com BAP em doses de 0,0 ; 0,1; 0,2 e 0,4 mg/L; o pH dos meios foram ajustados para 5,7.

Os meios de cultura foram solidificados com 2,0 g/L de Phytigel® e os frascos fechados com papel alumínio e posteriormente autoclavados, à temperatura de 121° C durante 35 minutos.

A inoculação dos explantes foi realizada em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar horizontal. O ambiente de crescimento das culturas foi mantido sob temperatura de 27 ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa.

Este experimento foi desenvolvido em um delineamento inteiramente casualizado, constituído de quatro tratamentos e 10 repetições.

Ao longo de 60 dias foram feitas as primeiras avaliações visuais, para eliminar os explantes contaminados por fungos e bactérias, e os mortos, procedendo-se, então, os três subcultivos a cada 30 dias. Foram analisados o número de brotos provenientes de cada tratamento, por subcultivo, e a altura das plantas no terceiro subcultivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes ao número de brotos obtidos no primeiro subcultivo das plantas encontram-se na Figura 1.

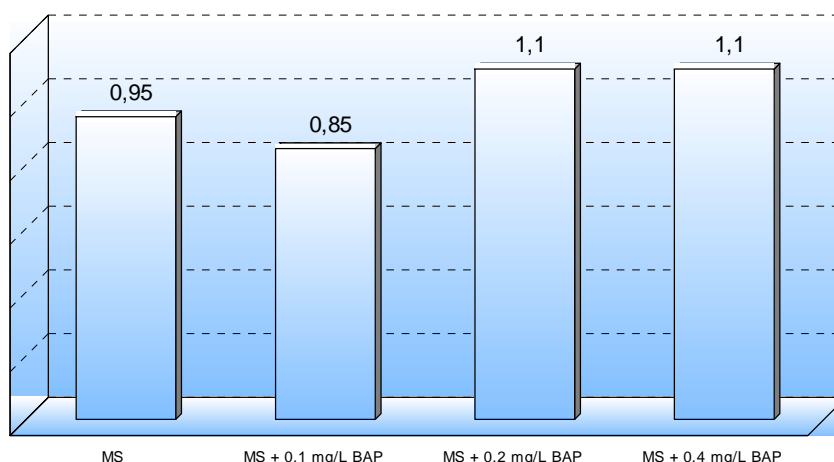
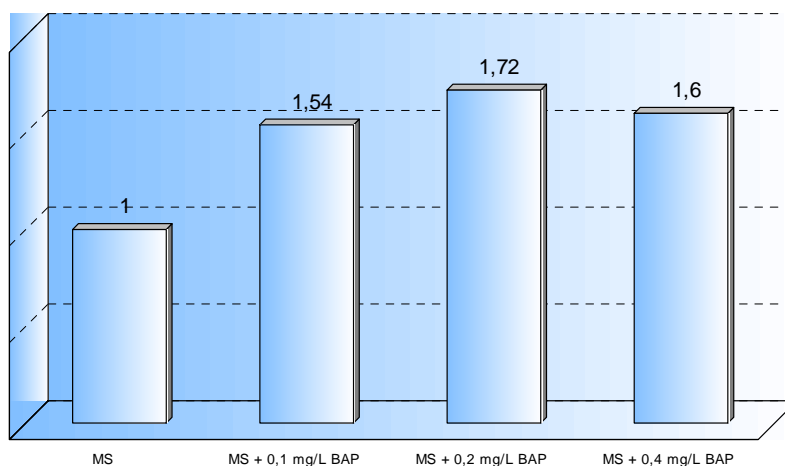


Figura 1. Médias do número de brotos obtidos no primeiro subcultivo das plantas do mamoeiro híbrido Tainung nº 1.

Nos tratamentos com 0,0; 0,1; 0,2 e 0,4 mg/L de BAP os número de brotos foram de 0,95; 0,85; 1,1 e 1,1, ficando, portanto, com aproximadamente uma média de uma gema por planta.

No segundo subcultivo, como pode ser visto na Figura 2, no tratamento com 0,2 mg/L de BAP o número de brotos foi de 1,72, enquanto que na testemunha (sem BAP) a produção foi de um broto por planta. Observa-se que houve um aumento crescente no número de brotos até esta concentração de concentração de 0,2 mg/L de BAP.



No terceiro subcultivo, o tratamento com 0,2 mg/L de BAP, assim como no segundo subcultivo, foi o que exibiu a maior média do número de brotos (Figura 3), quase alcançando cinco brotos por explantes.

O tratamento sem o fitorregulador, continuou produzindo uma média de um broto por explante. Tal fato registra a importância do BAP na multiplicação *in vitro* do mamoeiro. Segundo Hu & Wang (1983), o BAP é importante para induzir a formação de grande número de brotações e, portanto, aumentar a taxa de multiplicação em sistemas de micropropagação. Embora outras citocininas tenham apresentado melhores respostas para algumas situações, a BAP é a mais utilizada e tem sido bastante eficiente para promover a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diferentes espécies. A

razão de sua eficiência pode estar relacionada à capacidade dos tecidos vegetais em metabolizarem reguladores de crescimento naturais mais rapidamente que os sintéticos (Serejo et al., 2006).

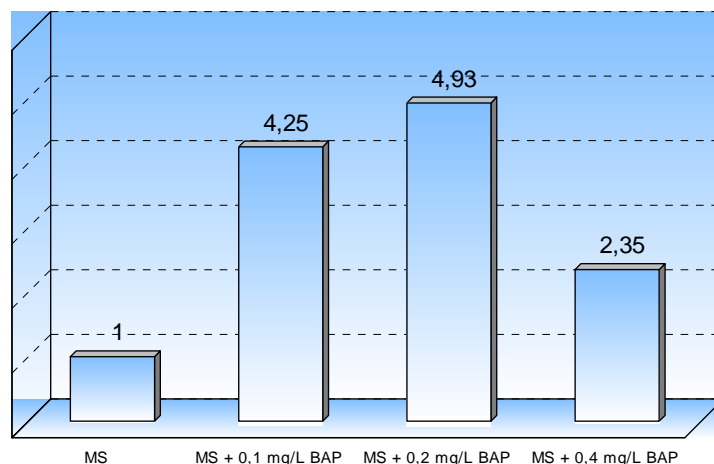


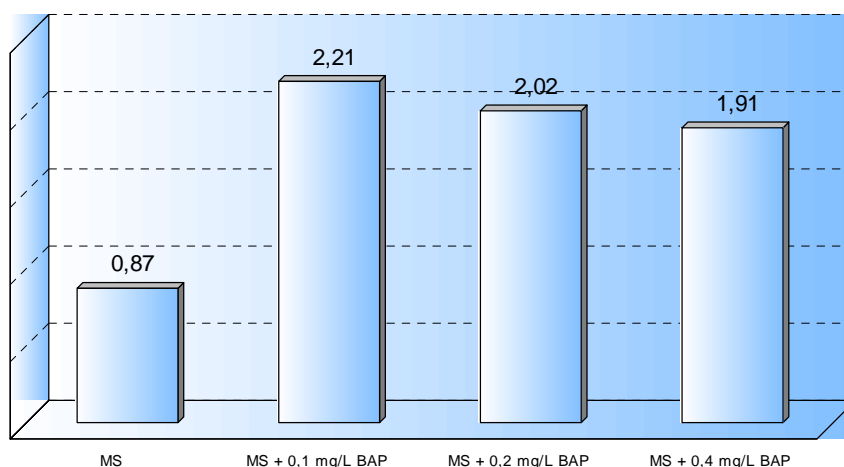
Figura 3. Médias do número de brotos obtidos no terceiro subcultivo das plantas de mamoeiro Tainung n° 1

Comprova-se, portanto, um incremento no número de brotos com o aumento do BAP até a dose de 0,2 mg/L, enquanto que, a concentração de 0,4 mg/L de BAP foi fitotóxica para os explantes, devido ao reduzido número de plantas obtidas.

O número de brotos aumentou do primeiro para o terceiro subcultivo, como pode ser visto nas Figuras 1, 2 e 3, o que está de acordo com Mondal et al. (1990) e Oliveira et al. (1996), que também conseguiram taxas de multiplicação *in vitro* do mamoeiro que aumentaram gradualmente com os subcultivos.

Em relação a altura de plantas no terceiro subcultivo o melhor desenvolvimento ocorreu nos tratamentos com 0,1 mg/L e 0,2 mg/L de BAP, superando os 2,0 cm. O tratamento sem o BAP apresentou-se inferior aos demais tratamentos, mostrando que esta citocinina deve ser utilizada na fase de multiplicação para obtenção de melhores resultados, como pode ser visto na Figura 5; neste tratamento a altura média das plantas foi de 0,87 cm.

No tratamento com 0,4 mg/L de BAP houve uma redução na altura das plantas, devido ao fato da concentração do BAP apresentar-se fitotóxica para os explantes. De acordo com Grattapaglia & Machado (1990), a utilização de fitorreguladores em meio de cultura, logo após o isolamento do explante da planta-matriz, nem sempre é benéfica, visto que esses podem estimular respostas indesejadas, com calejamento e toxidez aos tecidos.



## CONCLUSÃO

O tratamento MS + 0,2 mg/L de BAP foi o que apresentou os melhores resultados na multiplicação dos ápices, nos sbcultivos.

A concentração de 0,4 mg/L de BAP, apresentou um efeito fitotóxico para os explantes do mamoeiro.

Alturas médias de plantas acima de 2,0 cm foram conseguidas nas doses de 0,1 e 0,2 mg/L de BAP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DREW, R.A. The effects of medium composition and cultural conditions on in vitro root initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). *J. HortScience*, v.62; p. 551-556, 1987.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S. (Ed.). *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília, DF: ABCTP; EMBRAPA-CNPq, 1990. p. 99-169.

HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Ed.). *Handbook of plant cell culture*. Techniques for propagation and breeding. New York: MacMillan Publishing Company, 1983. p. 117-127.

LITZ, R.E.; CONOVER, R. In vitro propagation of papaya. *HortScience*, v. 13, n.3; p. 241-242, 1987.

LITZ, R.E.; CONOVER, R. Tissue culture propagation of papaya. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, v. 90; p. 245-246, 1977.

LITZ, R.E. Papaya. In: SHARP, D.A.; EVANS, D.A.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Ed.). *Handbook of plant cell culture*. New York; MacMillan, 1984. p. 349-368.

MONDAL, M., GUPTA, S., MUKHERJEE, B. B. In vitro propagation of shoot buds of *Carica papaya* L. (Caricaceae) var. Honey Dew. *Plant cell Reports*. 1990. p. 609-612.

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

OLIVEIRA, R.P. de; DANTAS, J.L.L.; ALMEIDA, E.P. de; NICKEL, O.; VILARINHOS, A.D.; MORALES, C.F.G. Uso da biotecnologia no melhoramento genético e propagação do mamoeiro. In: MENDES, L.G.; DANTAS, J.L.L.; MORALES, C.F.G. **Mamão no Brasil**. Cruz das Almas, BA: EAUFBA/EMBRAPA-CNPq, 1996. P.159-172.

RAJEEVAN, M.S.; PANDEY, R.M. Lateral bud culture of papaya (*Carica papaya* L.) for clonal propagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 6; p 181-188, 1986.

SEREJO, J.A dos S.; JUNGHANS, T.G.; SOARES, T.L.; SILVA, K.M.da. Meios Nutritivos para Micropropagação de Plantas, in **Introdução à Micropropagação de Plantas**. Cruz das Almas, BA, p 80 – 96, 2006.

WINNAAR, W. Clonal propagation of papaya in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* , v 12; p. 305-310, 1988.

Palavras chaves: Cultura de Tecidos, micropropagação, reguladores de crescimento

## Embriogênese somática em caroá\*

Silveira, Daniela Garcia<sup>1</sup>; Morais Lino, Lucymeire Souza<sup>2</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>3</sup>; Souza, Antônio da Silva<sup>3</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Botânica (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Presidente Dutra, S/N, Santa Mônica, CEP 44055-000, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3625-2300, e-mail: [danielags@ig.com.br](mailto:danielags@ig.com.br); <sup>2</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), e-mail: [ismorais@yahoo.com.br](mailto:ismorais@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, C.P. 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, e-mail: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br), [assouza@cnpmf.embrapa.br](mailto:assouza@cnpmf.embrapa.br); <sup>4</sup>Professor da Pós-Graduação da UEFS, Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, e-mail: [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez. é uma espécie de Bromeliaceae nativa da Caatinga Brasileira, conhecida como caroá e de grande importância econômica e social na Região Nordeste da Bahia. As fibras das suas folhas são a matéria-prima para o trabalho artesanal de diversas famílias, constituindo-se numa renda alternativa para os pequenos agricultores.

No entanto, o extrativismo predatório tem levado essa espécie à condição de ameaçada, já tendo praticamente desaparecido em outras regiões da Bahia. O sistema de corte das folhas adotado pelas artesãs e a expansão da atividade agropecuária na região são os principais fatores causadores dessa situação.

A necessidade de sistematizar o cultivo tem impulsionado uma série de estudos, dentre os quais o estabelecimento de sistemas eficientes de produção de mudas (Silveira et al., 2006). O caroá se reproduz tanto por sementes quanto pelo desenvolvimento de gemas e rizomas laterais (Xavier, 1982), porém seu desenvolvimento vegetativo é lento, necessitando de um longo tempo para a obtenção de um grande número de plantas.

O desenvolvimento de sistemas de propagação de plantas por cultura de tecidos já vem sendo relatada com êxito em diferentes espécies de Bromeliaceae, conforme Pompelli et al. (2005), Rech Filho et al. (2005) e Alves et al. (2006). A cultura de tecidos, com suas variadas técnicas, pode significar uma ferramenta significativa no estabelecimento de protocolos de micropropagação para bromélias, seja por organogênese ou embriogênese somática (Pompelli & Guerra, 2004).

A embriogênese somática é um processo análogo à embriogênese zigótica, em que uma única célula ou um grupo de células somáticas são precursoras de embriões somáticos (Ammirato, 1983). Além disso, a embriogênese é muito utilizada para a propagação massal de plantas elites, apresentando grande potencial, pois possibilita elevadas taxas de multiplicação.

Vários fatores podem ser determinantes para o êxito do processo embriogênico, desde o surgimento dos primeiros embriões até o número de embriões produzidos por explante. Dentre esses fatores destacam-se as combinações de reguladores utilizados na etapa de indução, a duração desta, a origem do explante e do estado fisiológico da planta matriz (Dublin, 1991). Por sua vez, em cenoura, o aminoácido glutamina favorece a produção de maior número de embriões somáticos formados de qualidade, quando comparado com os resultados obtidos em meio suplementado com o íon amônia (Higashi et al., 1997).

Como não há relatos sobre indução de calos e regeneração de plantas, via embriogênese somática, em caroá, e visando desenvolver um método de propagação e conservação eficiente para essa espécie, o objetivo desse trabalho foi avaliar a melhor fonte de explante e concentração de glutamina na indução de calos embriogênicos e formação de embriões somáticos em *N. variegata*.

---

\* Agradecimentos a CAPES pela concessão da bolsa de doutorado do primeiro autor e ao BNB e FAPESB pelo financiamento do projeto de pesquisa.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, em Cruz das Almas, BA. Sementes foram coletadas de plantas de caroá oriundas do município de Valente, na caatinga baiana, e cultivadas *in vitro*. Das plântulas obtidas, segmentos de folhas, raízes (quando houve) e rizomas (cortes transversais) foram inoculados em placas de Petri contendo o meio de cultura de Strosse et al. (2003), constituído de sais e vitaminas do MS (Murashige & Skoog, 1962) com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, suplementado com 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA, 4 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA, variando-se as concentrações de glutamina (50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup>), sendo o pH ajustado para 5,8. Como testemunha absoluta, foi utilizado o meio de cultura MS sem a presença de reguladores de crescimento e glutamina.

O delineamento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 (tipos de explante) x 4 (concentrações de glutamina) + 1 (tratamento adicional - testemunha), com 12 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por 5 a 7 segmentos de cada tipo de explante, à depender da disponibilidade de material. As placas foram mantidas no escuro, em temperatura de 27 ± 1°C, até a formação de embriões somáticos. Após 60 dias de cultivo foram avaliadas as seguintes variáveis: frequência de explantes com ausência total de crescimento (%), frequência de explantes com calos embriogênicos (%) e frequência de explantes com embriões somáticos (%).

Os embriões formados foram transferidos para meio MS suplementado com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg L<sup>-1</sup> de BAP e cultivados sob fotoperíodo de 16 horas, com densidade de fluxo de fótons de 22 μE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e temperatura controlada (27±1 °C), para observar seu posterior desenvolvimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação realizada aos 60 dias de cultivo mostrou diferentes respostas, tanto em relação aos tipos de explantes utilizados quanto às concentrações de glutamina adicionadas ao meio de cultivo (Tabela 1).

Os explantes que se mostraram menos responsivos às condições estabelecidas no trabalho foram as raízes, que regeneraram embriões em apenas uma concentração de glutamina (50 mg L<sup>-1</sup>), sendo esta a menor taxa (16%) obtida entre os diferentes explantes avaliados, ainda que tenha sido registrado a formação de calos em todas as doses de glutamina, exceto a de 200 mg L<sup>-1</sup>. O desenvolvimento desses embriões ocorreu nas extremidades das raízes como pode ser observado na Figura 1A.

Quanto aos explantes foliares, só formaram embriões no meio de cultura com as concentrações de 50 e 100 mg L<sup>-1</sup> de glutamina, sendo que nesta última dose se observou 66% de embriões formados na fase globular (Figura 1B). Nas outras doses de glutamina (150 e 200 mg L<sup>-1</sup>), e até mesmo na testemunha, esses explantes mostraram-se oxidados, não apresentando nenhum tipo de crescimento ou embriões somáticos.

Os resultados mais promissores foram registrados no rizoma, que resultaram na maior frequência de explantes com embriões somáticos em todas as concentrações de glutamina, sendo que nos níveis de 100 e 150 mg L<sup>-1</sup> houve 100% de explantes com embrião nas fases globular e torpedo (Figura 1C). Já na concentração de 200 mg L<sup>-1</sup> de glutamina essa frequência foi menor, porém foi a que favoreceu a maior formação de calos embriogênicos (33%). Estes resultados estão de acordo com trabalhos desenvolvidos por Khalil et al. (2002) e Strosse et al. (2003), que obtiveram embriões somáticos em bananeira utilizando este mesmo meio de cultura, com 100 mg L<sup>-1</sup> de glutamina.

Em relação ao meio de cultura sem reguladores de crescimento, utilizado como testemunha, não houve formação de calos embriogênicos em nenhum dos três tipos de explante (Tabela 1), ocorrendo oxidação e necrose tanto nas folhas como nas raízes. No entanto, a maioria dos segmentos do rizoma desenvolveu brotos com raízes, provavelmente originados de regiões meristemáticas, caracterizando um processo tipicamente organogênico, o que é interessante, em vista da ausência total de reguladores de

crescimento desse meio. Foi observado, também nos rizomas, a presença de calos friáveis não embriogênicos.

A transferência dos embriões somáticos para o meio de cultura MS, suplementado com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 0,2 mg L<sup>-1</sup> de BAP possibilitou o desenvolvimento dos meristemas radicular e apical dos mesmos (Figura 1D), quando mantidos por 2 meses de cultivo.

Esses resultados mostram que a indução de embriogênese somática em caroá está fortemente relacionada ao tipo de explante utilizado e que a glutamina na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> favorece o processo embriogênico. Outro aspecto importante a ser mencionado foi a obtenção de plantas completas e normais a partir desses embriões.

Tabela 1. Frequência (%) de explantes de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.] sem nenhum crescimento (SC), com calos embriogênicos (CE) e com embriões somáticos (ES), cultivados sob diversas concentrações de glutamina.

Concentrações de glutamina (mg L <sup>-1</sup> ).	Tipo de explantes								
	RAIZ			FOLHA			RIZOMA		
	SC	CE	ES	SC	CE	ES	SC	CE	ES
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
50	68	16	16	83	0	17	0	8	92
100	59	41	0	0	34	66	0	0	100
150	84	16	0	100	0	0	0	0	100
200	100	0	0	100	0	0	0	33	67



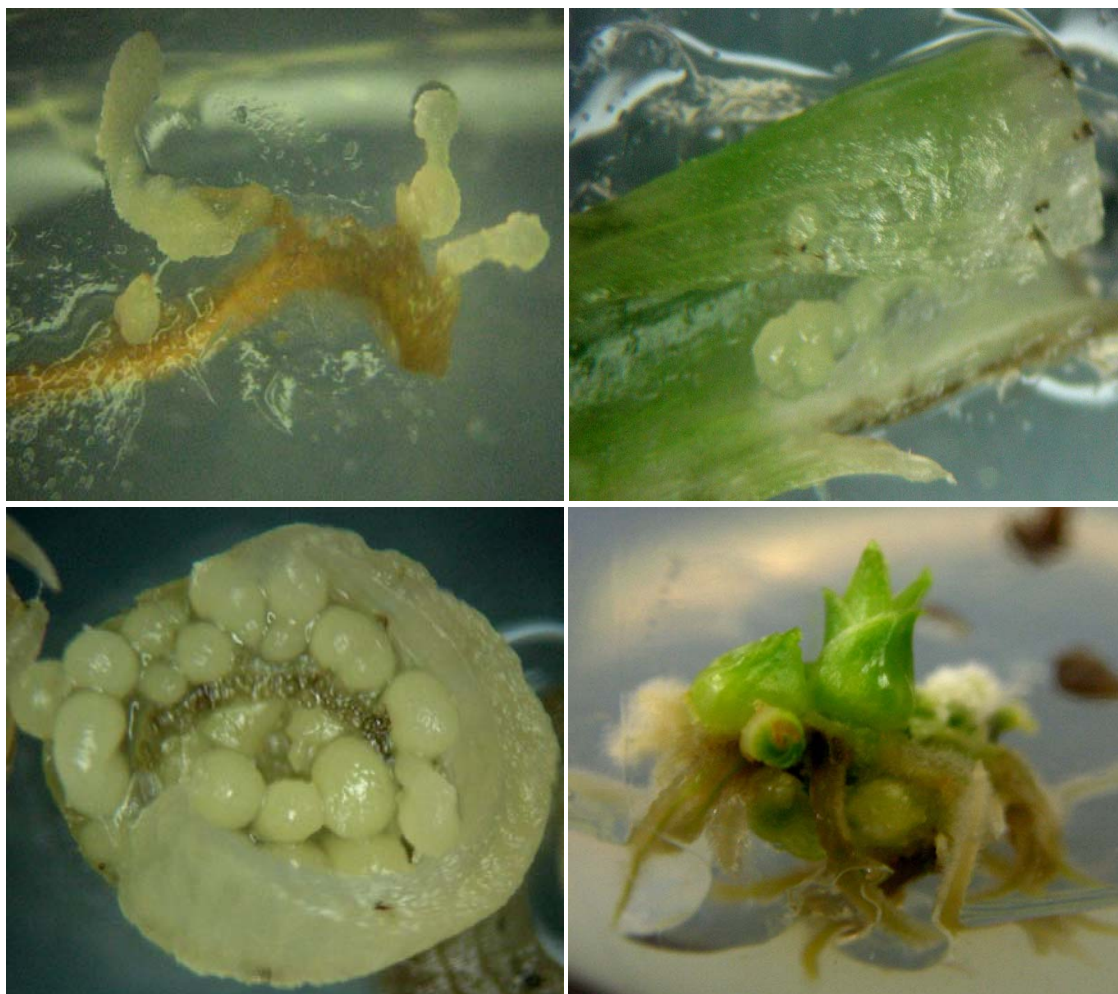


Figura 1. Embriogênese somática em caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.]. A: formação de embriões na extremidade da raiz; B: início da formação de embriões globulares na folha; C: embriões em fase globular e torpedo no rizoma; e D: brotos obtidos a partir de embriões somáticos.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos são promissores e mostram a viabilidade do uso desta técnica em programas de multiplicação e conservação da espécie *N. variegata*. No entanto, novos trabalhos devem ser realizados no sentido de ajustar um protocolo, a partir dos resultados encontrados nesse trabalho, visando aumentar a formação de embriões somáticos em plantas de caroá.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G.M., DAL VESCO L.L., GUERRA, M.P. Micropropagation of the Brazilian endemic bromeliad *Vriesea reitzii* through nodule clusters culture. **Scientia Horticulturae**, v.110, p.204-207, 2006.

AMMIRATO, P.V. Embryogenesis. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan Publisher, 1983. p.82-123.

DUBLIN, P. Multiplicación vegetativa de café, hevea e cacao. In ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. (Eds.). **Cultivo de tejidos en la agricultura; fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT, 1991. p.612-642.



HIGASHI, K.; KAMADA, H., HARADA, H. The effects of reduced nitrogenous compounds suggests that glutamine synthetase activity is involved in the development of somatic embryos in carrot. **Plant Cell Tissue Organ and Culture**, v.45, p.109-114, 1997.

KHALIL, S.M.; CHEAH, K.T.; PEREZ, E.A.; GASKILL, D.A.; HU, J.S. Regeneration of banana ( *Musa* spp. AAB cv. Dwarf Brazilian) via secondary somatic embryogenesis. **Plant Cell Reports**, v.20, p.1128-1134, 2002.

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

POMPELLI, M.F. & GUERRA, M.P. Ex situ conservation of *Dyckia distachya*: an endangered bromeliad from South Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.4, n.3, p.273-279, 2004.

POMPELLI, M.F.; FERNANDES, D.; GUERRA, M.P. Somatic embryogenesis in *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae) an endangered bromeliad from south Brazil. **Propagation of Ornamental Plants**, v.5, n.4, p.192-198, 2005.

RECH FILHO, A.; DAL VESCO, L.L.; NODARI, R.O.; LISCHKA, R.W.; MÜLLER, C.V.; GUERRA, M.P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v.14, p.1799-1808, 2005.

SILVEIRA, D. G.; SOUZA, F. V. D.; PELACANI, C.; SANTANA, J. R. F. Multiplicação *in vitro* de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.]. In: Reunião Nordestina de Botânica, 29, 2006, Mossoró. **Resumos...**: Mossoró: Sociedade de Botânica do Brasil, 2006. 1 CD-ROM.

STROSSE, H.; DOMERGUE, R.; PANIS, B.; ESCALANT, J.; CÔTE, F. Banana and plantain embryogenic cell suspensions. 2003. In: VÉZINA, H.; PICQ, C.(Eds.). **INIBAP Technical Guidelines 8**. Montpellier: INIBAP, 2003. 31p.

XAVIER, L. P. **O caroá**. 2 ed. Natal: Emparn, 1982. 270 p. (Emparn. Documentos, 7. ESAM. Coleção Mossoroense, 247).

#### PALAVRAS-CHAVES

*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez., Bromeliaceae, cultura de tecidos, moforgênese, produção de mudas.

## Estabelecimento *in vitro* e indução de calos em lichia (*Litchi chinensis* Sonn).

Corrêa, Ricardo Monteiro <sup>1</sup>, José Eduardo Brasil Pereira Pinto<sup>2</sup>; Érika Soares Reis<sup>3</sup>; Wagner Campos Otoni<sup>4</sup>, Carolina Mariane Moreira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Dep. de Agricultura, C.P. 3037, Campus UFLA. 37200-000, Lavras-MG. e-mail: ricardomonc7@yahoo.com.br. <sup>2</sup>Professor – UFLA, e-mail: jeduardo@ufla.br. <sup>3</sup>Mestre em Agronomia/Fitotecnia. UFLA, e-mail: erikasreis@yahoo.com.br.; <sup>5</sup> Professor, Universidade Federal de Viçosa, wotoni@ufv.br; <sup>4</sup> Acadêmica do curso de Biologia – UFLA.

### INTRODUÇÃO

A lichia é uma frutífera originária da China, sendo considerada em todo o mundo como a “Rainha das frutas” por sua aparência e sabor delicado, semelhante ao da uva “Itália” e com aspecto similar a um morango.

No Brasil, as regiões de expressiva produção são os estados de São Paulo e Paraná. A comercialização desta fruta no Brasil ainda é pequena, concentrando-se em algumas cidades de maior porte como São Paulo e Rio de Janeiro. O preço da fruta *in natura* oscila entre R\$ 5,00 e R\$ 15,00/kg dependendo da região.

As pesquisas em torno da lichieira têm sido intensificadas nos últimos anos. No entanto, no Brasil, apesar da potencialidade de exploração comercial da cultura, os poucos estudos realizados centralizam-se nos frutos e não na planta como um todo.

A propagação da lichieira pode ser realizada tanto de forma sexuada quanto assexuada. Por via sexual, a propagação de lichia apresenta alguns entraves como perda rápida de viabilidade, ocorrência de segregação varietal e presença de longo período juvenil (10 anos ou mais para começar a produzir frutos). Assexualmente, ela é propagada via alporquia, enxertia ou estaquia, sendo a alporquia o método mais comum. A alporquia apresenta consideráveis obstáculos à expansão da cultura no Brasil, pois além dela ser considerado um procedimento caro, esse método de propagação possui baixo rendimento e produz pequeno número de mudas por planta matriz. Além disso, a alporquia proporciona graves danos à planta matriz, devido à quantia de anelamentos efetuados (Raharjo e Litz, 2005).

O Brasil tem elevado potencial para se tornar grande produtor desta fruta, podendo gerar excedentes para exportação, visto que o país possui clima propício para expansão desta cultura, que se adapta bem ao clima subtropical.

A cultura de tecidos vegetais é uma técnica que permite otimizar o processo produtivo de muitas espécies vegetais, fazendo com que espécies de difícil propagação sejam multiplicadas *in vitro*. Plântulas germinadas *in vitro* a partir de sementes são excelentes fontes de explantes para diversos processos *in vitro* devido à sanidade e vigor das plântulas obtidas.

Assim, alternativas de propagação assexual por cultura de tecidos para a lichieira podem ser úteis para sanar estes entraves de propagação desta espécie otimizando o processo produtivo. Todavia, são restritos os trabalhos na literatura visando à propagação via cultura de tecidos desta espécie. Raharjo e Litz (2005) mostraram que é possível regenerar plantas de lichia cv. ‘Brewster’ por meio da embriogênese somática a partir de embriões imaturos, sendo o primeiro relato de embriogênese somática em lichia.

O objetivo deste trabalho foi estudar a germinação de sementes de lichia *in vitro* em função de agentes de desinfestação e avaliar o potencial de explantes foliares juvenis na indução de calos.

### METODOLOGIA

Os ensaios foram conduzidos no laboratório de cultura de tecidos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de Janeiro a março de 2006. Inicialmente, frutos de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) cv. Bengal foram coletados de plantas adultas localizadas no município de Ijaci-MG. As sementes foram isoladas dos frutos e

selecionadas descartando-se as sementes com poucas reservas e/ou injuriadas.

#### **Ensaio I:** Germinação de sementes de lichia em função de agentes de desinfestação.

As sementes obtidas na etapa anterior foram imersas em água corrente por 4 horas e posteriormente reservadas para os processos de assepsia. O processo de assepsia consistiu na combinação dos agentes de desinfestação: Hipoclorito de sódio (HS: Água sanitária comercial com 2,5% de cloro ativo) e água oxigenada (3 volumes) de acordo com os seguintes tratamentos: 1) Testemunha (sem assepsia); 2) HS a 0,75%; 3) HS a 1,25%; 4) HS a 1,75%; e 5) HS a 2,5% sendo todos os tratamentos 2, 3, 4 e 5 combinados com água oxigenada 3 vol.. As sementes foram imersas por 20 minutos nas soluções desinfestantes de acordo com os tratamentos e, posteriormente, imersas em água oxigenada por 10 minutos. As sementes após serem desinfestadas foram lavadas 3 vezes em água destilada autoclavada e inoculadas em câmara de fluxo laminar inoculando-se 2 sementes por frasco. O meio de cultura foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) líquido com  $\frac{1}{4}$  da força (concentração) dos sais e sem sacarose de acordo com o protocolo de Corrêa et al. (2006) para germinação *in vitro* de lichia, sendo que cada frasco (300 mL) continha alíquotas de 20 mL de meio.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 8 repetições e a parcela experimental composta por 4 frascos e 2 sementes por frasco. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 1$  °C e fotoperíodo de 16 horas.

Ao final de 15 dias foram avaliadas a percentagem de germinação de sementes e a percentagem de contaminação por fungos e bactérias.

#### **Ensaio II:** Indução de calos em explantes foliares de lichia.

Plântulas de lichia obtidas *in vitro* no ensaio I foram doadoras de explantes para os ensaios de indução de calos. Folhas jovens (cerca de 3 mm<sup>2</sup>) foram isoladas das plântulas matrizes para a indução de calos.

Neste ensaio foram avaliadas cinco concentrações de 2,4-D em duas condições de indução (claro e escuro), sendo um ensaio conduzido no ambiente claro e o outro ensaio conduzido no ambiente escuro de acordo com as concentrações de 2,4-D descritas abaixo. O meio indutor foi o MS sólido (0,2% de Phytigel) e 3% de sacarose contendo as seguintes concentrações de ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D): 1) MS sem regulador; 2) MS + 9,05 µM de 2,4-D; 3) MS + 18,1 µM de 2,4-D; 4) MS + 27,1 µM de 2,4-D; 5) MS + 36,2 µM de 2,4-D.

Segmentos foliares de 1 cm<sup>2</sup> foram isolados de plântulas de lichia pré-estabelecidas *in vitro* e inoculadas em tubos de ensaio (7,5 mm x 28 mm) sendo posteriormente mantidos em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 1$  °C e fotoperíodo de 16 horas para o ensaio conduzido no ambiente claro (irradiância de 25 µM m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e temperatura de  $25 \pm 1$  °C sob ausência de luz para o ensaio conduzido no escuro.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 8 repetições (1 explante foliar por tubo) e a parcela experimental composta por 4 tubos de ensaio.

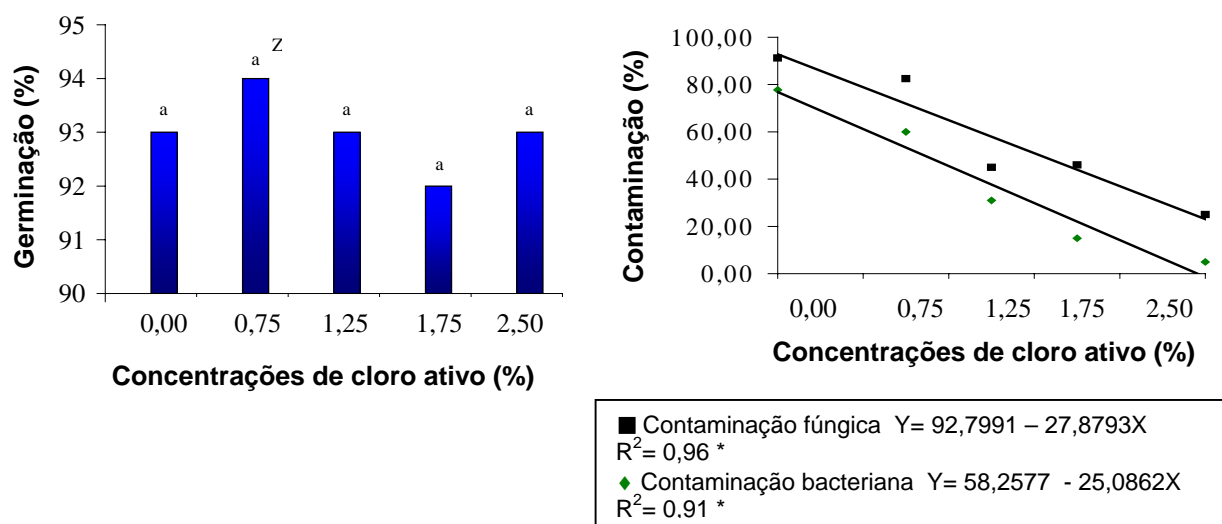
Ao final de 45 dias foram avaliados a percentagem de explantes com calos e a percentagem da área do explante coberta com calos.

Os dados obtidos nos ensaios I e II foram submetidos a análise de variância e os tratamentos analisados por teste de F e regressão polinomial a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não houve efeito dos agentes de desinfestação na percentagem de germinação de sementes de lichia *in vitro* ( $p < 0,05$ ). Porém, para a percentagem de contaminação fúngica e bacteriana houve efeito significativo dos agentes de desinfestação. Observou-se que o HS

combinado com a água oxigenada não interferiu na germinação das sementes, evidenciando que a solução de HS pode ser usada sem maiores diluições na desinfestação de sementes de lichia. No entanto, a percentagem de contaminação das sementes foi reduzida com a adição de concentrações crescentes de HS, sendo mínima a contaminação quando desinfestada com 2,5% de cloro ativo (HS sem diluição). Todos os tratamentos com concentrações de hipoclorito também foram desinfestadas com água oxigenada 3 vol. evidenciando que a contaminação bacteriana foi reduzida com a presença deste agente, chegando a valores mínimos quando foi combinada com 2,5% de cloro ativo (HS) (Figura 1).

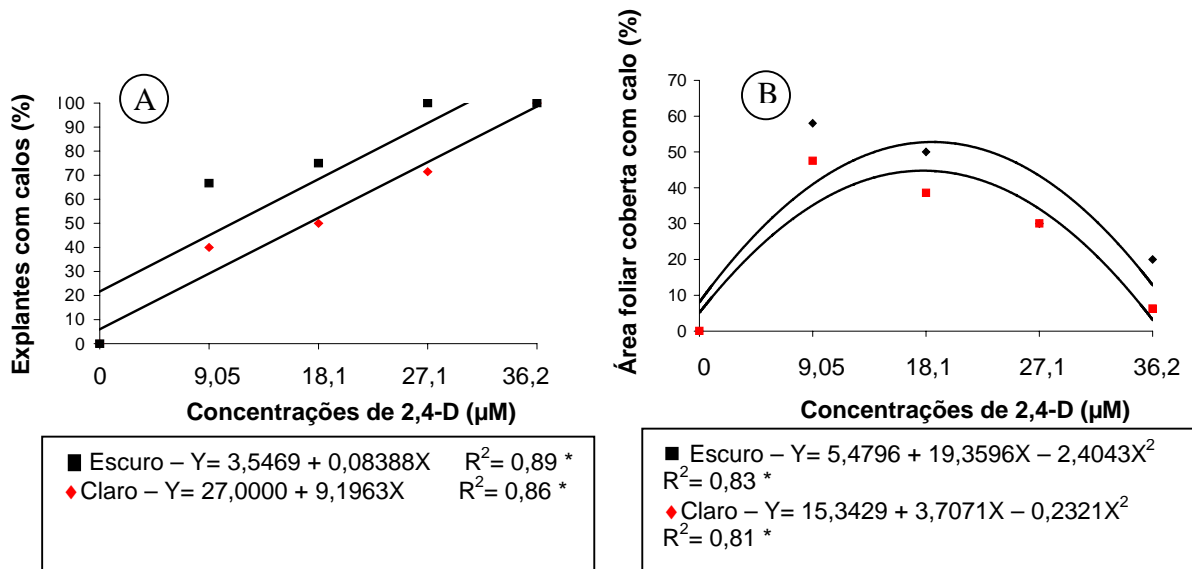


Z – As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

**Figura 1:** Percentagens de germinação e de contaminação fúngica e bacteriana de sementes de lichia germinadas *in vitro* em meio ¼ MS sem sacarose em função de concentrações de cloro ativo.

Diferentes concentrações de 2,4-D influenciaram significativamente a percentagem de explantes com calos e a percentagem da área foliar com calogênese ( $p < 0,05$ ). Observou-se efeito linear para as concentrações de 2,4-D para a percentagem de explantes com calos tanto no claro quanto no escuro (Figura 2A). Porém, para a percentagem da área foliar coberta com calos houve tendência quadrática das concentrações de 2,4-D, sendo que no escuro foi obtida maior percentagem de área coberta (55,66% da área do explante cultivado em 19,2  $\mu\text{M}$  de 2,4-D) em relação ao ambiente claro (Figura 2B).

Santos et al. (2005) relata que para *Salix* (*Salix humboldtiana*) maior percentagem de explantes com calos e maior cobertura da área foliar por calos foi obtida na dosagem de 27,1  $\mu\text{M}$  de 2,4-D, embora os explantes tenham sido cultivados no claro. Já Almeida et al. (2001) relata que para o mamoeiro calos (oriundos de explantes foliares e cotiledonares) cultivados no escuro induzem a maior formação de calos friáveis embriogênicos.



\* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

**Figura 2:** Percentagem de explantes com calos (A) e percentagem da área foliar coberta com calos (B) em função de concentrações de 2,4-D cultivados no ambiente claro e escuro.

No presente trabalho os calos obtidos de lichia tanto no claro quanto no escuro não foram friáveis; testes histoquímicos (com os corantes carmin acético e azul de Evans) para identificação de células embriogênicas confirmaram que os calos de lichia obtidos neste ensaio não apresentaram características embriogênicas.

## CONCLUSÕES

Nas condições em que os ensaios foram realizados conclui-se que o cloro ativo combinado com água oxigenada são efetivos no controle das contaminações fúngicas e bacterianas durante a germinação *in vitro*.

Maior percentagem de explantes foliares coberto com calos é obtido em meio de cultivo contendo 19,2 µM de 2,4-D.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E.P; OLIVEIRA, R.P.; DANTAS, J. L.L. Indução e desenvolvimento de calos e embriões somáticos em mamoeiro. *Scientia Agrícola*, v.58, n.1, Piracicaba, 2001.

CORRÊA, R.M.; PINTO, J.E.B.P.; REIS, E.S.R. Germinação *in vitro* de lichia. In: XV Congresso dos Pós-Graduandos da Universidade Federal de Lavras-UFLA. Lavras-MG. 2006.

SANTOS, B.R; PAIVA, R.; MARTINOTTO, C.; NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, P.D.O. Indução de calos friáveis em explantes foliares de *Salix (Salix humboldtiana Willd)*. *Revista Ciência Rural*, v.35, n.3, Santa Maria, 2005.

RAHARJO, S.H.T.; LITZ, R.E. Clonal regeneration of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) via somatic embryogenesis. In: International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species. Daytona Beach, Florida, 2005.

**PALAVRAS-CHAVES:** *Litchi chinensis* Sonn., germinação *in vitro*, indução de calos.

## **Efeito da glutamina na indução de embriogênese somática a partir de inflorescências masculinas em bananeiras triplóides (*Musa sp.*)**

Morais Lino, Lucymeire Souza<sup>1</sup>; Santos-Serejo, Janay Almeida dos<sup>2</sup>; Silveira, Daniela Garcia<sup>3</sup>; Silva, Sebastião de Oliveira e<sup>2</sup>; Santana, José Raniera Ferreira de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), 44031-460, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3224-8132, e-mail: [ismorais@yahoo.com.br](mailto:ismorais@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, C.P. 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8031, e-mail: [janay@cnpmf.embrapa.br](mailto:janay@cnpmf.embrapa.br), [ssilva@cnpmf.embrapa.br](mailto:ssilva@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Botânica (UEFS), e-mail: [danielags@ig.com.br](mailto:danielags@ig.com.br); <sup>4</sup>Professor da Pós-Graduação da UEFS, Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, e-mail: [raniera@uefs.br](mailto:raniera@uefs.br).

### **INTRODUÇÃO**

A bananeira (*Musa spp.*) é de grande importância econômica e social para o Brasil, sendo cultivada de norte a sul do país. A banana se destaca entre os principais produtos agrícolas, ocupando o segundo lugar, dentre as frutas, na preferência dos consumidores brasileiros. As cultivares de bananeira mais difundidas no Brasil são as triplóides: Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, utilizadas principalmente na exportação, e Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, do grupo AAB (Silva et al., 1999).

O melhoramento tradicional dessa cultura se depara com muitos problemas, como a dificuldade na obtenção de sementes em frutos partenocárpicos e a esterilidade das bananeiras comerciais. No entanto, as técnicas de cultura de tecidos constituem uma alternativa promissora para a propagação dessa cultura, pois a principal meta é a produção massal de indivíduos geneticamente idênticos e fisiologicamente uniformes, com desenvolvimento normal e com plantas livres de doenças, pragas e vírus (Kozai et al., 1997).

Dentre as técnicas de propagação *in vitro*, a embriogênese somática destaca-se por apresentar vantagens como a alta taxa de multiplicação comparada a qualquer outro processo de propagação, o escalonamento da produção pela manutenção da cultura em meio líquido, o plantio direto da muda obtida via embriogênese somática com menor custo de produção, além de a planta ser geneticamente igual à planta mãe (Zimmerman, 1993). A fase de indução de embriogênese é considerada de grande importância por obter embriões somáticos bem formados, contribuindo com as fases subsequentes de desenvolvimento, isto é, a maturação e a conversão em plantas (Fillipi et al., 2001b). Entre os explantes que tem sido utilizado, as flores masculinas imaturas são as que têm apresentado melhores respostas a culturas embriogênicas em bananeira (Becker et al., 2000; Jalil et al., 2003; Strosse et al., 2003). Além disso, o uso da glutamina também tem favorecido a maior produção de embriões somáticos de qualidade em bananeira (Khalil et al., 2002; Strosse et al., 2003). Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a indução de embriogênese somática a partir de inflorescências masculinas de três variedades de bananeira triplóide em diferentes concentrações de glutamina.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Utilizou-se inflorescências masculinas de bananeiras das variedades 'Grande Naine', 'Maçã' e 'Terra Maranhão' que foram coletadas no Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, em Cruz das Almas (BA) e levadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais dessa instituição. Inicialmente, reduziu-se essas inflorescências para um tamanho de 10 cm de comprimento, as quais foram, posteriormente, lavadas em solução de água e detergente.

Em câmara de fluxo laminar estéril, sob condições de assepsia, este material foi borrifado com álcool 70% e flambado duas vezes. Após esse processo de desinfestação, iniciou-se a retirada dos dicásios (flores imaturas) das inflorescências masculinas com auxílio de um microscópio estereoscópio, cortados com ajuda de um bisturi e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura de Strosse et al. (2003). O meio de cultura foi

constituído de sais e vitaminas do MS (Murashige & Skoog, 1962) com 3% de sacarose, solidificado com 0,7% de agar e suplementado com 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA, 4 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA, variando-se as concentrações de glutamina (0, 50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup>), com pH ajustado para 5,8 e autoclavados durante 20 minutos a 121°C. As placas foram mantidas em sala escura, com temperatura de 27 ± 1°C, até a formação de calos embriogênicos e/ou embriões somáticos.

O delineamento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 (variedades de bananeira) x 5 (concentrações de glutamina), com 12 repetições por tratamento, sendo que cada repetição continha 6 explantes. O material foi observado semanalmente até 120 dias, avaliando-se a frequência de embriões somáticos e/ou calos embriogênicos (%) e a frequência de calos não embriogênicos.

Os embriões somáticos formados foram transferidos para meio de cultura líquido para estabelecimento de células em suspensão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 90 dias de cultivo *in vitro* das flores imaturas das cultivares Grande Naine, Maçã e Terra Maranhão observou-se somente a formação de calos de coloração amarelada, independente da concentração de glutamina. Já após quatro meses de cultivo, observaram-se diferentes respostas entre as cultivares de bananeiras utilizadas e as concentrações de glutamina (Tabela 1).

Na cultivar Grande Naine só ocorreu formação de embriões somáticos (50%) nos meios de cultura desprovido de glutamina (Figura 1A) e com a concentração de 200 mg L<sup>-1</sup>. Nas outras doses ocorreu a formação de calos não embriogênicos, exceto no meio de cultura com a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de glutamina, onde as flores imaturas mostraram-se oxidadas, não apresentando nenhum tipo de crescimento ou embriões somáticos.

Em relação a bananeira 'Maçã' houve formação de embriões somáticos de coloração esbranquiçada (Figura 1B) nas concentrações de 50, 100 e 150 mg L<sup>-1</sup> de glutamina com frequências de 60%, 50% e 40%, respectivamente (Tabela 1), sendo que as flores imaturas que não formaram embriões oxidaram (Figura 1D). Também, observou-se nesta cultivar a não formação de calos embriogênicos em nenhuma das concentrações utilizadas de glutamina e, sim, verificou-se a presença de calos esbranquiçados e com aparência esponjosa (não embriogênicos).

Na bananeira 'Terra Maranhão' registrou-se a presença de embriões somáticos nas concentrações de 50, 100 e 200 mg L<sup>-1</sup> de glutamina (Figura 1C), já nas demais doses houve formação de calos não embriogênicos com aparência descrita anteriormente.

Apesar da baixa frequência de embriões somáticos induzidos nas cultivares de bananeiras estudadas, os embriões formados em cada variedade foram isolados e inoculados em meio de cultura para estabelecimento de suspensão celular.

Esses resultados mostram que cada variedade responde diferentemente a determinada concentração de glutamina adicionada ao meio de cultura para indução de embriogênese somática.

Tabela 1. Frequência (%) de embriões somáticos (ES) e calos não embriogênicos (CNE), obtidos do cultivo de inflorescências masculinas das cultivares de bananeiras Grande Naine, Maçã e Terra Maranhão em meio de cultura para indução de embriogênese somática utilizando cinco concentrações de glutamina.

Cultivares	Concentração de glutamina (mg L <sup>-1</sup> )									
	0		50		100		150		200	
	ES	CNE	ES	CNE	ES	CNE	ES	CNE	ES	CNE
Grande Naine	50	50	0	100	0	0	0	100	50	50
Maçã	0	0	60	40	50	50	40	60	0	50
Terra Maranhão	0	50	30	70	20	0	0	40	40	60



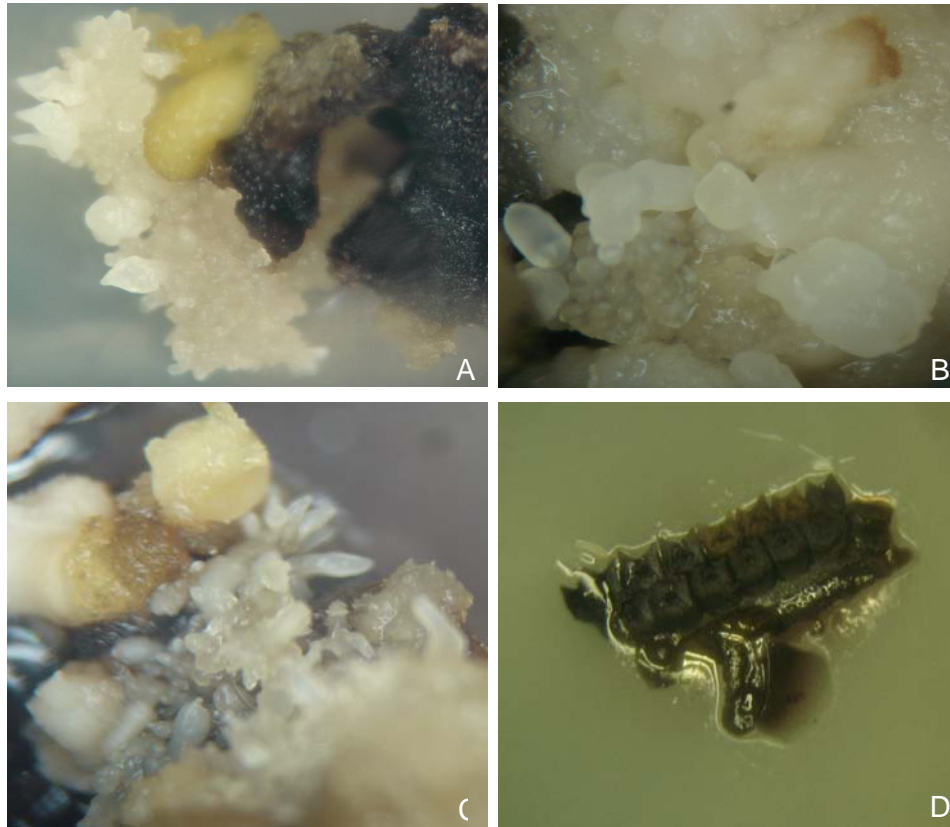


Figura 1. Diferentes respostas da glutamina na indução de embriogênese somática em inflorescência masculina de bananeira: A: Grande Naine em meio de cultura sem glutamina, B: Maçã em 50 mg L<sup>-1</sup> de glutamina, C: 'Terra' em 200 mg L<sup>-1</sup> de glutamina; D: Inflorescência masculina com oxidação.

#### CONCLUSÕES

Com os resultados desse trabalho, verificar-se que cada variedade responde diferentemente a determinada concentração de glutamina adicionada ao meio de cultura. Ficando claro, a dependência genotípica para se obter sucesso com a embriogênese somática em bananeira.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Becker, D.K. ; Dugdale, B.; Smith M.K.; Harding, R.M.; Dale, J.L. Genetic transformation of Cavendish banana ( *Musa* spp. AAA group) cv 'Grand Nain' via microprojectile bombardment. **Plant Cell Reports**. V. 19, p.229–234, 2000.

FILIPPI, S. B.; Appezzato-da-Gloria, B.; Rodriguez, A. P. M. Variações morfológicas de embriões somáticos obtidos a partir de inflorescências de bananeira. **Scientia Agricola**, v.58, n.4, p.711-716, 2001.

JALIL, M.; KHALID, N.; OTHMAN, R. Y. Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of *Musa acuminata* cv. Mas (AA). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 75: 209–214, 2003.

KOZAI, T; KUBOTA, C.; BYOUNG, R.J. Enviromental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, p.49-56, 1997.



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

SILVA, S. O.; ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. 1999. Cultivares. In: ALVES, E. J. (Org.). A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. 2. ed. rev. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPMF, p. 85-105.

STROSSE, H.; DOMERGUE, R.; PANIS, B.; ESCALANT, J.; CÔTE, F. Banana and plantain embryogenic cell suspensions. 2003. In: VEZINA & PICQ (Eds.). INIBAP Tec. Guidelines 8. INIBAP, Montpellier, France. 31p.

ZIMMERMANN, J. L. Somatic Embryogenes: a model for early development in higher plantas. *Plant Cell*, v.5, p.1411-1423, 1993.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Musa sp*, cultura de tecidos, embriões somáticos.

## **Controle de polifenóis em folhas jovens de Mangueira (*Mangifera indica* L.) cultivadas *in vitro***

Lorena Alves Mattos<sup>1</sup>; [Fernanda Vidigal Duarte Souza](#)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduanda da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 44380 000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 8811-4748, e-mail: [agrolorena@yahoo.com.br](mailto:agrolorena@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/n, C.P. 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8872, e-mail: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br)

Os programas de melhoramento genético de mangueira buscam principalmente a diversificação de cultivares comerciais, visando cultivares que sejam tolerantes ou resistentes às principais doenças e possuam características superiores à 'Tommy Atkins', cultivar largamente cultivada e que ocupa o mercado. A biotecnologia possui ferramentas que podem ser de grande auxílio no melhoramento genético da mangueira. No entanto, a cultura de tecidos de espécies lehosas, passa inicialmente pela dificuldade de desinfestação e controle de polifenóis dos materiais de partida a serem usados como explante. Dentre os antioxidantes usados, a cisteína tem apresentado resultados positivos no cultivo *In vitro* de embriões de manga. Em vista disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a resposta do cultivo de folhas jovens, no que se refere ao controle de polifenóis em dois meios de cultura relatados para o cultivo de tecidos de mangueiras, incluindo-se a cisteína como agente anti oxidante. O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia Vegetal na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical e como material vegetal foram utilizadas folhas jovens e recém expandidas da variedade poliembriônica Carlota, mais precisamente, o limbo foliar e a nervura, retiradas de plantas provenientes do telado de produção de mudas. Foram utilizados dois meios de cultivo a seguir: M1 - macronutrientes do estoque meio Gambord (B5), micronutrientes e vitaminas do MS; M2 – WPM. Ambos foram complementados com 1 mg . L<sup>-1</sup> de 2,4 D, 400 mg . L<sup>-1</sup> de glutamina , 100 mg . L<sup>-1</sup> de cisteína, 60 g/L de sacarose e 2,2 g/L de fitagel, sendo o pH ajustado para 5,8. Os explantes foram incubados em ausência de luz a uma temperatura de 27 ± 2° C. Foram realizadas avaliações às 24, 48 e 72 horas, assim como aos 10 e 20 dias após a inoculação dos explantes. Verificou-se diferentes respostas em relação às partes do explante: limbo e nervura. Nas avaliações realizadas nas 72 horas após o cultivo, o limbo foliar cultivado no meio M2 apresentou menor oxidação, quando comparado com o que foi cultivado com o M1. Por outro lado, as nervuras, se mantiveram sem oxidação nesse último meio (M1), sem mostrar, no entanto, nenhum tipo de desenvolvimento. Nas avaliações aos 10 e 20 dias a oxidação chegou a aproximadamente 100% no limbo foliar em ambos os meios.

**PALAVRAS CHAVES:** melhoramento genético, cultura de tecidos, oxidação de explante

## Organogênese *in vitro* de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Atlantic visando à transformação genética.

Rezende, Rodrigo Kelson Silva<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Paiva, Luciano<sup>3</sup>; Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>4</sup>; Paiva, Renato<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista do CNPq, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1172, e-mail: [rkelsonsr@yahoo.com.br](mailto:rkelsonsr@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Agricultura (UFLA), fone (35) 3829-1783, e-mail: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Química (UFLA), fone (35) 3829-1624, e-mail: [luciano@ufla.br](mailto:luciano@ufla.br); <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, bolsista de Iniciação Científica FAPEMIG, e-mail: [gabi\\_bioufla@hotmail.com](mailto:gabi_bioufla@hotmail.com); <sup>5</sup>Professor do Departamento de Biologia (UFLA), fone (35) 3829-1359, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das mais importantes oleráceas cultivadas no Brasil, com área plantada em torno de 182.000 hectares e produção ao redor de 2,7 milhões de toneladas (Choer, 2003). A batata apresenta características importantes para a transformação genética, tais como susceptibilidade à infecção por *Agrobacterium tumefaciens* – sistema de transferência de genes mais utilizado para espécies dicotiledôneas – e a relativa facilidade com que plantas transgênicas têm sido regeneradas a partir de diferentes explantes, através de diferentes sistemas de cultura de tecidos. Além disso, o modo de propagação desta espécie, vegetativamente, permite que a expressão clonal de um indivíduo transformante de batata ocorra sem variação epistática da expressão do transgene, a qual muitas vezes ocorre durante a propagação sexual (Vayda & Belknap, 1992).

A técnica de cultivar tecidos de plantas *in vitro* tem servido como ferramenta em diversas áreas da agricultura. Particularmente para a cultura da batata, esta técnica pode ser muito útil quando pretende-se trabalhar com transformação genética desta espécie.

Objetivou-se estabelecer um protocolo para regeneração de brotações de batata, cultivar Atlantic, combinando-se diferentes tipos e doses de reguladores de crescimento, visando posteriores estudos envolvendo transformação genética.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório Central de Biologia Molecular (LCBM) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) utilizando-se plantas de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Atlantic, cedidas pela empresa de biotecnologia Multiplanta, localizada no município de Andradas – MG.

Foram utilizados como explantes segmentos internodais medindo 0,7 - 0,8cm de comprimento, obtidos de plantas doadoras com 3-4 semanas de idade. Inoculou-se os explantes em placas de petri contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sólido, suplementado com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose e diferentes tipos e doses de reguladores de crescimento (ANA: ácido naftaleno-acético, AIA: ácido indol-3-acético e ZEA: zeatina ribosídeo) combinados aleatoriamente, resultando em diferentes tratamentos, conforme mostra a tabela 1. Cada tratamento consistiu de 2 repetições(placas) com 10 explantes em cada.

Incubou-se as placas durante 30 dias em câmara de crescimento com temperatura de 23°C ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 43µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. As variáveis estudadas após 30 dias foram: % de explantes contendo calo desenvolvido, e % de explantes contendo brotações.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o número de calos e brotos formados variou de acordo com o tratamento empregado (Figura 1). Exceto no tratamento controle, todos os tratamentos

propiciaram a formação de calos, sendo que o tratamento T7 apresentou o melhor resultado, pois proporcionou 100% de calogênese. Este mesmo tratamento também propiciou a maior formação de brotos (30%). Não houve formação de brotos no tratamento controle (T1) e nos tratamentos em que se utilizou a combinação de AIA e ZEA (T8 à T13).

De maneira geral, a suplementação do meio de cultura com diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento tem influência direta no processo de morfogênese *in vitro* (Grattapaglia & Machado, 1998).

Segundo Skoog & Miller (1957) níveis mais elevados de citocininas em relação aos de auxinas induzem a formação de brotos. Isto pode ser observado, por exemplo para o tratamento T7, onde a concentração de ZEA (citocinina) foi de 5,0mg L<sup>-1</sup> e a de ANA (auxina) foi de 1,0 mg L<sup>-1</sup>.

A morfogênese de calos nem sempre leva à formação de brotações viáveis. Embora brotos e raízes possam ser emitidos, pode não ocorrer uma conexão vascular entre eles, o que é de extrema necessidade para a viabilização do propágulo (Wetmore & Rier, 1963).

Campos (1995) trabalhando com batata cv. Baronesa, obteve 80% de explantes com formação de calos e 46% de formação de brotos utilizando diferentes meios de cultura, propostos por Trinca et al. (1991).

O tratamento T7 foi o que propiciou melhores resultados para a regeneração *in vitro* de batata cv. Atlantic.

Tabela 1. Tratamentos obtidos por meio da interação entre diferentes concentrações de ANA, AIA e ZEA.

Tratamento	ANA (mg L <sup>-1</sup> )	AIA (mg L <sup>-1</sup> )	ZEA (mg L <sup>-1</sup> )
T1	0	0	0
T2	0,1	0	0,1
T3	0,1	0	1,0
T4	0,1	0	5,0
T5	1,0	0	0,1
T6	1,0	0	1,0
T7	1,0	0	5,0
T8	0	0,1	0,1
T9	0	0,1	1,0
T10	0	0,1	5,0
T11	0	1,0	0,1
T12	0	1,0	1,0
T13	0	1,0	5,0

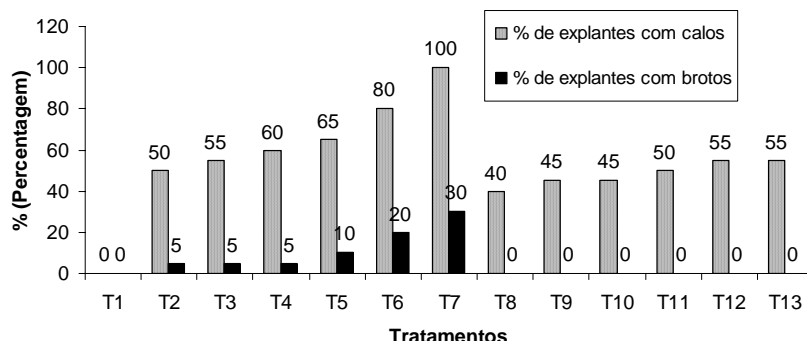


Figura1. Percentagem de formação de calos e brotos em segmentos internodais de batata cv. Atlantic, após 30 dias de cultivo *in vitro*.

## CONCLUSÕES

Foi possível estabelecer um protocolo de organogênese *in vitro*, a partir de internós de batata cv. Atlantic, visando a transformação genética desta espécie. Para tal procedimento recomenda-se utilizar o meio MS sólido suplementado com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 5mg L<sup>-1</sup> de ZEA e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPOS, M. A. **Sistema de transformação de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar baronesa mediado por *Agrobacterium tumefaciens***. 1995. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitomelhoramento). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

CHOER, E. Origem e Evolução. In: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. (Eds.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.57-68.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, n.15, p. 473-97, 1962.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultures in vitro. **Symp. Soc. Exp. Biol.**, n.11, p.118-31, 1957.

TRINCA, S.; DE PACE, C.; CACCIA, R.; SCARASCIA-MUGNOZZA, G.; DODDS, J.H.; JANES, J. Transformation of potato (*Solanum tuberosum* L.) leaf disc using *A. tumefaciens* mediated transfer of DNA sequences coding for lytic peptides. In: **Molecular methods for potato improvement**. Report of the panning conference on application of molecular techniques to potato germplasm enhancement, International Potato Center (CIP), 5-9, March 1990, Lima, peru, p. 85-95, 1991.

VAYDA, M.E.; BELKNAP, W.R. The merngence of transgenic potatoes as commercial products and tools for basic science. **Transgenic Research**, v.1, p.149-163, 1992.

WETMORE, R. H.; RIER, J. P. Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperms. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 50, n. 5, p. 418-430, May 1963.

## PALAVRAS-CHAVES

*Solanum tuberosum* L; batata; organogênese; cultivo *in vitro*; transformação genética.

## Germinação *in vitro* de Maracujá-de-Papoco (*Passiflora* sp.)

SANTOS, Paulo Augusto Almeida<sup>1</sup>; SANTANA, Marlucia Cruz de<sup>2</sup>; SANTOS, Edilton Rodrigues<sup>1</sup>; SOUZA, Margarete Magalhães de<sup>3</sup>; SILVA-Carlos Davi Santos<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Bolsista Copes/Pibic Graduando Ciências Biológicas/UFS, Av. Marechal Rondon s/n São Cristóvão, SE, fone(79) 21056673, e-mail:paugustosantos@hotmail.com; <sup>2</sup> Professora do Departamento de Biologia da UFS, Av. Marechal Rondon s/n São Cristóvão, SE, fone(79) 21056673, e-mail:mar@ufs.br; <sup>3</sup> Professora do Departamento de Biologia da UESC; <sup>4</sup> Mestrando do PRODEMA/UFS, Av. Marechal Rondon s/n São Cristóvão, SE, fone(79) 21056673, e-mail: carlosdavi\_santos@yahoo.com.br

O maracujazeiro (*Passiflora* spp.) é originário da América tropical, sendo o Brasil um dos mais importantes centros de diversidade por possuir mais de 150 espécies nativas. Poucos estudos envolvem espécies silvestres. A propagação por sementes de *Passiflora* spp. é dificultada por problemas como dormência e desuniformidade na germinação. A pesquisa objetivou testar a eficiência do ácido giberélico e da incisão na semente de maracujá-de-papoco (*Passiflora* sp.) sobre a germinação *in vitro*. Sementes obtidas em frutos maduros tiveram o arilo retirado e desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) durante 20 minutos; em seguida foram lavadas com água autoclavada e inoculadas em meio Y3, adicionado de vitaminas de Morel & Wetmore, sacarose (3%), ágar 0,6%. Foram avaliados o efeito da incisão no tegumento da semente na região do hilo e o efeito do ácido giberélico (1mg.L<sup>-1</sup>) sobre a germinação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (T1: sem ácido giberélico e sem incisão na semente; T2: sem ácido giberélico e com incisão na semente; T3: com ácido giberélico e sem incisão na semente; T4: com ácido giberélico e com incisão na semente). Cada tratamento com 14 repetições. A emissão da radícula foi o critério adotado como primeiro sinal de germinação. A unidade experimental consistiu de um recipiente com 4 sementes. O cultivo foi feito inicialmente no escuro. Após a emissão da plúmula e da raiz, os explantes foram cultivados num fotoperíodo de 16 horas, sob irradiância de 45  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . A temperatura da sala de crescimento foi regulada em 27 °C  $\pm$  1. O maior número de sementes germinadas foi obtido nos tratamentos 2 e 4, com médias de 0,93 e 0,93. O desvio padrão do tratamento 2 e 4 foi, respectivamente, 0,92 e 1,14. Conclui-se que a incisão no tegumento da semente foi eficiente na germinação *in vitro* de maracujá-de-papoco.

### PALAVRAS-CHAVE:

Cultura de tecidos; embrião zigótico; Passifloraceae.

## Aclimatização de mudas micropropagadas de patchouli.

Santos, Aline Vieira<sup>1</sup>; Arrigoni-Blank, Maria de Fátima<sup>2</sup>; Blank, Arie Fitzgerald<sup>1</sup>; Tavares, Fernanda Ferreira<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>UFS Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos – DEA, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, email: aline\_ufs@hotmail.com; <sup>2</sup>Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas – Itabaiana – SE, email: arrigoni @ufs.br. (Apoio: RARO'S).

### INTRODUÇÃO

O patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) é uma espécie pertencente à família Lamiaceae que possui grande valor comercial devido ao óleo essencial extraído de suas folhas. É uma espécie originária da Malásia, Filipinas e sul da Índia, mas que devido ao seu valor comercial têm sido cultivada em várias partes do mundo (DONELIAN, 2004).

A aclimatização é a fase da micropropagação em que ocorre a transferência das mudas produzidas *in vitro* para o ambiente externo, a casa de vegetação e, posteriormente, para o campo. É constituída basicamente de duas etapas: o enraizamento (*in vitro* e *in vivo*) e a transferência para condições não estéreis com temperatura e umidade controladas (SILVA et al., 2003). Nesse processo as plantas passam por modificações morfo-anatômico-fisiológicas para que as mesmas sobrevivam ao novo ambiente. É um processo criterioso e exige muitos cuidados, pois a planta passa de um ambiente de baixa transpiração para outro que exige maior incremento, podendo ocorrer estresse hídrico (ZANADREA et al., 2005).

Durante as fases da cultura *in vitro*, as plantas crescem sob condições especiais, em ambientes fechados, com poucas trocas gasosas, com alta umidade do ar, baixa intensidade luminosa e utilizando açúcares do meio como fonte de carbono e energia, estando assim numa condição heterotrófica. Todas estas condições podem determinar a formação de plantas com morfologia, anatomia e fisiologia anormais, dificultando a aclimatização. Estas anormalidades geradas pela cultura *in vitro* são alterações na cutícula, cera epicuticular, não funcionalidade do aparato estomático e conseqüentemente, perda expressiva de água das células e diminuição do processo fotossintético (ROGALSKI et al., 2003).

Vários fatores influenciam o processo de aclimatização como o tipo de substrato utilizado, a qualidade das raízes formadas *in vitro*, o genótipo, o estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico (*in vitro*) para autotrófico, infecção por patógenos, estresse pela luz, além das possíveis variações de temperatura (SILVA et al., 2003). Dentre os fatores citados o substrato é um dos que apresentam maior influência na aclimatização. O substrato apresenta marcada influência no processo de enraizamento adventício e sobre a qualidade das raízes formadas, desempenhando um papel crucial na sobrevivência e desenvolvimento inicial da nova planta. Este também afeta a aeração, o escurecimento do ambiente de enraizamento, pH, umidade e resistência física, entre outros (HOFFMANN et al., 2001). Assim a escolha do substrato apropriado pode ser decisiva para a aclimatização.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes tipos de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas de patchouli (*P. cablin*).

### METODOLOGIA

Este trabalho foi conduzido em estufa agrícola protegida com tela sombrite 50% e nebulização intermitente, localizada no Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe (UFS), utilizando-se de plântula micropropagadas de patchouli (*P. cablin*).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições e quatro plântulas por repetição. Plântulas enraizadas foram transferidas para bandejas de poliestireno expandido, com 72 células contendo os substratos: pó de coco + Biosafra (3-12-6) (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1 g.L<sup>-1</sup>) [PBC]; pó de coco + vermiculita (2:1) + Biosafra (3-12-6) (6 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (0,5 g.L<sup>-1</sup>) [PCBV (2:1)]; pó de coco + vermiculita (1:1) +

Biosafra (3-12-6) (7,5 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (0,625 g.L<sup>-1</sup>) [PBCV (1:1)] e vermiculita acrescido de sais do MS, sendo 15mL da mistura de sais por planta [VS].

Após 30 dias de aclimatização foram avaliados altura da planta (cm), comprimento de raiz (cm), o número de brotações por planta, o número de folhas por planta, as massas fresca e seca (g) de folha, caule e raiz. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, foram comparados pelo Tuckey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não houve diferenças significativas para as variáveis, sobrevivência, altura de plantas e número de folhas em todos os substratos analisados, enquanto que para o comprimento de raiz os substratos PBCV (1:1) e VS foram os que proporcionaram os maiores valores (Tabela 1).

Para as massas, fresca e seca de folha o melhor entre os substratos testados foi a vermiculita acrescida de sais do MS (Tabela 2). Para a massa fresca e seca de caule o substrato que se mostrou menos eficiente foi o pó de coco + Biosafra (12 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (1 g.L<sup>-1</sup>). Já SILVA et al. (2003) observaram um maior peso de matéria fresca da parte aérea utilizando o substrato Plantmax + vermiculita na aclimatização de gloxínia. E na aclimatização do porta-enxerto de macieira Marubakaido por HOFFMANN et al. (2001) a vermiculita foi o substrato menos eficiente entre os cinco tipos testados.

Diante dos resultados obtidos recomenda-se o uso do substrato pó de coco + vermiculita (1:1) + Biosafra (3-12-6) (7,5 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (0,625 g.L<sup>-1</sup>) para aclimatização de patchouli, em virtude de ter apresentado um dos melhores resultados para as variáveis analisadas e pelo fácil acesso e baixo custo do pó de coco na região nordeste. Além destes fatores, com o consumo do pó de coco como substrato agrícola contribui-se para redução do lançamento desse resíduo ao meio ambiente (BEZERRA & ROSA, 2002).

TABELA 1. Médias de sobrevivência, altura, comprimento de raiz e número de folhas de plantas micropropagadas de patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.), em função dos diferentes substratos para aclimatização. São Cristóvão, UFS, 2007.

Substrato	Sobrevivência (%)	Altura de plantas (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Número de Folhas
PBC	100,0 a	5,2 a	10,4 b	3,6 a
PBCV (2:1)	100,0 a	6,8 a	12,6 b	3,8 a
PBCV (1:1)	100,0 a	6,7 a	11,5 ab	3,7 a
VS	85,0 a	7,0 a	13,6 a	4,1 a
C. V. (%)	11,62	18,62	10,77	19,03

Médias com a mesma letra, dentro da coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tuckey a 5% de significância.

TABELA 2. Efeito do substrato sobre as médias de massa fresca e seca de folha, caule e raiz de patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.). São Cristóvão, UFS, 2007.

Substrato	Massa Fresca (g)			Massa Seca (g)		
	Folha	Caule	Raiz	Folha	Caule	Raiz
PBC	0,366 b	0,205 b	0,340 a	0,060 b	0,023 b	0,023 a
PBCV (2:1)	0,622 b	0,289 ab	0,641 a	0,099 b	0,034 ab	0,039 a
PBCV (1:1)	0,670 b	0,301 ab	0,444 a	0,092 b	0,034 ab	0,029 a
VS	1,061 a	0,417 a	0,387 a	0,193 a	0,05 a	0,031 a
C. V. (%)	29,36	27,72	37,56	24,58	27,30	30,08

Médias com a mesma letra, dentro da coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tuckey a 5% de significância.

## CONCLUSÃO

Para aclimatização de mudas de patchouli recomenda-se o uso do substrato pó de coco + vermiculita (1:1) + Biosafra (3-12-6) (7,5 g.L<sup>-1</sup>) + calcário (0,625 g.L<sup>-1</sup>).



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEZERRA, F. C.; ROSA, M. F. **Comunicado Técnico 71: Utilização do pó da casca de coco-verde como substrato para produção de mudas de alface.** 1 ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002.

DONELIAN, A. **Extração do óleo essencial de patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth] utilizando dióxido de carbono supercrítico.** 2004. 142 f. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHLFUN, N. N. J.; FRÁGUAS, C. B. Efeito de substratos na aclimatização do porta-enxerto de macieira Marubakaido. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.462-467, 2001.

ROGALSKI, M.; MORAES, L. K. A. de; FELISBINO, C.; CRESTAN, L.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. da. Aclimatização de porta-enxertos de *Prunus sp.* micropropagados. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.279-281, 2003.

SILVA, A. B. da; PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. de R.; DUTRA, L. F. BAP e substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.2, p.255-260, 2003.

ZANADREA, I.; TURCHETTO, A. C.; NASSI, F. de L.; RIBEIRA, M. V.; SCHIMITZ, D. D.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. **Aclimatização de Plantas de Tagetes sp. Após Cultivo in vitro.** Disponível em <[http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/CB\\_01300.rtf](http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/CB_01300.rtf).> Acesso em 18 Nov 2006.

## PALAVRAS-CHAVES

*Pogostemon cablin*; substratos alternativos; pó de coco;

## Efeito do manitol na conservação *in vitro* de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui<sup>\*</sup>.

Ledo, Ana da Silva<sup>1</sup>; Cunha, Adriane Oliveira<sup>2</sup>; Vieira, Giuseppe Serra Seca<sup>3</sup>; Freire, Karla Cristina Santos<sup>4</sup>; Machado, Caroline Araújo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: [analedo@cpatc.embrapa.br](mailto:analedo@cpatc.embrapa.br); <sup>2</sup>Bolsista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: [aoliveiracunha@yahoo.com.br](mailto:aoliveiracunha@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Estudante de pós-graduação da UFS/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: [giuseppe@cpatc.embrapa.br](mailto:giuseppe@cpatc.embrapa.br); <sup>4</sup>Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, email: [karla@cpatc.embrapa.br](mailto:karla@cpatc.embrapa.br); <sup>5</sup>Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: [carol@cpatc.embrapa.br](mailto:carol@cpatc.embrapa.br)

### INTRODUÇÃO

Técnicas de cultura de tecidos têm sido aplicadas como estratégias complementares para a conservação de recursos genéticos vegetais e apresentam vantagens (Nass, 2001), como a manutenção de um grande número de acessos num pequeno espaço físico e livres dos riscos que existem em condições *ex vitro*. A conservação de plantas *in vitro* se baseia no cultivo das coleções em laboratório, a partir da técnica de cultura de tecidos (George, 1993). Nestas condições, a conservação de germoplasma *in vitro* pode ser feita a partir de mudanças no ambiente de cultivo para desacelerar ou suprimir totalmente o crescimento de células, tecidos e órgãos (Withers & Williams, 1998).

O manitol apresenta um efeito retardante no crescimento e desenvolvimento de um grande número de espécies, e é utilizado com bastante frequência na conservação *in vitro*. Normalmente, este carboidrato é adicionado ao meio, para redução do seu potencial hídrico. Assim, os cultivos são sujeitos a uma desaceleração no seu crescimento, devido a um estresse osmótico causado pela redução na absorção de água e nutrientes do meio (Fortes & Pereira, 2001).

O coqueiro é a palmeira de maior importância sócio-econômica das regiões tropicais. Os principais países produtores de coco, segundo a FAO (2007), são Filipinas (13 mil t), Indonésia (13 mil t) e Índia (9 mil t). O Brasil é atualmente o quarto maior produtor com 2.695.200 t. A Embrapa Tabuleiros Costeiros vem implementado um programa de melhoramento genético e conservação de germoplasma para a espécie há mais de 20 anos. Dessa forma o estabelecimento de técnicas alternativas e complementares de conservação torna-se prioritário. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do manitol sobre o crescimento de embriões zigóticos de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui visando a conservação *in vitro* como estratégia complementar.

### METODOLOGIA

As atividades foram conduzidas no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Foram utilizados embriões zigóticos de frutos maduros, com 11 a 12 meses após a fertilização, de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui (AVeBrJ) proveniente do Banco Ativo de Germoplasma de Coco da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no Campo Experimental do Betume, em Neópolis, SE. Cilindros de endosperma com embriões, extraídos de frutos maduros, foram submetidos a uma pré-asepsia com imersão em NaClO comercial e lavados em água potável, por três vezes, no local da coleta. Em condições assépticas, os embriões foram excisados das seções de endosperma, imersos em álcool etílico a 70% por dois minutos e, em seguida, em solução de NaClO comercial por 20 minutos sob agitação. Foram lavados quatro vezes em água destilada e autoclavada e inoculados em meio de cultura Y3 (Eeuwens, 1976) gelificado com 0,7% de agar na presença de 2,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado. O manitol foi adicionado ao meio de cultura nas concentrações de 0; 0,2; 0,3 e 0,4 M. As culturas foram mantidas em sala de

---

<sup>\*</sup> Apoio Financeiro: Embrapa e CNPq; concessão de bolsa ITI: CNPq

crescimento na ausência de luz até a indução da parte aérea e, em seguida, foram transferidas para fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela experimental constituída de três tubos de ensaio com um embrião cada. Aos 125 dias de cultivo foi avaliada a percentagem de germinação dos embriões e aos 160 e 365 dias o comprimento da parte aérea e comprimento da raiz primária das plântulas e percentagem de sobrevivência das plântulas. As médias foram submetidas à análise da variância pelo teste F e, quando significativo, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise estatística dos dados, utilizou-se o programa SISVAR (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre as concentrações de manitol para os caracteres avaliados. Na ausência de manitol observou-se 100% de germinação e maior desenvolvimento tanto da parte aérea (1,44 cm), como da raiz (5,70 cm) (Tabela 1; Figura 1A). A adição de manitol nas concentrações estudadas promoveu uma redução na percentagem de germinação dos embriões aos 125 dias e no desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular aos 160 dias. Resultados semelhantes foram obtidos por Damasco (2002) para cultivares de coqueiro anão amarelo e coqueiro gigante.

Tabela 1. Médias da percentagem de germinação (% GERM) aos 125 dias e do comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CR) e percentagem de sobrevivência (% SOB) de plântulas de coqueiro AVeBrJ aos 160 e 365 dias de cultivo em meio Y3 suplementado com diferentes concentrações de manitol.

Manitol (M)	% GERM	CR (cm)	CPA (cm)	CR (cm)	CPA (cm)	% SOB
	125 dias	160 dias			365 dias	
0,0	100,00a	1,44a	5,70a	8,0a	9,2a	100,00a
0,2	93,33a	0,97b	2,59b	4,71ab	3,66b	81,25ab
0,3	80,00ab	0,88b	1,83b	1,80c	2,70c	62,50bc
0,4	60,00b	0,55b	1,28b	1,60c	1,36c	56,25c
CV (%)	21,91	20,79	27,74	52,72	24,09	19,00

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

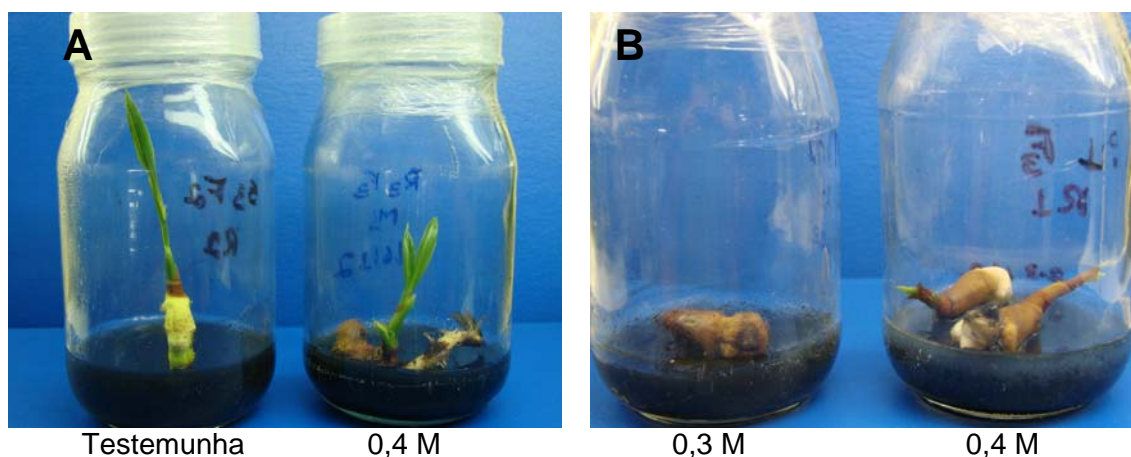


Figura 1. (A) Efeito da adição de 0,4 M de manitol em meio Y3 no desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de coqueiro AVeBrJ aos 365 dias de cultura; (B) Necrose de culturas mantidas em meio Y3 com 0,3 e 0,4 M de manitol aos 365 dias.

Aos 365 dias de cultivo observou-se o efeito retardante sob o crescimento do sistema radicular e parte aérea das plântulas mantidas em meio de cultura com 0,3 e 0,4 M de manitol (Tabela 1). Entretanto, nestas concentrações foi observada a necrose das culturas com redução na sobrevivência das plântulas (Figura 1B). Fortes & Pereira (2001) em estudos de conservação de hastes de batata também observaram que os tratamentos com manitol reduziram efetivamente o crescimento das hastes e apenas 37% de sobrevivência dos explantes em três meses de cultivo. Este fato pode ser explicado pelo efeito altamente estressante do manitol sobre as culturas.

Apesar de ser utilizado com bastante freqüência na conservação *in vitro* por apresentar um efeito retardante no crescimento e desenvolvimento de um grande número de espécies, no presente trabalho o manitol mostrou efeitos negativos na sobrevivência de plântulas de coqueiro AVeBrJ.

## CONCLUSÕES

A adição de manitol a 0,3 ou 0,4 M promove um menor crescimento da parte aérea e da raiz, entretanto recomenda-se a condução de estudos com outros retardantes osmóticos e hormonais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DAMASCO, O. P. Utilization of embryo culture technology for germoplasm conservation: development of medium term conservation for coconut zygotic embryos in the Philippines. In: ENGELMANN, F.; BATUGAL, P.; OLIVER, J. (ed) **Coconut in vitro culture**: part II. Serdang: IPGRI-APO, 2002. p. 67-79, 2002.

EEUWENS, C. J. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, v. 36, p. 23-28, 1976.

FAO. World Production. Disponível em: <<http://apps.fao.org/page/collection?subset=agriculture>>. Acesso em 23 mar. 2007.

FORTES, G. R. de L.; PEREIRA, J. E. S. Preservação *in vitro* da batata com ácido acetilsalicílico e duas fontes de carboidrato. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36 n.10, p. 1261-1264, 2001.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45<sup>a</sup> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. **Anais...UFSCar**, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Exegetic: Edington, 1993, 547 p.

NASS, L. L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 30-55.

WITHERS, L. A; WILLIAMS, J. T. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: TORRES *et al.* [ed.]. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. v.1, p. 297-330.

## PALAVRAS-CHAVE

*Cocos nucifera* L., germoplasma, regulador osmótico, crescimento lento.

## Efeitos de diferentes carboidratos no desenvolvimento de calos de *Ginkgo biloba* L.

Mantovani, Nilton<sup>1</sup>; Grando, Magali Ferrari<sup>2</sup>, Otoni, Wagner Campos<sup>3</sup>, Grison, Tobias Pizzato<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFV), Campus Universitário. CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-2519, email: [mantovani.nilton@gmail.com](mailto:mantovani.nilton@gmail.com); <sup>2</sup>Professora do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo (UPF), Campus Universitário, Caixa Postal 661, CEP 99001-970, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, fone (54) , email: [magali@upf.br](mailto:magali@upf.br), <sup>3</sup> Professor da Universidade Federal de Viçosa (UFV), email: [wotoni@ufv.br](mailto:wotoni@ufv.br); <sup>4</sup>Acadêmico do curso de Agronomia (UPF), email: [tobiasgrison@yahoo.com.br](mailto:tobiasgrison@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

*Ginkgo biloba* L., é uma gimnosperma lenhosa, que sintetiza valiosos metabólitos, os glicosídeos flavonóides (quercetina, kaempferol e isorhamnetina) e as lactonas terpênicas (ginkgolídeos e bilobalídeo) (Van Beek et al., 1998). Estes metabólitos são amplamente utilizados na medicina, em função de suas propriedades terapêuticas, que estão relacionadas à regulação da circulação sanguínea e proteção contra radicais livres (O'Reilly, 1993). Estes compostos são acumulados nas folhas, cascas, e nas raízes de ginkgo (Yu et al., 1999).

As indústrias farmacêuticas têm explorado o potencial medicinal dos compostos extraídos principalmente das folhas do ginkgo, através da produção de extratos padronizados. No entanto, a possibilidade de produzir *in vitro* os compostos medicinais de *G. biloba*, em calos e suspensões celulares, tem despertado o interesse por pesquisas nesta área (Carrier et al., 1991; Balz et al., 1999; Yu et al., 1999; Kang et al., 2006).

Os efeitos de diferentes fatores físico-químicos, no crescimento de calos de ginkgo foram investigados por Yu et al. (1999), porém, pouca atenção tem sido dada aos efeitos do tipo de carboidrato na produção de calos.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos carboidratos sacarose, glicose, frutose, galactose e maltose, no desenvolvimento de calos de *G. biloba*, produzidos a partir de explantes foliares.

### MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e obtenção dos explantes: folhas expandidas de plantas-matrizes adultas de *G. biloba*, cultivadas em casa de vegetação, foram utilizadas como fontes de explantes. Em condições assépticas, as folhas foram desinfestadas com etanol 70% (v/v) por 1 minuto e água sanitária 50% (v/v) por 10 minutos, e em seguida enxaguadas três vezes com água destilada e autoclavada, para a obtenção dos explantes. Discos foliares de 6mm de diâmetro, e segmentos de pecíolos de 10mm de comprimento, foram utilizados como explantes para a indução de calos.

Os explantes foram inoculados em placa de Petri descartáveis de poliestireno (90 X 15 mm), vedadas com filme de PVC, contendo alíquotas de 25 ml de meio de cultura.

Fase de indução de calos: calos foram induzidos em explantes foliares, cultivados em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com sacarose (87,6 mM), mio-inositol (100 mgL<sup>-1</sup>), Agar (7,0 gL<sup>-1</sup>), 2,4D (1,0 mgL<sup>-1</sup>) e KIN (0,1mgL<sup>-1</sup>), com pH 5,7.

Para avaliar os efeitos de diferentes carboidratos no desenvolvimento de calos, foram testados os carboidratos sacarose, glicose + frutose, galactose, e maltose, na concentração de 87,6 mM, adicionados ao meio de cultura MS, especificado na fase anterior.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 6 repetições (placas de Petri) por tratamento, e cada repetição constituída de 4 calos, com peso inicial de 200 mg cada um, totalizando 800 mg de calo por repetição.

Os calos foram pesados a cada 21 dias, e subcultivados no mesmo meio de cultura. No final de 3 subcultivos, a massa fresca (mg), e a taxa de crescimento (mg), dos calos foram determinadas. As culturas foram mantidas à temperatura de 25 ± 2 °C, sob



fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de  $36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , na fase de indução e desenvolvimento dos calos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 apresenta a folha bilobada característica (Figura 1 A), os tipos de explantes (Figura 1 B, C e D), utilizados na indução de calos em *G. biloba*, e a seqüência do processo calogênico (Figura 1 E – H).

A formação de calos foi observada inicialmente como proliferações celulares nas margens dos discos foliares, geralmente associadas às nervuras (Figura 1 E e F) e nas extremidades dos segmentos de pecíolo (Figura 1 G). Aos 30 dias de cultivo os calos formados foram separados dos explantes primários e subcultivados por mais 30 dias no mesmo meio.

Calos de coloração branco-amarelada, e estrutura friável (Figura 1 H), se desenvolveram nos explantes, nos diferentes tratamentos contendo sacarose, glicose + frutose, galactose, ou maltose, na concentração de 87,6 mM, após 3 subcultivos.



Figura 1 – Tipos de explantes utilizados na indução de calos e seqüência do processo calogênico em *G. biloba*. Folha (A), disco foliar (B), disco foliar com parte do pecíolo (C), segmento de pecíolo (D), início do processo calogênico (E, F e G), calo padrão, branco-amarelado friável (H). Barras = 6,0 mm (A), 3,0 mm (B – H).

O desenvolvimento dos calos foi influenciado pelo tipo de carboidrato no meio de cultura (Figura 2). A sacarose foi o carboidrato que proporcionou maior crescimento médio dos calos (394,57 mg), em relação à massa fresca, em três subcultivos. A maltose e a galactose não diferiram estatisticamente, e proporcionaram menor crescimento dos calos que a mistura de glicose mais frutose.

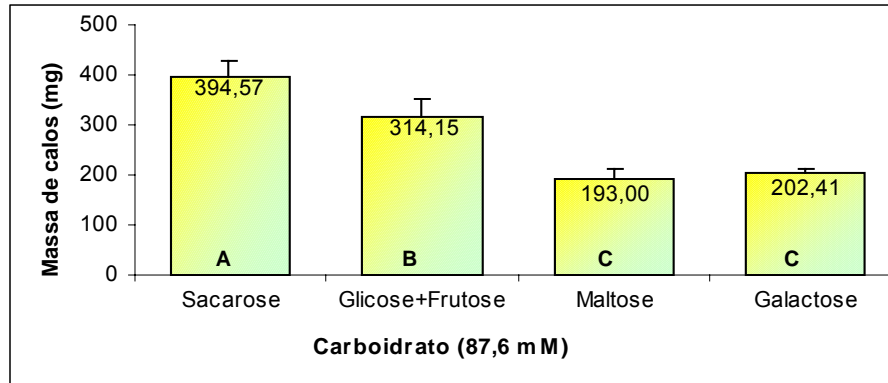


Figura 2 – Média da massa fresca de calos, em 3 subcultivos, no meio de cultura MS, suplementado com 2,4D ( $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ ) e KIN ( $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ ) e diferentes carboidratos. Colunas com letras iguais, indicam que as médias não diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam desvios das médias.

A avaliação do comportamento das taxas de crescimento dos calos (Figura 3), indica que a sacarose, além de proporcionar maior crescimento médio dos calos, manteve a produção de massa fresca, em taxas crescentes em 3 subcultivos. Os demais carboidratos proporcionaram taxas decrescentes de crescimento ao longo deste período.

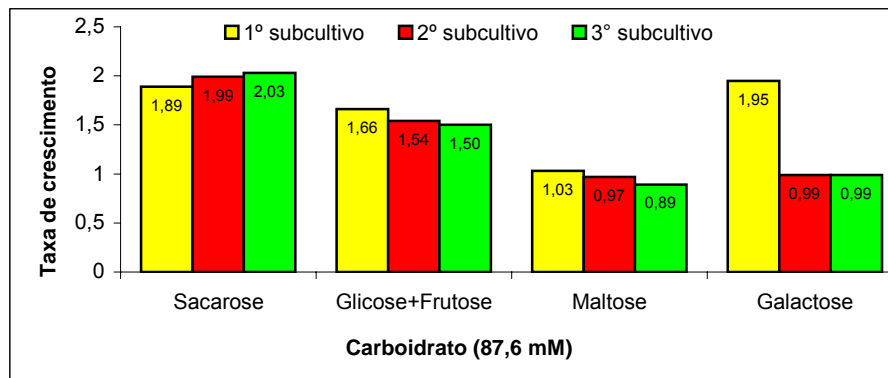


Figura 3 – Taxas de crescimento dos calos, em 3 subcultivos, no meio de cultura MS, suplementado com 2,4D ( $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ ) e KIN ( $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ ) e diferentes carboidratos.

## CONCLUSÃO

A sacarose é o carboidrato mais indicado para o desenvolvimento de calos de *G. biloba*, induzidos em explantes foliares em meio de cultura MS suplementado com 2,4D ( $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ ) e KIN ( $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ ). A sacarose na concentração utilizada ( $87,6 \text{ mM}$ ), induziu a maior produção de massa fresca de calos, e manteve crescente suas taxas de crescimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALZ, J.P., COURTOIS, D., DRIEU, J. DRIEU, K., REYNOIRD, J.P., SOHIER, C., TENG, B.P., TOUCHÉ, A., PÉTIARD, V. Production of Ginkgolides and Bilobalide by *Ginkgo biloba* plants and tissue cultures. **Planta Medica**. v. 65, n. 7, p.620-626, 1999.

CARRIER, D.J., CHAURET, N., MANCINI, M., COULOMBE, P., NEUFELD, R., WEBWER, M., ARCHAMBAULT, J. Detection of ginkgolide A in *G. biloba* cell cultures. **Plant Cell Rep.** v. 10, p. 256-259, 1991.

KANG, S.M., MIN, J.Y., KIM, Y.D., KANG, Y.M., PARK, D.J., JUNG, H.N., KIM, S.W., CHOI, M.S. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of bilobalide and ginkgolides in cell cultures of *Ginkgo biloba*. **In vitro Cell. Dev. Biol. – Plant.** v. 42, p. 44-49, 2006.

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

O'REILLY, J. Ginkgo biloba – cultivation, extraction, and therapeutic use of the extract. In: VAN BEEK T.A., BRETELER, H. (Eds). **Phytochemistry and Agriculture**. Clarendon Press, Oxford, p.253-270, 1993.

VAN BEEK, T.A, BOMBARDELLI, E., MORAZONI, P. PETERLONGO, F. *Ginkgo biloba* L. **Fitoterapia**, v.69, p. 195-244, 1998.

YU, R.M., ZHAO, H., ZHENG, Y. YAO, X., ZHANG, H. Studies on the callus cultures of *Ginkgo biloba* and its metabolites-Ginkgolides. **Chinese Journal of Biotechnology**, v.15, n.1, p.51-58, 1999.

PALAVRAS-CHAVES: *Ginkgo biloba* L; calogênese, carboidratos, massa fresca, taxa de crescimento



## Calogênese *in vitro* em diferentes tipos de explantes de nim indiano na presença de BAP.

Leite, Nadjma Souza<sup>1</sup>; Léo, Ana da Silva<sup>2</sup>; Souza, Roberto Rodrigues de<sup>3</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>4</sup>; Santos, Micaele da Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bolsista UFS/Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: [nadjma@cpatc.embrapa.br](mailto:nadjma@cpatc.embrapa.br); [micacostal@hotmail.com](mailto:micacostal@hotmail.com); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: [analedo@cpatc.embrapa.br](mailto:analedo@cpatc.embrapa.br); <sup>3</sup>Professor titular do Departamento de Engenharia Química da UFS, Av. Marechal Rondon, s/n Jardim Rosa Elze CEP 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, fone (79) 2105-6600, email: [rrsouza@ufs.br](mailto:rrsouza@ufs.br); <sup>4</sup>Pesquisadora do Deagro, email: [sarah@cpatc.embrapa.br](mailto:sarah@cpatc.embrapa.br)

A espécie arbórea *Azadirachta indica* A. Juss, cujo nome popular é nim indiano, um dos representantes da família Meliaceae, possui substâncias com propriedades bioinseticidas e medicinais. Dessas substâncias, com atividade biológica, a mais ativa é a azadiractina, que, em altas concentrações, causa à morte de insetos. A cultura de calos tem permitido o estabelecimento *in vitro*, proporcionado a propagação em larga escala de diversas espécies, além da obtenção de bioprodutos. O presente trabalho objetivou avaliar a resposta nos diferentes tipos de explantes quanto à indução de calo para futuros trabalhos de quantificação e extração da azadiractina. Segmentos caulinares, foliares, nodais e radiculares obtidos de plantas germinadas *in vitro*, foram inoculados em meio de cultura MS suplementado com 3% de sacarose e com 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições. Os dados de percentagem de explantes com calo e percentagem de oxidação aos 20 dias após a inoculação foram transformados para  $\sqrt{x+0,5}$  e submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância. Conforme análise de variância houve diferença estatística entre os tratamentos para a percentagem de explantes com calo e percentagem de oxidação. Os segmentos nodais, caulinares e foliares não apresentaram oxidação e obtiveram 100; 100 e 90% de formação de calo, respectivamente, sendo superiores aos segmentos radiculares, que obtiveram apenas 40% dos explantes com calo e 60% de oxidação. Os segmentos nodais, caulinares e foliares na presença de 0,4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP em meio de cultura MS apresentam maior potencial para formação de calos.

### PALAVRAS-CHAVES

*Azadirachta indica*; Meliaceae; calogênese; oxidação.

## Germinação *in vitro* de pólen de *Portulaca* sp – testes preliminares.

Lattuada, Daiane S.<sup>1</sup>; Fior, Claudimar S.<sup>2</sup>; Rodrigues, Lia Rosane<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia, Estagiária no Banco de Sementes do Jardim Botânico da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (JB/FZB-RS). daiane.lattuada@via-rs.net. <sup>2</sup>Eng. agrônomo, coordenador do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do JB/FZB-RS. culturadetecidos@fzb.rs.gov.br. <sup>3</sup>Pesquisadora da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária. Caixa postal 44, Veranópolis, RS, CEP 93550-000. liarr@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

A família Portulacaceae possui inúmeras espécies com centro de origem na América do Sul. Entre as mais conhecidas encontra-se *Portulaca oleraceae*, com propriedades medicinais, e *P. grandiflora*, com emprego ornamental (Lorenzi & Matos, 2002).

Em março de 2006, exemplares de uma espécie ou variedade botânica do gênero *Portulaca* foram encontrados vegetando sob sol pleno em solo arenoso no município de São Francisco de Assis por profissionais do JB/FZB-RS. Devido à rara ocorrência e ao excelente aspecto ornamental (Figura 1A), uma planta foi coletada e submetida à propagação vegetativa, uma vez que a produção de sementes foi baixíssima nas condições ambientais do JB/FZB-RS. Atualmente, exemplares estão sendo estudados quanto a aspectos taxonômicos (identificação da espécie ou variedade), fitotécnicos (adubação e condução em vasos) e embriológicos (viabilidade do pólen, germinação de sementes e identificação do sistema de reprodução).

A produção de pólen viável é um parâmetro de grande importância no estudo de plantas e fornece informações básicas para a conservação das espécies e o planejamento de um programa de melhoramento genético. A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita por métodos diretos, tal como a indução da germinação do pólen *in vivo* ou *in vitro*, e métodos indiretos, baseados na reação a corantes e fluorocromos (Shivanna & Johri, 1985; Dafni, 1992; Shivanna & Rangaswamy, 1992; Kearns & Inouye, 1993).

Assim, foram executados estudos envolvendo a germinação do pólen *in vitro*, com o objetivo de contribuir ao conhecimento da biologia reprodutiva de *Portulaca* sp.

### MATERIAL E MÉTODOS

No Banco de Sementes do JB/FZB-RS, oitenta plantas obtidas por propagação clonal a partir de um exemplar coletado em São Francisco de Assis, foram estabelecidas individualmente em vasos e dispostas ao ar livre. O florescimento teve início logo após o estabelecimento em vasos (fevereiro de 2007) e continuou até meados de maio de 2007.

Material herborizado foi encaminhado para identificação pela Dra Alexa Paes Coelho da Universidade Estadual de Feira de Santana.

#### Germinação de pólen *In vitro*:

##### **Teste I.**

Em final de abril de 2007, flores recém-abertas foram colhidas e os grãos de pólen foram estabelecidos em meio básico {0,1g L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,25g L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>), 6g L<sup>-1</sup> de ágar, pH 6,0} com variação na concentração de sacarose: 50, 100 e 150g L<sup>-1</sup>. Cada tratamento teve três repetições com avaliação de cinco campos por repetição, ao estereomicroscópio.

##### **Teste II.**

Em início de maio de 2007, grãos de pólen de flores recém-abertas e de botões florais com comprimento 14 mm foram estabelecidos em meio básico idêntico ao teste I com variação na concentração de sacarose: 150, 175 e 200 g L<sup>-1</sup>. Cada combinação de tratamentos (tamanho de flor e concentração de sacarose) teve três repetições.

Em ambos os testes utilizou-se temperatura constante de 25°C com avaliações sob estereomicroscópio (64x), após 3 e 6h *in vitro*. Foram contabilizados os grãos de pólen germinados (com comprimento de tubo polínico duas vezes superior ao diâmetro do pólen),

colapsados e inalterados. A contagem foi feita em campos tomados ao acaso, totalizando uma média de 170 observações por tratamento.

### Testes de Coloração:

#### **Teste III.**

Ao estereomicroscópio, anteras foram excisadas de dez botões florais frescos com 11 e 14 mm de comprimento, e maceradas em azul de algodão (AA) (Vizintin & Bohanec, 2004) sobre lâmina para microscopia, de acordo com a técnica modificada por Hauser e Morrison (1964). Grãos de pólen com reação positiva e negativa ao AA foram contabilizados ao estereomicroscópio no aumento 64x.

#### **Teste IV.**

Botões florais com 9, 11 e 14 mm de comprimento foram selecionados e imersos em fixador Farmer e armazenados em congelador. Para preparação de lâminas, anteras dos botões foram excisadas e divididas em dois grupos sobre a mesma lâmina. Uma parte das anteras de cada botão foi corada com carmim propiônico 0,6% e a outra parte com reagente de Alexander (Alexander, 1980). As anteras foram cobertas com lamínulas e seladas com tinta esmalte transparente. Grãos de pólen com reação positiva e negativa foram contabilizados ao microscópio óptico em campo claro, totalizando uma média de 250 observações por lâmina.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação *in vitro* é o método mais utilizado para estudo da viabilidade do pólen em programas de melhoramento genético. Entretanto, a germinação é influenciada por diferentes fatores, como os constituintes do meio, a temperatura, o tempo de incubação e o estágio de desenvolvimento do pólen (Shivanna & Johri, 1985; Dafni, 1992; Shivanna & Rangaswamy, 1992; Kearns & Inouye, 1993).

No primeiro teste de germinação *in vitro*, foi registrada grande proporção de grãos colapsados (Figura 1B), significativamente mais elevada em menores concentrações de sacarose, provavelmente pela ocorrência de choque osmótico (Tabela 1). Com o aumento da concentração de sacarose, foi possível obter menor proporção de colapsados e maior proporção de germinados. Na análise de regressão, foram obtidas linhas de tendência significativas ( $P < 0,001$ ), tanto para colapsados [ $y = 124,205 - (6,607 * \text{concentração de sacarose})$ ], reta descendente com  $R^2 = 0,93$ ], quanto para germinados [ $y = -8,168 + (1,508 * \text{concentração de sacarose})$ ], reta ascendente com  $R^2 = 0,88$ ]. Porém, a germinação ocorreu em número bem inferior às médias observadas na maioria das espécies de plantas que produzem uma geração gametofítica regular (Dafni, 1992; Vizintin & Bohanec, 2004).

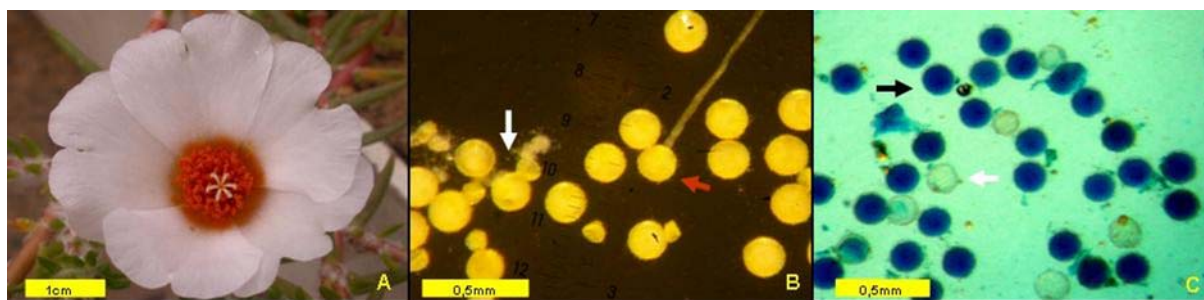


Figura 1: *Portulaca* sp: A) Flor aberta; B) Pólen de flor recém aberta emitindo tubo polínico (seta vermelha) e pólen colapsado (seta branca) após 6 horas *in vitro*; C) Reação positiva (seta preta) e negativa (seta branca) ao azul de algodão.

Os tratamentos que apresentaram maior percentual de germinação foram  $150 \text{ g L}^{-1}$  (Teste I) e  $200 \text{ g L}^{-1}$  (Teste II) com 15,1 e 12,5% de germinação respectivamente.

A grande proporção de pólen colapsado indicou que as condições físicas e químicas oferecidas para a germinação *in vitro* do pólen de *Portulaca* sp. não foram as ideais. Porém, o baixo índice de germinação *in vitro* pode estar relacionado, em grande parte, a

mecanismos de esterilidade dessa espécie ou variedade botânica, uma vez que as plantas produziram sementes em pequeno número (dados não publicados). Assim, na procura de explicações para a baixa germinação, foram feitas análises para determinação de viabilidade e estudo morfológico do pólen, com auxílio de corantes.

Tabela 1. Germinação *in vitro* de pólen de *Portulaca* sp. em dois testes com variações na concentração de sacarose no meio.

Teste	Sacarose (g L <sup>-1</sup> )	Tempo <i>in vitro</i> (h)	Germinados (%)	Colapsados (%)
1	50	4	0,5 c	67,8 d
		6	0,0 c	87,9 e
	100	4	3,6 b	45,6 b
		6	5,7 b	64,6 c
	150	4	12,2 a	14,4 a
		6	15,1 a	21 a
Pr P>F				
(A) Sacarose (g L <sup>-1</sup> )			<0,001	<0,001
(B) Tempo <i>in vitro</i>			0,276	<0,001
A x B			0,145	0,182
CV%			25,8	16,15
Transformação			Raiz de x	-
2	150	3	4,02 c	21,80 a
		6	8,30 b	42,65 b
	175	3	8,18 b	24,61 a
		6	7,72 b	41,49 b
	200	3	10,34 ab	18,20 a
		6	12,50 a	30,67 b
Pr P>F				
(A) Sacarose (g L <sup>-1</sup> )			<0,001	0,117
(B) Tempo <i>in vitro</i>			0,011	<0,001
A x B			0,033	0,780
CV%			16,74	22,96
Transformação			Raiz de x	Raiz de x

Grãos de pólen de botões de 11 e 14 mm (**Teste III**) apresentaram reação ao AA morfológicamente similar à registrada em outras espécies (Vizintin & Bohanec, 2004). A média de pólen corado (Figura 1C) foi de 56% para pólen de ambos tamanhos de botão (Tabela 2).

Na coloração de material fixado (**Teste IV**) foi registrado alto índice de plasmólise no pólen de botões de 9 mm (inviabilizando a contabilização), provavelmente por terem sido imersos no fixador Farmer em um estágio de desenvolvimento de maior suscetibilidade a choques osmóticos. Grãos de pólen de botões de 11 e 14 mm reagiram aos três corantes em proporções que não diferiram significativamente entre si (ANOVA paramétrica, 5%).

Na coloração com Alexander, não foi registrada impregnação da parede com o verde de malaquita que constitui o corante. É possível que a parede do pólen de *Portulaca* sp. possua uma constituição química especial que dificulte a apreensão do corante, além da escultura complexa que foi registrada nas observações em campo claro. Ainda que a parede não tenha corado em verde, foi possível quantificar a presença de protoplastos pela coloração com o outro constituinte de Alexander, a fucsina ácida.

Na coloração com carmim, houve completa impregnação dos protoplastos após alguns minutos de contato com o corante, impedindo a visualização dos núcleos. Essa resposta permitiu apenas a identificação de reação positiva ou negativa ao carmim.

Devido a essas limitações, a reação ao AA foi considerada a mais prática e conveniente para a verificação da presença de protoplastos no pólen de *Portulaca* sp.,

dispensando a fixação. Porém, os resultados não permitem afirmar que todos os grãos de pólen corados com AA estejam aptos à germinação. Estudos mais detalhados são necessários para oferecer informações quanto à capacidade de fecundação desses gametófitos.

Tabela 2. Percentagem de pólen de *Portulaca* sp. corados com três técnicas: reação de pólen fresco ao azul de algodão, reação de pólen fixado em Farmer a Alexander e a carmim propiônico 0,6%.

Comprimento do botão (mm)	Corante	Corados (%)
11	Alexander	51,73
	Azul de algodão	56,04
	Carmim propiônico	54,59
14	Alexander	58,17
	Azul de algodão	55,88
	Carmim propiônico	54,28
Pr P>F	(A) Corante	0,101
	(B) Comprimento do botão	0,734
	A x B	0,762
CV(%)		13,8

## CONCLUSÕES

Nas condições testadas, as percentagens de sacarose mais elevadas promoveram menor colapso e maior germinação dos grãos de pólen, possivelmente pela diminuição do potencial osmótico do meio. Foi possível registrar a presença de protoplastos com os três corantes, mas estudos adicionais serão necessários para inferir sobre a funcionalidade dos gametófitos.

Esse trabalho servirá de base para estudos da biologia reprodutiva dessa nova variedade ou espécie botânica. Esse é o primeiro de uma série de trabalhos descritivos, uma vez que o mecanismo de fecundação não é conhecido.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M.P. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, Baltimore, v.1, n.5, p.13-8, 1980.
- DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach**. New York: University Press, 1992. 250 p.
- HAUSER, E.J.P.; MORRISON, J.H. The cytochemical reduction of nitroblue tetrazolium as an index of pollen viability. **American Journal of Botany, New York**, v.51, p.748–752, 1964.
- KEARNS, C.A.; INOUE, D. **Techniques for pollinations biologists**. Niwot. Colorado: University Press of Colorado, 1993. 579p.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais do Brasil, Nativas e Exóticas**; Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 512p.
- SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The angiosperm pollen: structure and function**. New York: John Wiley, 1985. 374p.
- SHIVANNA, K.R.; RANGASWAMY, N.S. **Pollen biology: a laboratory manual**; New York: Springer-Verlag, 1992. 119p.
- VIZINTIN, L.; BOHANEK, B. *In vitro* manipulation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) pollen and microspores: isolation procedures, viability tests, germination, maturation. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botânica**, Cracow, v.46, p.177-183, 2004.

## PALAVRAS-CHAVES

Espécie nativa; plantas ornamentais; tubo polínico.

## Efeito de diferentes concentrações de água de coco e carvão ativado no cultivo *in vitro* de pinhão-manso.

Nunes, Claudinéia Ferreira<sup>1</sup> Pasqual, Moacir<sup>2</sup>, Santos, Dalílhia Nazaré dos<sup>3</sup>, Santos, Adriene Matos dos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: [nunesscr@yahoo.com.br](mailto:nunesscr@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup> Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, email: [dalilhia@yahoo.com.br](mailto:dalilhia@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), uma das espécies cultivadas do gênero *Jatropha*, é uma planta que apresenta grande potencial econômico para o mercado de biocombustíveis, podendo diversificar o sistema de produção e a renda dos agricultores brasileiros.

Na natureza, assim como, em pequenos viveiros onde é cultivada, essa planta também pode ser propagada por meio de sementes ou estacas. Além da propagação *in vitro* por meio de técnicas auxiliares à cultura de tecidos, como a cultura de embriões.

O crescimento dos embriões e/ou culturas *in vitro* depende da combinação de inúmeros fatores, ou seja, da otimização da concentração de nutrientes minerais e de substâncias orgânicas presentes no meio nutritivo. A junção desses componentes proporciona uma condição favorável para o crescimento e desenvolvimento de *in vitro*.

A água de coco, por exemplo, pode ser usada como suplementação no meio de cultura, fornecendo açúcares e outros glicídios. Ferreira et al. (2004) citam a utilização de água de coco, no cultivo *in vitro*, de cupuaçu.

Muitas substâncias são utilizadas em meio nutritivo, com o objetivo de estimular e melhorar o crescimento do explante. O carvão ativado promove o crescimento de embriões e favorece o enraizamento e o alongamento das raízes. Vários autores como Villa et al. (2006) trabalhando com figueira (*Ficus carica* L) e também, Erig et al. (2004) trabalhando com pereira (*Pyrus communis* L) citam os efeitos do carvão ativado em seus trabalhos.

Considerando os aspectos mencionados e o restrito conhecimento técnico-científico sobre a espécie *Jatropha curcas* L, com este trabalho objetivou-se estudar os efeitos da água de coco e do carvão ativado no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso.

### MATERIAL E MÉTODOS

Sementes oriundas de frutos no estágio seco, coletados de plantas adultas de pinhão-manso, cultivadas em propriedade particular de plantio comercial, no município de Janaúba, norte de Minas Gerais foram utilizadas para a retirada dos embriões. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Lavras - MG.

Realizou-se o procedimento de assepsia das sementes em água destilada com duas gotas do detergente comercial Ypê® por 1 minuto, seguido de álcool 70% v/v por 1 minuto e hipoclorito de sódio 1% v/v do produto comercial Qboa® por 20 minutos (sob agitação constante). Os agentes desinfestantes foram retirados com tripla lavagem em água destilada estéril.

Em câmara de fluxo laminar os embriões foram excisados e inoculados, individualmente, em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 mL do meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com diferentes concentrações de carvão ativado (0; 1,0; 2,0 e 3,0g.L<sup>-1</sup>) combinados com 0, 50, 100, 150, 200 e 250 mL de água de

coco comercial Kero coco<sup>®</sup> suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de agar (Merck<sup>®</sup>), com pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos. Logo após à inoculação, os embriões foram transferidos para sala de crescimento a 27± 1°C, irradiância de 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20W (Osram<sup>®</sup>) com fotoperíodo de 16 horas.

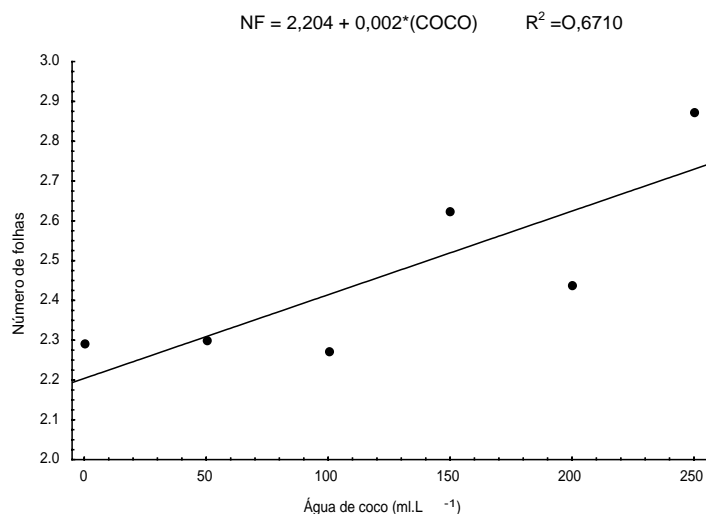
Após 30 dias as plântulas foram avaliadas quanto à porcentagem de germinação, número de folhas, comprimento da parte aérea e comprimento das raízes das plântulas.

Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, em ensaio fatorial 6x4 com quatro repetições. Utilizou-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo os dados submetidos à análise estatística, com a aplicação do teste F a 5% de probabilidade e também, o ajustamento a modelos de superfície de resposta (Box & Draper, 1987), quando as diferenças entre os tratamentos mostraram-se significativas pelo teste F.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve influência dos tratamentos no percentual de germinação dos embriões, observando-se, em média 81%, de germinação. A elevada taxa de germinação pode ser justificada pelo fato de existir no meio MS maior disponibilidade em macro e micronutrientes, vitaminas e aminoácidos necessários ao processo de germinação.

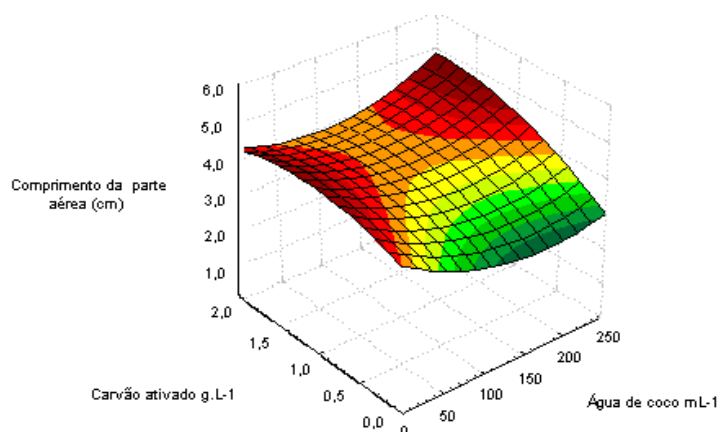
Verificou-se aumento linear do número de folhas por plântula formada, relacionadas à presença de maiores concentrações de água de coco, independentemente, das concentrações de carvão ativado. O número máximo de folhas (2,8) correspondeu à concentração de 250 mL de água de coco. Porém, a diferença do número de folhas da concentração de 200 para 250 mL é mínima, pois equivale a menos de uma folha/explante (Figura 1). De certa forma, o efeito estimulatório da água de coco pode ser explicado pelo fato deste aditivo ser rico em glicose, sais minerais e citocininas.



**FIGURA 1.** Número de folhas por plântulas de *Jatropha. curcas* L., em função da concentração de água de coco no meio MS. UFLA, Lavras-MG, 2006.

Nota-se pela Figura 2 que o comprimento máximo da parte aérea correspondeu às combinações entre 100 e 150 mL de água de coco com as concentrações mais elevadas de carvão ativado, entre 1,5 e 2,0 g.L<sup>-1</sup>.

Segundo o modelo de superfície de resposta ajustado, a resposta máxima seria obtida com uma concentração de 125,84 mL de água de coco e 1,54 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, obtendo, em média, um comprimento de 4,03 cm/plântula. Evidencia-se, assim, que são necessárias concentrações entre 100 e 150 mL de água de coco, quando na presença de carvão ativado, para ter efeito sobre o explante.



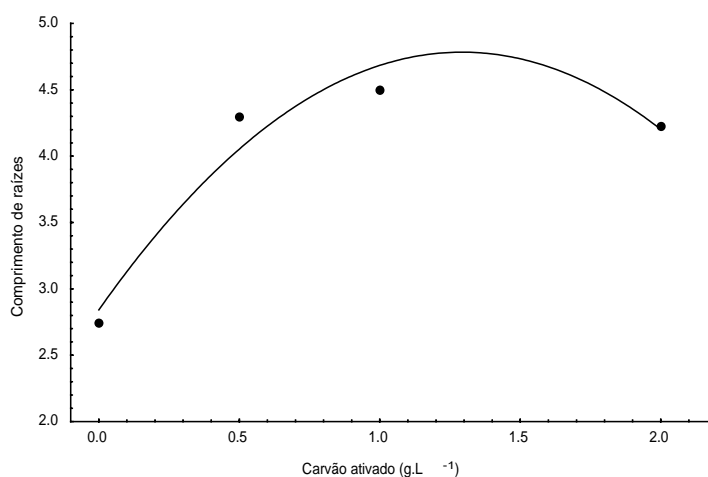
$$\text{CPA} = 4,10930,0152 * (\text{COCO}) + 1,1087 * (\text{CARVÃO}) + 0,00004 * (\text{COCO})^2 - 0,4892 * (\text{CARVÃO})^2 + 0,0031 * (\text{COCO}) * (\text{CARVÃO})$$

$$R^2 = 0,4074$$

**FIGURA 2.** Comprimento médio de raízes por plântulas de *Jatropha. curcas* L., submetidos a diferentes concentrações de água de coco e carvão ativado no meio MS. UFLA, Lavras-MG, 2006.

A resposta dos efeitos do carvão ativado, em cultivo *in vitro* parece ser dependente não somente do tipo de carvão utilizado e seu grau de ativação, mas também das substâncias adicionadas ao meio de cultura, como por exemplo, a água de coco x carvão ativado.

As concentrações de carvão ativado, adicionadas ao meio de cultura, influenciaram o comprimento das raízes das plântulas formadas (Figura 3). Observou-se aumento dessa variável até a concentração de 1,0 g.L<sup>-1</sup> de carvão no meio de cultura. A partir desse valor verificou-se decréscimo dessa variável, quando as concentrações aumentaram de 1,0 g.L<sup>-1</sup> para 1,5 g.L<sup>-1</sup> e de 1,5 g.L<sup>-1</sup> para 2,0 g.L<sup>-1</sup>. A concentração ótima de carvão ativado foi obtida com 1,29 g.L<sup>-1</sup>, correspondendo a um crescimento máximo de 4,78cm, no comprimento médio de raízes de plântulas de *J. curcas*.



**FIGURA 3.** Comprimento médio de raízes por plântulas de *Jatropha. curcas* L., em função da concentração de carvão ativado no meio MS. UFLA, Lavras-MG, 2006.



## CONCLUSÕES

A associação de carvão ativado e água de coco não influenciam na germinação dos embriões. Porém, favorecem o comprimento da parte aérea das plântulas.

Sob condições *in vitro*, embriões zigóticos de pinhão-mansão apresentam bom desenvolvimento de parte aérea em meio de cultura suplementado com carvão ativado.

O maior número de folhas é obtido com concentrações crescentes de água de coco.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOX, G. E. P. , DRAPER, N. R. **Empirical model-building and response surfaces**. Willey series in probability and mathematical statistics. New York : John Willey, 1987. 669 p.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M, W.; BRAGA, E. J. B. Enraizamento *in vitro* de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Carrick. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 275-277, jan./fev. 2004.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, M. G. R. das; CÁRDENAS, F. E. N.; CARVALHO, C. H. S. de; CARNEIRO, A. A. C.; FILHO, C. F. D. Indução de calos embriogênicos em explantes de cupuaçuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 372-374, ago. 2004.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473- 479, June 1962.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAUJO, A. G. de; PIO, L. A. S. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus spp.* )e efeito de substratos na aclimatização de plântulas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 47-53, Jan./Mar. 2006

## PALAVRAS – CHAVES

*Jatropha curcas* ,Euphorbiaceae, cultivo *in vitro*, embriogênese.

## Verificação da ocorrência de variação somaclonal em plantas de *Carica papaya* L. obtidas por meio da embriogênese somática.

<sup>1</sup>Clarindo, Wellington Ronildo; <sup>2</sup>Carvalho, Carlos Roberto; <sup>3</sup>Araújo, Fernanda Santos; <sup>4</sup>Otoni, Wagner Campos; <sup>3</sup>Abreu, Isabella Santiago.

<sup>1</sup> Doutorando do programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Campus Principal, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-1295, email: [welbiologo@gmail.com](mailto:welbiologo@gmail.com); <sup>2</sup> Professor da UFV – Departamento de Biologia Geral, fone (31) 3899-2568, email: [ccarvalh@ufv.br](mailto:ccarvalh@ufv.br); <sup>3</sup> Graduandos do curso de Ciências Biológicas da UFV, e-mail: [ferlanabio@yahoo.com.br](mailto:ferlanabio@yahoo.com.br), [bella\\_abreu@yahoo.com.br](mailto:bella_abreu@yahoo.com.br). <sup>4</sup> Professor da UFV – Departamento de Biologia Vegetal, fone (31) 3899-2931, email: [wotoni@ufv.br](mailto:wotoni@ufv.br).

*Carica papaya* L., família Caricaceae, é uma espécie agronomicamente importante por ser fonte das vitaminas A e C e da enzima papaína. Em virtude dos problemas inerentes à propagação via sementes, vários protocolos têm sido propostos para propagação *in vitro* dessa espécie. Processos morfogênicos *in vitro* geralmente estão associados à ocorrência de variação somaclonal, que pode prejudicar etapas importantes da cultura *in vitro* e/ou gerar variabilidade genética útil para o melhoramento de plantas. Entretanto, há poucos relatos acerca da ocorrência desse fenômeno na cultura de tecidos de *C. papaya*. O objetivo do presente trabalho foi verificar a ocorrência de variação somaclonal em plantas de *C. papaya* obtidas via embriogênese somática. O nível de ploidia de plantas de *C. papaya*, derivadas de embriogênese somática a partir de embriões zigóticos imaturos, foi analisado via citômetro de fluxo Partec® PAS II/III. Plantas de *C. papaya* germinadas *in vitro* e cultivadas em casa de vegetação foram utilizadas como padrão citométrico, e foi empregado o protocolo recomendado pela Partec® para obtenção da suspensão nuclear. Os histogramas gerados pela análise citométrica evidenciaram a ocorrência de plantas com nível de ploidia idêntico ao dos padrões ( $2C = 2X$ ), mixoplóides ( $2C = 2X$  e  $2C = 4X$ ), triplóides ( $2C = 3X$ ) e tetraplóides ( $2C = 4X$ ). Duas análises citométricas subseqüentes mostraram que não houve alteração no nível de ploidia ao longo dos subcultivos em todas as plantas. Os resultados indicam que as condições *in vitro* necessárias para a indução de embriogênese somática em *C. papaya* promoveram a ocorrência de variação somaclonal, e que a citometria de fluxo foi um método direto, rápido, prático e confiável para identificação e seleção de variantes somaclonais.

### PALAVRAS-CHAVES

*Carica papaya*; citometria de fluxo; embriogênese somática; variação somaclonal.

## Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de pinhão-mansô (*Jatropha curcas* L.)

Nunes, Claudinéia Ferreira<sup>1</sup> Pasqual, Moacir<sup>2</sup>, Santos, Dalílhia Nazaré dos<sup>3</sup>, Santos, Adriene Matos dos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: [nunesfr@yahoo.com.br](mailto:nunesfr@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br); <sup>3</sup> Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, email: [dalilhia@yahoo.com.br](mailto:dalilhia@yahoo.com.br)

### INTRODUÇÃO

O óleo do pinhão-mansô é considerado eficiente para a produção de biodiesel. Porém, um grande número de informações referentes à espécie precisam ser geradas, envolvendo estudos técnicos científicos, novas alternativas de propagação da espécie e criação e manutenção de banco de germoplasma.

O cultivo *in vitro* de embriões é considerado uma das vias de propagação que pode ser utilizada para avançar nos conhecimentos sobre a biologia do pinhão-mansô, uma vez que essa técnica permite estudos nas áreas de fisiologia e melhoramento vegetal. Entretanto, o cultivo de embriões exige cuidados fundamentais para o seu sucesso, tais como: assepsia do explante, excisão do embrião e meio de cultivo que atenda às exigências dos diferentes estádios de desenvolvimento embrionário.

Dependendo da espécie e do estágio de desenvolvimento dos embriões, o meio de cultura deve ser desprovido de carboidratos ou suplementado com concentrações mínimas desse constituinte (Garcia et al., 2002).

O estágio fisiológico do fruto e/ou do embrião no cultivo *in vitro* é fundamental para a expressão de seu potencial morfogenético. Pereira et al. (2006), trabalhando com murmurú (*Astrocaryum ulei*) verificaram que embriões oriundos de frutos maduros apresentaram maior crescimento *in vitro*, quando comparado aos embriões oriundos de frutos imaturos.

Mediante a necessidade de produção de grande quantidade de mudas e da ampliação do conhecimento da espécie, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de concentrações de sacarose e a idade fisiológica do fruto na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de pinhão-mansô.

### MATERIAL E MÉTODOS

Frutos nos estádios imaturo, maduro e seco, coletados de plantas adultas de pinhão-mansô, cultivadas em propriedade particular de plantio comercial, no município de Janaúba, norte de Minas Gerais foram utilizados como fonte de embriões. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Lavras - MG.

Realizou-se o procedimento de assepsia das sementes em água destilada com duas gotas do detergente comercial Ypê® por 1 minuto, seguido de álcool 70% v/v por 1 minuto e hipoclorito de sódio 1% v/v do produto comercial Qboa® por 20 minutos (sob agitação constante). Os agentes desinfestantes foram removidos com tríplice lavagem em água destilada estéril.

Em câmara de fluxo laminar os embriões foram excisados e inoculados, individualmente, em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 mL do meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com diferentes concentrações de sacarose (0, 15, 30 e 60 g L<sup>-1</sup>) com diferentes idades fisiológicas de frutos (imaturo, maduro e seco). O meio foi solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de agar (Merck®), com pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos. Logo após a inoculação, os embriões foram

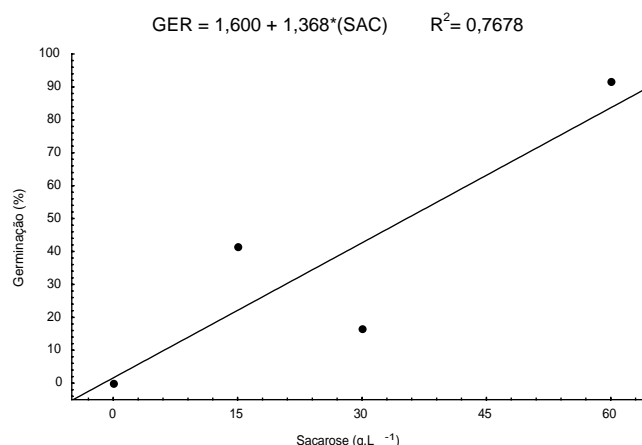
transferidos para sala de crescimento a  $27 \pm 1$  °C , irradiância de  $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  , fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20W (Osram®) com fotoperíodo de 16 horas.

Frutos imaturos caracterizavam-se pela coloração externa verde-cana do epicarpo, os frutos maduros pela coloração marrom-escura e os frutos secos apresentavam coloração preta e se encontravam em fase de deiscência.

Após 30 dias avaliou-se a porcentagem de germinação, comprimento da parte aérea, número de raízes e número de folhas. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, em ensaio fatorial 3x4 com quatro repetições. Utilizou-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo os dados submetidos à análise estatística, com a aplicação do teste F a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

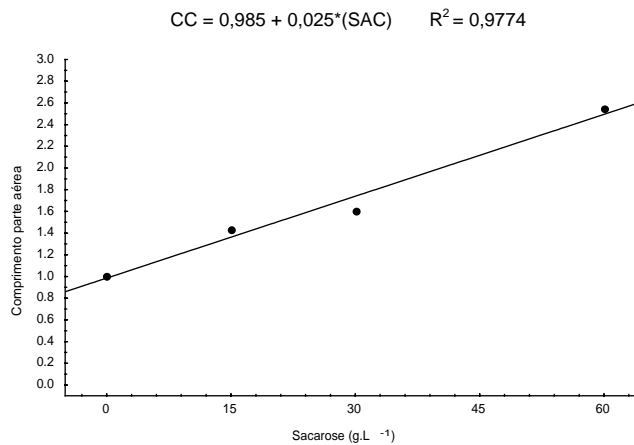
A maximização da porcentagem de germinação dos embriões foi obtida com a maior concentração de sacarose, para embriões oriundos de fruto imaturo (Figura 1), sendo a concentração de sacarose indiferente, ou seja, não significativa para os estádios maduro e seco do fruto. A porcentagem de germinação aumentou linearmente com as concentrações de sacarose adicionadas ao meio. A maior porcentagem correspondeu à concentração de  $60 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose , contribuindo para uma porcentagem de 83,68% de embriões germinados. A ausência de sacarose no meio de cultura impediu a germinação dos embriões oriundos de frutos imaturos, confirmando a necessidade de se adicionar sacarose para o desenvolvimento do embrião.



**FIGURA 1.** Porcentagem de germinação de embriões de *Jatropha curcas* L., oriundos de frutos imaturos, em função da concentração de sacarose no meio MS.

Com esse resultado, verificou-se que no pinhão-manso, provavelmente, o processo de germinação para embriões oriundos de frutos maduros e secos, ocorre devido às reservas nutricionais dos cotilédones, independentemente, do fornecimento de sacarose.

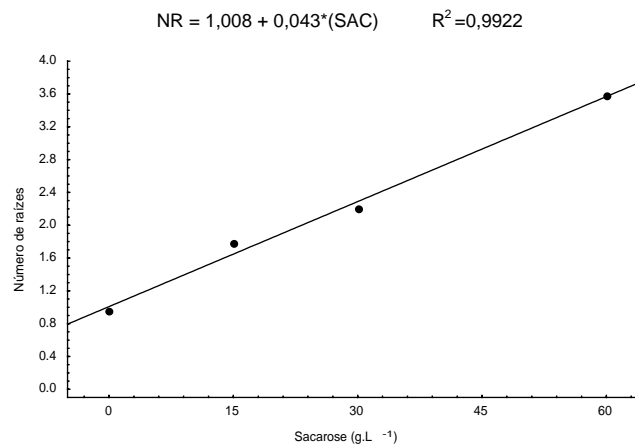
O aumento das concentrações de sacarose, no meio de cultura, beneficiou o comprimento da parte aérea das plântulas (Figura 2), seguindo um crescimento linear, independentemente do estágio em que os embriões foram excisados.



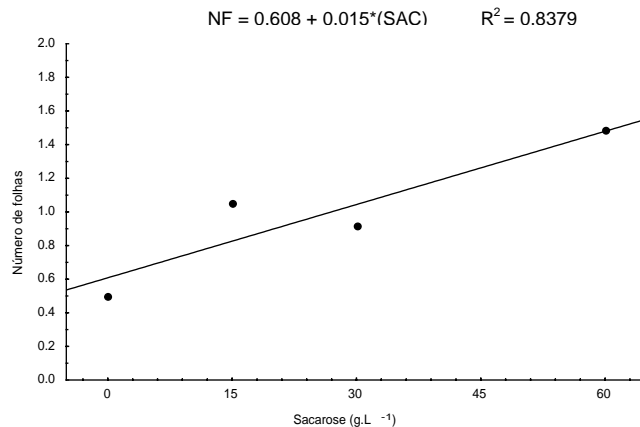
**FIGURA 2.** Comprimento da parte aérea de plântulas de *Jatropha. curcas* L., em função da concentração de sacarose no meio MS.

Nota-se, que a cada 1,0 g na concentração de sacarose, ocorre uma contribuição de 0,025 cm, no comprimento da parte aérea das plântulas, evidenciando ser a sacarose indispensável para o crescimento das plântulas. Entretanto, a eficiência desse procedimento nem sempre é a desejável, podendo a concentração de 30 g.L<sup>-1</sup> responder bem ao objetivo do trabalho. Além do que, o acréscimo de sacarose poderá ser oneroso, quando se trata de um simples ajuste de cultura não resultando em multiplicação.

Os maiores números de raízes e de folhas foram verificados, também, com a concentração de 60 g.L<sup>-1</sup> (Figuras 3 e 4).



**FIGURA 3.** Número de raízes de plântulas de *Jatropha. curcas* L., em função da concentração de sacarose no meio MS.



**FIGURA 4.** Número de folhas de plântulas de *Jatropha curcas* L., em função da concentração de sacarose no meio MS.

A alta concentração de sacarose no meio de cultura contribui para a obtenção de um crescimento ótimo, suportando as mais altas taxas de crescimento na maioria das espécies. Entretanto, teores elevados podem inibir a síntese de clorofila nas espécies cultivadas. É sabido, que a sacarose no meio de cultivo *in vitro* influencia vários processos metabólicos nas culturas, apresentando efeito sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos.

Resumidamente, as melhores médias para as variáveis, comprimento da parte aérea, número de raízes e folhas, foram observados, quando se utilizaram embriões provenientes de frutos secos, indicando que os embriões mais desenvolvidos suportam melhor o crescimento *in vitro*, possivelmente, em razão do estágio mais avançado de diferenciação dos tecidos.

## CONCLUSÕES

Embriões zigóticos provenientes de frutos imaturos de pinhão-manso necessitam da suplementação de sacarose, no meio de cultura, para sustentar sua germinação.

Embriões oriundos de frutos secos apresentam melhor desempenho *in vitro*.

O meio MS suplementado com 6,0 g.L<sup>-1</sup> de sacarose proporciona bom desenvolvimento dos embriões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

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, n. 1, p. 95-100, Apr. 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473- 479, June 1962.

PEREIRA, J. E. S.; MACIEL, T. M. S.; COSTA, F. H. da S.; PEREIRA, M. A. A. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*), **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 251-256, mar./abr. 2006.

## PALAVRAS – CHAVES

*Jatropha curcas*, sementes oleaginosas, carboidrato, estágio fisiológico.

## **Poliploidização *in vitro* de *Lycopersicon esculentum* e monitoramento por citometria de fluxo.**

<sup>1</sup>Praça, Milene Miranda; <sup>1</sup>Clarindo, Wellington Ronildo; <sup>2</sup>Carvalho, Carlos Roberto

<sup>1</sup> Doutorandos do programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (UFV), Campus Principal, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, CEP 36570-000Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-1295, email: [milenemiranda@yahoo.com.br](mailto:milenemiranda@yahoo.com.br); [welbiologo@gmail.com](mailto:welbiologo@gmail.com); <sup>2</sup> Professor da Universidade Federal de Viçosa, Campus Principal, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, CEP 36570-000Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-2568, email: [ccarvalh@ufv.br](mailto:ccarvalh@ufv.br).

*Lycopersicon esculentum* Mill., família Solanaceae, é a segunda hortaliça mais cultivada no mundo. A poliploidização *in vitro* vem sendo aplicada principalmente a espécies de interesse agrônômico por originar plantas que podem ser mais vigorosas e com maior produtividade. O objetivo do presente trabalho foi induzir a poliploidização *in vitro* em *L. esculentum* e utilizar a citometria de fluxo para monitorar o nível de ploidia. Ápices caulinares de aproximadamente 5 cm; oriundos de plantas cultivadas em MS suplementado com vitamina B5, 30 g/L de sacarose e 6,0 g/L de ágar (meio de germinação e multiplicação); foram transferidos para o mesmo meio destituído do agente gelificante e suplementado com 3,5; 5,0 ou 6,5 mM de colchicina. Plantas cultivadas em meios sem colchicina foram utilizadas como padrão. Os ápices caulinares foram tratados por 72 ou 96 horas, sendo inoculados 5 explantes em cada, totalizando 8 tratamentos e 40 explantes. Em seguida, os explantes foram cultivados em meio de multiplicação sem colchicina permanecendo até o desenvolvimento de folhas. Para avaliação do nível de ploidia utilizaram-se suspensões nucleares de folhas e a metodologia de extração de núcleos com tampões 1 Step (Partec<sup>®</sup>), conforme recomendações do fabricante. As análises foram realizadas em citômetro de fluxo Partec<sup>®</sup> PAS. Em comparação com as plantas padrões, foram encontrados 24% de plantas diplóides, 64% de mixoplóides, 8% de tetraplóides e 4% de octaplóides. Os histogramas mostraram que todos os tratamentos com colchicina geraram plantas mixoplóides e o emprego de 5,0 mM de colchicina por um período de 72 horas resultou plantas 4x e 8x. Esses resultados confirmam a colchicina como substância adequada para poliploidização *in vitro* e a importância da citometria de fluxo como método direto para verificação e seleção rápida de plantas poliplóides obtidas por essa metodologia.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Lycopersicon esculentum*; citometria de fluxo; colchicina; poliploidização *in vitro*.

## Geminação de grãos de pólen de nêspereira e ameixeira utilizando Nitrato de cálcio e Ácido bórico em diferentes níveis de pH.

Gilberto Eustáquio Rebeiro Junior<sup>1</sup>; Leila Aparecida Salles Pio<sup>2</sup>; Oscar Hafle<sup>3</sup>; Ludimilla de Lima Cavallari<sup>4</sup>; José Darlan Ramos<sup>5</sup>, Moacir Pasqual<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Ciências Biológicas Licenciatura do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS), CEP 37200-000, Lavras –MG, fone: 35-88138042, [juninhopintinho@hotmail.com](mailto:juninhopintinho@hotmail.com) <sup>2</sup>Doutoranda Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), caixa postal 37, CEP 37200-000, Lavras –MG, fone: 35-88080252, [leilapio@ufla.br](mailto:leilapio@ufla.br); <sup>3</sup>Doutorando Fitotecnia UFLA, [omhafle@yahoo.com.br](mailto:omhafle@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Engenheira Agrônoma, UFLA, [cavallari@pop.com.br](mailto:cavallari@pop.com.br); <sup>5</sup>Professor de Fruticultura Geral e Subtropical da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone: 35-38291338, [darlan@ufla.br](mailto:darlan@ufla.br); <sup>6</sup>Professor de Cultura de Tecidos de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone: 35-38291323, [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A germinação de grãos de pólen *in vitro* é um dos métodos que permite verificar a sua fertilidade, sendo de grande importância em programas de melhoramento de frutíferas. O cálcio adicionado ao meio de cultura para germinação de grãos de pólen propicia características fisiológicas como tubo polínico e grão de pólen com menor sensibilidade a variações do meio básico, menor permeabilidade do tubo polínico, crescimento do mesmo com forma linear e aparência rígida.

Os grãos de pólen das angiospermas necessitam de uma fonte de carbono, de boro, e freqüentemente de outros nutrientes para promover a sua germinação (GALLETTA, 1983)

Os principais componentes do meio de cultura para a germinação de pólen têm sido os tipos e concentrações de açúcares e distintas concentrações de boro (MIRANDA & CLEMENT, 1990). A sacarose empregada no meio de cultura tem por finalidade proporcionar o equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio de germinação e fornecer energia para auxiliar o processo de desenvolvimento do tubo polínico (STANLEY & LINSKENS, 1974).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do ácido bórico e nitrato de cálcio e a influência do pH na germinação *in vitro* de grãos de pólen de nêspereira (*Eriobotrya japonica* Lindl., cv Mizauto) e ameixeira (*Prunus doméstica* L. cv. C Lion).

### MATERIAL E MÉTODOS

Flores recém abertas de nêspereira 'Mizauto' e ameixeira 'C Lion' foram coletadas no período da manhã, e transportados para o Laboratório de Cultura de Tecidos.

As anteras foram separadas das estruturas florais e submetidas à temperatura de 28 ± 1°C por 48 h para que o pólen tivesse seu teor de umidade reduzido, de acordo com a metodologia de SOUSA (1988).

A viabilidade do pólen *in vitro* foi estudada através da germinação dos grãos de pólen em meio de cultura contendo ácido bórico, nas dosagens: 0, 50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> e 4 doses de nitrato de cálcio: 0, 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup>, 50 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 10 g L<sup>-1</sup> de ágar. O pH foi aferido para 6.0 em um dos tratamentos e no outro foi apenas medido e anotado, sem aferição. Nesse último houve uma variação de pH entre 6.45 e 7.57)

O meio de cultura foi vertido em placas de Petri de plástico e os grãos de pólen foram espalhados sobre a superfície do meio. As placas de Petri contendo o pólen foram colocadas em BOD à temperatura de 25 ± 2°C por 12 h.



As avaliações foram realizadas pela porcentagem de grãos de pólen germinados, observados em microscópio óptico com objetiva de aumento de 10x, avaliando 4 campos de visão, que foram equivalentes a 4 repetições.

O delineamento experimental foi totalmente casualizado em fatorial 4X5X2, 4 doses de nitrato de cálcio, 5 doses de ácido bórico e 2 níveis de pH. Os dados foram submetidos a uma análise de regressão considerando os níveis de ácido bórico e nitrato de cálcio dentro de cada nível de pH em relação à porcentagem de germinação de grãos de pólen, utilizando o programa estatístico Sisvar.

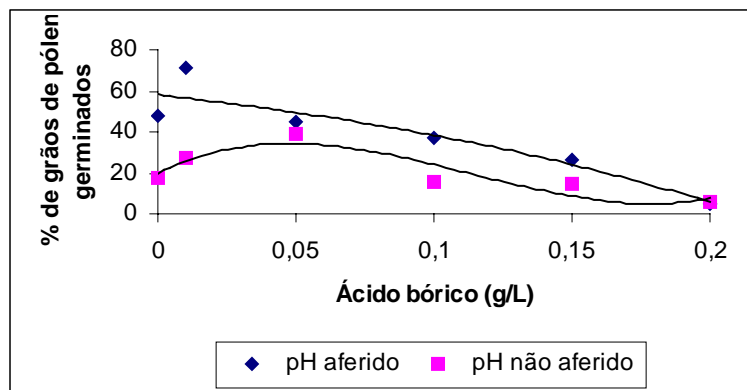
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito para cálcio e boro e pH, não havendo interação significativa para os fatores estudados.

Na Figura 1A pode-se observar uma redução acentuada na porcentagem de germinação dos grãos de pólen de ameixeira quando submetidos a doses crescentes de Ácido bórico, a qual se mostra ainda mais drástica na ausência do ajuste do pH.

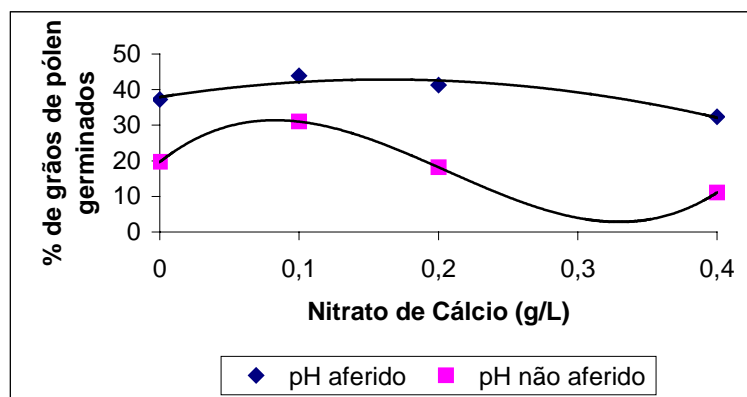
Na figura 1B, observa-se que a porcentagem de grãos de pólen germinados permanece estável à medida que se aumenta a concentração de Nitrato de cálcio, porém, podemos verificar que houve um decréscimo na germinação de grãos de pólen quando não foi realizada a aferição do pH, principalmente quando foi utilizadas dosagens mais elevadas de Nitrato de cálcio.

FIGURA 1 – Porcentagem de grãos de pólen de ameixeira ‘C. Lion’ germinados em diferentes concentrações de nitrato de cálcio (1A) ácido bórico(1B) em pH aferido e não aferido. UFLA, Lavras-MG, 2007.



$$Y (\text{pH aferido}) = 6,81 + 189,28X + 945,5X^2 \quad R^2 = 0,8616$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 3,81 + 232,75X + 2973,93X^2 + 9758,43X^3 \quad R^2 = 0,7849$$



$$Y (\text{pH aferido}) = 7,164 + 90,947X + 210,89X^2 \quad R^2 = 0,9289$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 3,77 + 126,6X + 953,6X^2 + 1654,53X^3 \quad R^2 = 1$$

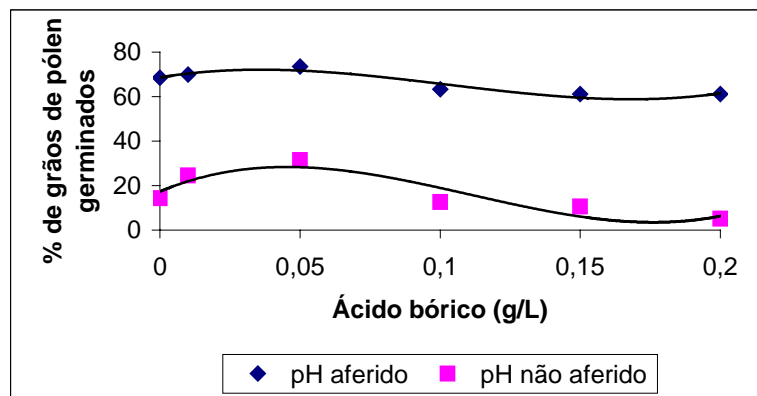
Na Figura 2, observa-se a porcentagem de grãos de pólen de nespereira germinados em diferentes concentrações de ácido bórico (Figura 2A) e nitrato de cálcio (Figura 2B).

Na figura 2B pode-se observar que grãos de pólen obtiveram maior porcentagem de germinação com  $0,05 \text{ g L}^{-1}$  de ácido bórico tanto para pH aferido quanto para não aferido, porém a porcentagem de grãos de pólen germinados em pH aferido foi mais alta. Vários autores enfatizam a importância do boro na germinação de grãos de pólen de várias culturas (Sahar e Spiegel, 1980; Bomben et al, 1999). A resposta do boro para a germinação e formação do tubo polínico está de acordo com as informações de Kwack e Brewbaker (1963), que sugeriram ser o cálcio e o boro elementos essenciais para o início do prolongamento da intina e formação do tubo polínico *in vitro*. A alta exigência do boro e sua baixa concentração no interior do pólen conferem a este íon a responsabilidade pelo crescimento do tubo polínico, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Na Figura 2A, observa-se a porcentagem de grãos de pólen de nespereira germinados em diferentes concentrações de nitrato de cálcio. Melhor resultado foi obtido com a concentração de  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de nitrato de cálcio em pH aferido. Este resultado concorda com os autores que afirmam que o cálcio é essencial para a germinação dos grãos de pólen, bem como o desenvolvimento do tubo polínico (Kwack e Brewbaker, 1963; Sahar e Spiegel, 1980; Beyong, 1965).

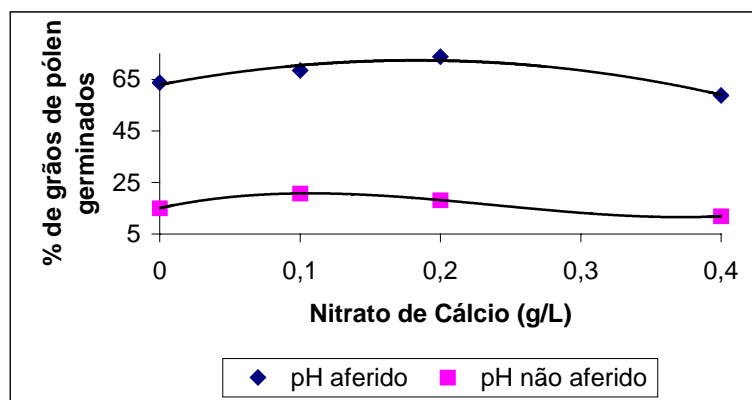
A partir desses resultados verifica-se que o nível de pH estimulou marcadamente o processo de germinação de pólen concordando com as observações de Brewbaker & Kwack (1963) e Stanley & Linskens (1970) os quais mostraram que o pH do meio de cultura influencia o processo da indução de germinação de pólen.

FIGURA 2 – Porcentagem de grãos de pólen germinados de Nêspereira 'Mizauto' em diferentes concentrações de nitrato de cálcio (2A) ácido bórico(2B) em pH aferido e não aferido. UFLA, Lavras-MG, 2007.



$$Y (\text{pH aferido}) = 1,31 + 84,42X + 1078,75X^2 + 35,39,73X^3 \quad R^2 = 0,9073$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 1,87 + 114,5X + 1464,07X^2 + 4804,086X^3 \quad R^2 = 0,8135$$



$$Y (\text{pH aferido}) = 1,31 + 16,7X + 38,73X^2 \quad R^2 = 0,9439$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 1,78 + 22,67X + 52,47X^2 \quad R^2 = 0,8834$$

## CONCLUSÕES

Os melhores índices de germinação são obtidos com 200 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de cálcio tanto para ameixeira, quanto para nespereira. A dosagem de ácido bórico proporciona maior índice de germinação na dose de 0,05 g/L<sup>-1</sup> para nêspereira.

A aferição de pH para 6.0 proporciona maiores índices de grãos de pólen germinados tanto para ameixeira como para nespereira em todas as dosagens estudadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GALLETA, G.J. Pollen and seed management. In: MOORE, J.N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**, Indiana: Purdue University press. p.23-47, 1983.

BEYOUNG, H.K. The effects of calcium on pollen germination. **Proceedings of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 86, p. 818-823, June 1965.

BOMBEN, C.; MALOSSINI, C.; CIPRIANI, G.; TESTOLIN, R. & RETAMALES, J. Long term storage of kiwifruit pollen. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 498, p. 105-108, 1999.

KWACK, B.H. & BREWBAKER, J.L. The essential role of calcium ion pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, New York, v.50, n.9, p.859-865, 1963.

MIRANDA, P.A. & CLEMENT, C.R. Germination and storage of pejibaye (*Bactris gasipaes*). palmae pollen. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v.38, n.1, p.29-33, 1990.

SAHAR, N. & SPIEGEL, R.P. Citrus pollen storage. **HortScience**, Alexandria, v.15, n.1, p.81-82, 1980.

SOUSA, V.A. de. **Manejo e viabilidade do pólen de Eucalyptus spp.** 1988. 155 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

STANLEY, R. G. & LINSKENS, H.F. **Pollen: biology, biochemistry and management.** New York: Springer Verlag, 1974. 172p.

## PALAVRAS-CHAVES

Cultivo *in vitro*; Palinologia; Melhoramento genético

## Período de germinação de pólen de pessegueiro, ameixeira, nespereira e citros

Gilberto Eustáquio Ribeiro Junior<sup>1</sup>; Leila Aparecida Salles Pio<sup>2</sup>; Ludimilla de Lima Cavallari<sup>3</sup>; Oscar Hafle<sup>4</sup>; José Darlan Ramos<sup>5</sup>, Moacir Pasqual<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Ciências Biológicas Licenciatura do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS), CEP 37200-000, Lavras –MG, fone: 35-88138042, [juninhopintinho@hotmail.com](mailto:juninhopintinho@hotmail.com) <sup>2</sup>Doutoranda Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), caixa postal 37, CEP 37200-000, Lavras –MG, fone: 35-88080252, [leilapio@ufla.br](mailto:leilapio@ufla.br); <sup>3</sup>Engenheira Agrônoma, UFLA, [cavallari@pop.com.br](mailto:cavallari@pop.com.br); <sup>4</sup>Doutorando Fitotecnia UFLA, [omhafle@yahoo.com.br](mailto:omhafle@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professor de Fruticultura Geral e Subtropical da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone: 35-38291338, [darlan@ufla.br](mailto:darlan@ufla.br); <sup>6</sup>Professor de Cultura de Tecidos de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone: 35-38291323, [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

O grão de pólen é uma estrutura microscópica de coloração amarelada que apresenta número haplóide de cromossomos e dará origem ao gameta masculino. É formado por duas membranas: a externa, chamada exina, que confere rigidez ao grão de pólen e apresenta poros germinativos, e a interna, chamada intina, na qual ocorre o processo de emissão, alongamento, desenvolvimento e formação do tubo polínico (Vidal & Vidal, 1995).

O processo de emissão do tubo polínico é geralmente rápido (Kwack & Brewbaker, 1963), iniciando-se através do estímulo de componentes químicos, como água destilada, ácido bórico, ácido nítrico, nitrato de cálcio, sulfato de magnésio, sacarose e nitrato de potássio (Kwack & Brewbaker, 1963; Pfahler, 1967). Segundo Carvalho (1983), todo o período de formação do tubo polínico é controlado por substâncias naturais de crescimento, as quais incluem tanto promotores quanto inibidores, sugerindo que os promotores de crescimento dirigem o tubo polínico por quimiotropismo, não necessitando de luz para ocorrer o processo. Nos testes envolvendo a emissão do tubo polínico, sugere-se que os meios utilizados podem ser líquidos ou sólidos.

Através da formação do tubo polínico *in vitro*, pode-se verificar sua fertilidade, o que auxiliará em programas de melhoramento de plantas frutíferas (Silva, 1996).

Parton et al. (2002), estudando várias espécies de bromeliáceas, verificaram que a germinação máxima foi alcançada dentro de 6 a 12 h dependendo da espécie. Leech et al. (2002), em experimentos com morango, constataram que as porcentagens de germinação mais altas vêm sempre depois de 6 horas.

Considerando que o período de início da germinação é de suma importância para os trabalhos de melhoramento genético de frutíferas, objetivou-se determinar o tempo inicial de emissão do tubo polínico de grãos de pólen de nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindl., cv Mizauto) e ameixeira (*Prunus doméstica* L. cv. C Lion) e pessegueiro (*Prunus pérsica*) e de citros (*Citrus sinensis*, cv. Valência, Pêra e Natal).

### MATERIAL E MÉTODOS

Para ameixeira, Nespereira e Pessegueiro, as anteras foram retiradas, com o auxílio de uma pinça, de flores recém abertas e colocadas em placas de Petri forradas com papel de filtro, em seguida levadas para sala de crescimento por 48h a uma temperatura de 26°C para a completa deiscência. Em seguida dos grãos de pólen foram colocados em placas de Petri contendo meio de cultura composto de 50g/L sacarose, 10g/L agar e 0,1g/L Nitrato de Cálcio.

Para as variedades cítricas os grãos de pólen utilizados foram obtidos de anteras de flores em estágio de “balão”. As anteras foram retiradas do botão floral, e colocadas em placas de Petri forradas com papel de filtro durante 24 horas em temperatura de 26°C. Para a germinação foi utilizado o meio de cultura básico constituído de 10g/L<sup>-1</sup> de ágar, 800mg/L<sup>-1</sup> de nitrato de cálcio, 100g/L<sup>-1</sup> de sacarose, 200mg/L<sup>-1</sup> de ácido bórico.

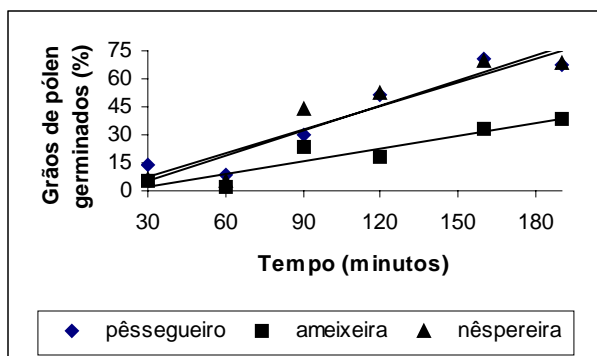
Após o preparo, os meios de cultura foram vertidos em placa de Petri na quantidade de 10ml.

Numa primeira etapa, realizou-se a retirada dos grãos de pólen para a quantificação da porcentagem de germinação, a cada 30 minutos, até um máximo de 180 minutos e, na segunda etapa o intervalo de tempo para a mesma avaliação foi de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas. Para tal, utilizou-se microscópio óptico com objetiva de 10 X. Considerou-se germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico tivesse ultrapassado o diâmetro do próprio grão de pólen.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo constituída por 100 grãos de pólen cada. Os dados foram submetidos a uma análise de regressão considerando o tempo de germinação dentro de cada espécie em relação à porcentagem de germinação de grãos de pólen, utilizando o programa estatístico Sisvar.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para Ameixeira, Nespereira e Pessegueiro, na primeira etapa do experimento, observa-se que houve uma tendência linear crescente com o aumento do tempo de avaliação. As espécies estudadas comportaram-se de maneira bastante similar. Observa-se que o início da germinação ocorreu no período de 30 minutos após a inoculação (Figura 1).

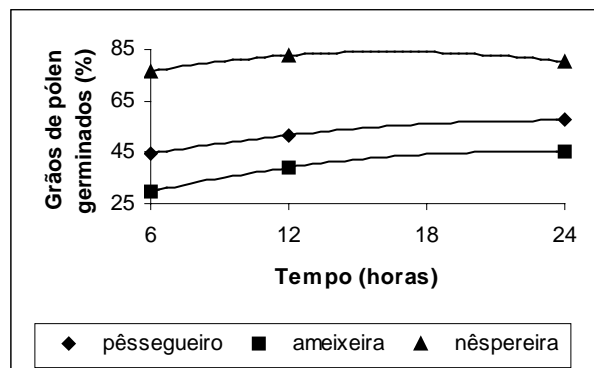


$$Y(\text{Pessegueiro})=4,7677+0,039X \quad R^2=0,91$$

$$Y(\text{Ameixeira})=3,25+0,027X \quad R^2=87,75$$

$$Y(\text{Nespereira})=6,01+0,049X \quad R^2=88,70$$

Figura 1- Porcentagem de grãos de pólen germinados de pessegueiro, ameixeira e nespereira por 180 minutos após a inoculação, contados a cada 30 minutos, UFLA, 2007



$$Y(\text{Pessegueiro})=20,057+3,23X+0,1X^2 \quad R^2=1$$

$$Y(\text{Ameixeira})=18,74+3,022X+0,96X^2 \quad R^2=1$$

$$Y(\text{Nespereira})=16,96+2,73+0,087X^2 \quad R^2=1$$

Figura 2- Porcentagem de grãos de pólen germinados de pessegueiro, ameixeira e nespereira por 24 horas após a inoculação, contados a partir de 6 horas, UFLA, 2007

Os resultados da segunda etapa mostraram que houve também um comportamento bastante similar entre as espécies estudadas. Melhores resultados foram obtidos com um período aproximado de 24 horas após a incubação (Figura 2).

De maneira geral, podemos dizer que para germinação de grãos de pólen, melhores resultados são observados no período de 24 horas, evidenciando que para um maior índice de germinação *in vitro*, o pólen deve permanecer por um período de aproximadamente 24h em meio de cultura, para em seguida ter sua viabilidade avaliada.

Observa-se também que a ameixeira apresentou um baixo índice de germinação em todos os tratamentos.

Para citros em ambas variáveis estudadas houve efeito significativo para tempo e variedades, bem como a interação entre esses dois fatores.

Na primeira etapa, observa-se que para a grãos de pólen germinados, houve uma tendência linear crescente com o aumento do tempo de avaliação. As variedades comportaram-se de maneira bastante similar, sendo que houve efeito significativo somente para Valência e Pêra. Observa-se que o início da germinação ocorreu entre o período de 60 a 90 minutos (Figura 3).

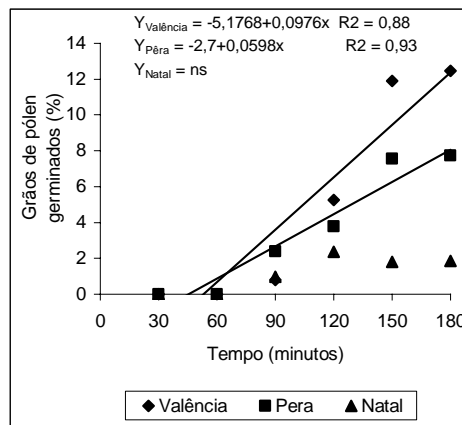


Figura 3- Porcentagem de grãos de pólen germinados de pessegueiro, ameixeira e nespereira por 180 minutos após a inoculação, contados a cada 30 minutos, UFLA, 2007

Os resultados da segunda etapa mostraram que houve também um comportamento bastante similar entre as cultivares estudadas. Melhores resultados foram obtidos com um período aproximado de 12 horas, ponto a partir do qual pode-se notar uma tendência de decréscimo na porcentagem de grãos de pólen germinados (Figura 4).

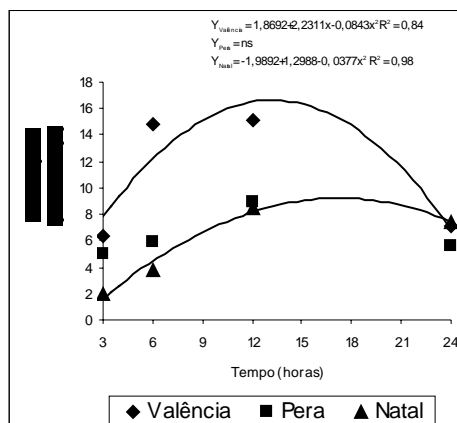


FIGURA 4– Porcentagem de grãos de pólen germinados em diferentes variedades de laranjeira e tempos. UFLA, Lavras-MG, 2007.

De maneira geral, podemos dizer que para germinação de grãos de pólen, melhores resultados são observados no período de 12 horas, evidenciando que para um maior índice de germinação *in vitro*, o pólen deve permanecer por um período de aproximadamente 12h no meio de cultura, para em seguida ter sua viabilidade avaliada.

## CONCLUSÕES

Grãos de pólen de ameixeira, nespereira e pessegueiro iniciam a emissão do tubo polínico aproximadamente 30 minutos após sua inoculação em meio de cultura e grãos de pólen de citros iniciam a emissão do tubo polínico aproximadamente 90 minutos após sua inoculação em meio de cultura.

A germinação de grãos de pólen de ameixeira, nespereira e pessegueiro ocorre em melhores condições no período de 24 horas após a inoculação e de pólen de citros no período de 12 horas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KWACK, B.H.; BREWBAKER, J.L. The essential role of calcium ion pollen germination and pollen tube growth. **American Journal Botany**. v.50, p.859-865, 1963.

LEECH, L.; SIMPSON, D.W.; WHITEHOUSE, A.B.; HIETARANTA, T.; LINNA, M.M.; PALONEN, P.; PARIKKA, P. Effect of temperature and relative humidity on pollen germination in four strawberry cultivars. **Acta-Horticulturae**, Tampere, v.1, n.567 p. 261-263, 2002.

MELHEM, T. S.; SALGADO-LABOURIAU, M. L. Pollen grains of plants of the "Cerrado" V - Leguminosae -Caesolpinodae. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 369-387, 1973.

PARTON, E.; VERVAEKE, I.; DELEN, R.; VANDENBUSSCHE, B.; DEROOSE, R.; PROFT, M.D.E.; PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**, Heverlee, v.125, n.2, p.155-161, 2002.

PFAHLER, P.L. In vitro germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays*) pollen. 1. Calcium and Born effects. **Canada. Journal. Botanic**, v.45, p.839-845, 1967.

SILVA, M.M. da. **Influência de abelhas na polinização e de agrotóxicos na germinação do pólen de maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.)**, Viçosa:UFV, 1996.59p. (Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa).

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica organografia**. Viçosa: UFV, 1995. 114 p.

## PALAVRAS-CHAVES

*Citrus sinensis*, Palinologia, Cultura de tecidos, Melhoramento genético.

## Eficiência de solução enzimática no isolamento de protoplastos de folhas de Pequizeiro cultivadas “*in vitro*”

<sup>1</sup>Martinotto, Cristiano; <sup>2</sup>Paiva, Renato; <sup>3</sup>Marques Jr., Jessé; <sup>4</sup>Castro, Evaristo Mauro de; <sup>5</sup>Rodrigues, Marcelo; <sup>6</sup>França, André Cabral;

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000, Lavras, fone (35) 3829-1619, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Prof. Dr. DBI-UFLA e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: [jesseagronomo@yahoo.com.br](mailto:jesseagronomo@yahoo.com.br). <sup>4</sup> Professor Doutor DB\_-UFLA, e-mail: [emcastro@ufla](mailto:emcastro@ufla); <sup>5</sup>Bolsista de iniciação científica, e-mail: [marcelo@cbiologicas.ufla.br](mailto:marcelo@cbiologicas.ufla.br); <sup>6</sup>Doutorando em Fitotecnia, DAG(UFLA), e-mail: [cabralfranca@yahoo.com.br](mailto:cabralfranca@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

O pequizeiro é uma espécie arbórea nativa dos Cerrados brasileiros pertencente à família Caryocaraceae (Araújo, 1995). É também conhecido, de acordo com a região de ocorrência, por pequi, piqui, piquiá-bravo, amêndoa-de-espinho, grão-de-cavalo, pequiá, pequiá-pedra, pequerim, suari e piquiá. O nome pequi se origina da palavra tupi “pyqui”, em que Py significa casca e qui, espinho (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, citado por Almeida & Silva, 1994).

O pequizeiro é considerado uma espécie de interesse econômico, principalmente devido ao uso de seus frutos na culinária, como fonte de vitaminas e na extração de óleos para a fabricação de cosméticos (Almeida & Silva, 1994). Na medicina popular, é utilizado para tratamento de problemas respiratórios, como afrodisíaco e suas folhas são adstringentes, além de estimular a produção da bÍlis (Almeida & Silva, 1994; Brandão et al., 2002). Apresenta ótima madeira, sendo sua casca utilizada em curtume e como corante natural (Brandão et al., 2002; Almeida & Silva, 1994; Almeida et al. 1998).

Sob condições adequadas de temperatura e umidade, a semente de pequi inicia a germinação a partir de um mês de plantio, podendo levar de 6 a 11 meses para concretizar o processo (Miranda, 1987). Dombroski (1997), comparando níveis de escarificação e efeito de GA<sub>3</sub>, observou que a germinação ocorreu até 56 dias após a semeadura, indicando que a utilização de reguladores de crescimento pode ter efeito benéfico na germinação do pequizeiro.

O cultivo *in vitro* desta espécie apresenta-se como uma alternativa a sua propagação. Entre as técnicas de cultivo *in vitro* temos o cultivo de protoplastos, que consiste no cultivo de células desprovidas de parede celular. Esta técnica pode ser utilizada na transformação genética através de eletroporação ou micro-injeção, auxiliando programas de melhoramento. Os protoplastos ao serem cultivados em suspensão mantém a totipotencialidade, dividindo-se, formando colônias, calos e regenerando plantas por embriogênese ou organogênese (Barros & Carneiro, 1998).

O objetivo do trabalho foi a determinação da eficiência de isolamento de protoplastos de folhas de pequizeiro seguindo a metodologia desenvolvida por Ochatt *et al.* (1987).

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se como explantes folhas de plântulas de pequizeiro cultivadas *in vitro*.

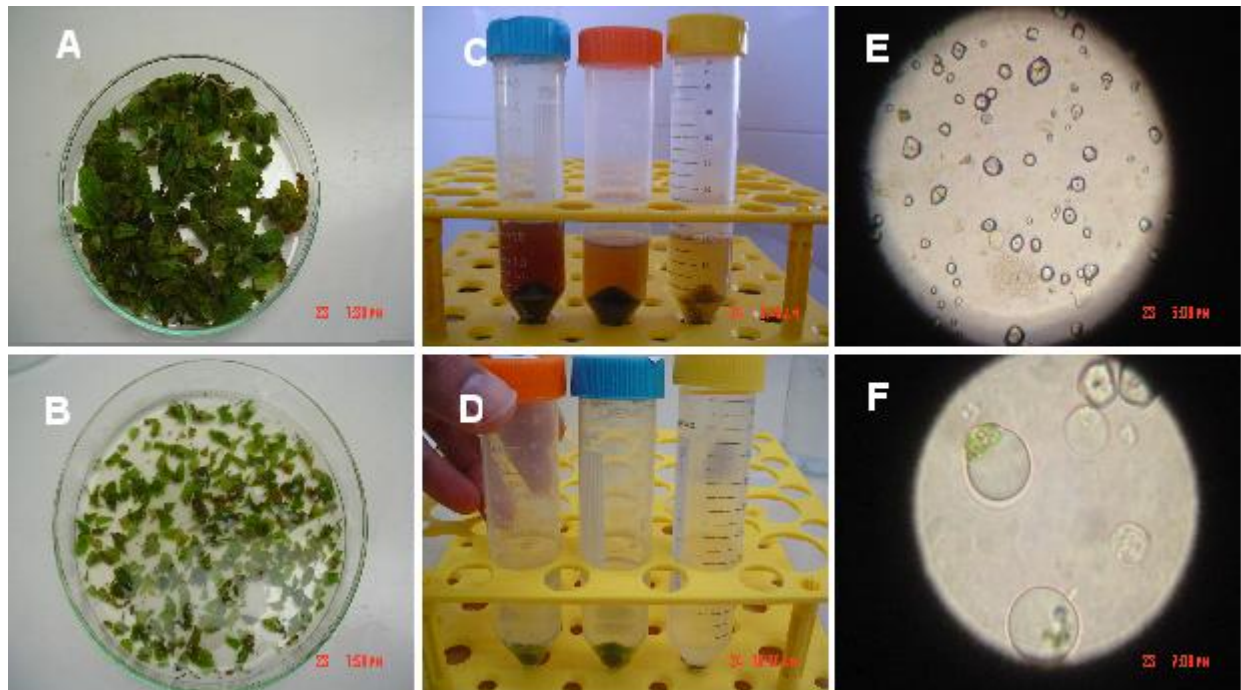
Aproximadamente 1 g de folhas (Fig. 1A) foram excisadas das plântulas e submetidas a cortes, com a finalidade de aumentar a área de contato do mesofilo com a solução enzimática. Efetuado os cortes, as folhas foram incubadas em 15 mL de solução CPW 13M (Frearson et al., 1973) pH 5,8, durante uma hora em placa de petri (15 x 58 mm) para plasmolisar as células (Fig. 1B). Para o isolamento de protoplastos, as folhas foram transferidas para 15 mL de



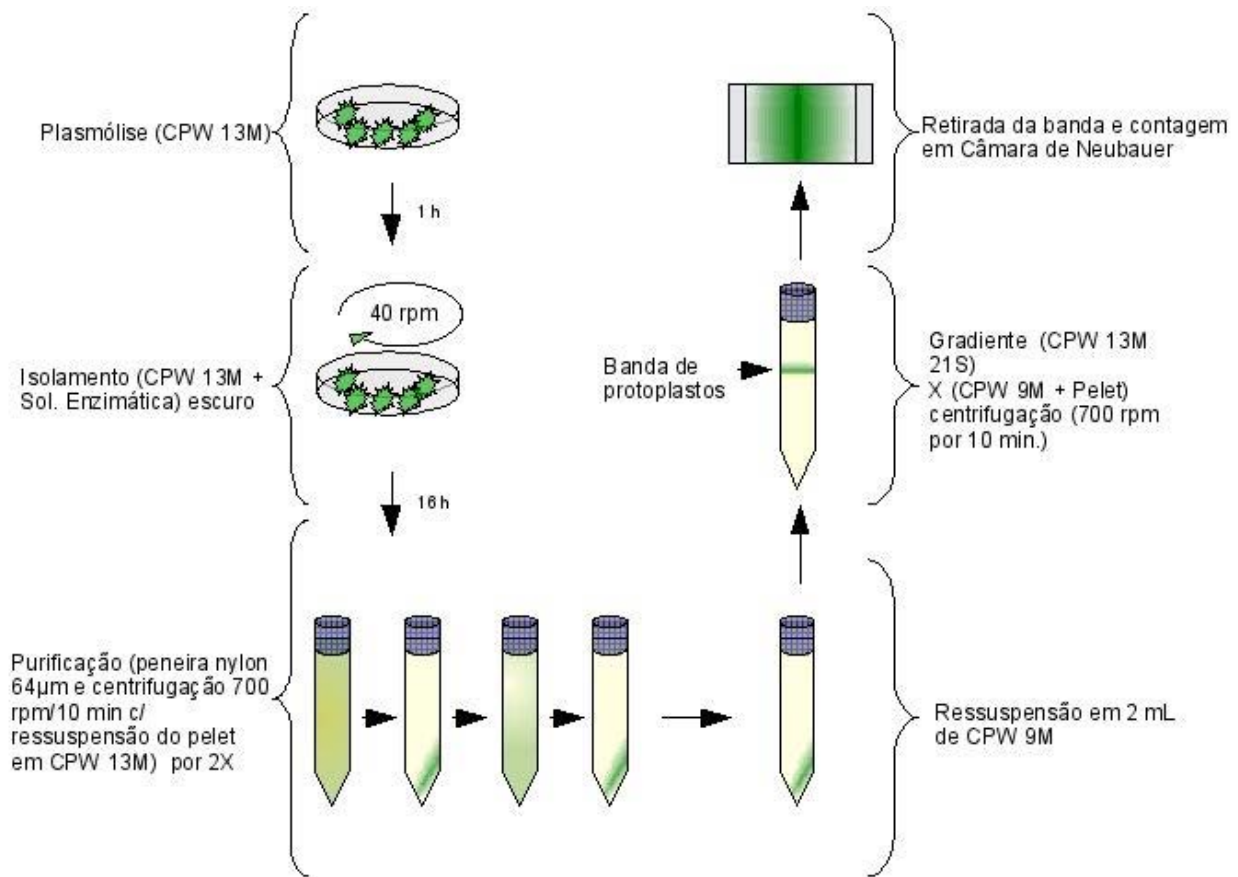
solução enzimática diluída em CPW 13M após o ajuste do pH 5,6. A composição utilizada nesta solução foi 1% de cellulase “onozuca” R-10 (Yakult Honsha), 0,2% de macerozyme R-10 (Yakult Honsha) e 0,1% da enzima driselase, sendo acrescentado 5mM de MES (Ochatt et al., 1987). Durante esta fase a placa foi coberta com papel alumínio para evitar a incidência de luz e possível degradação das enzimas e em agitação de 40 rpm à temperatura de 25°C. A eficiência do isolamento foi avaliada ao final de 7 horas através de purificação e contagem dos protoplastos.

Para a purificação, a suspensão obtida (protoplastos isolados, tecidos não digeridos e protoplastos danificados) foi filtrada, utilizando peneira de nylon 64µm e centrifugado a 700 rpm por 10 minutos. O precipitado foi ressuspensionado em 15 mL de CPW 13 e repetida a operação por mais duas vezes. Após a última centrifugação o pelet foi ressuspensionado em 2 mL de CPW 9M e transferido para novo tubo de centrífuga com 13 mL de CPW 13M 21S e, então, centrifugado (700 rpm; 10 minutos) para isolar os protoplastos através da formação de banda, por gradiente de densidade. O rendimento foi determinado utilizando-se câmara de Neubauer (Hausser Scientific, USA), sob microscópio ótico (Figura 1, E e F).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 2 repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de isolamento.



**Figura 1.** Detalhes do protocolo de isolamento: A)folhas de pequiyeiro cultivado *in vitro*; B)pré-plasmólise das células em CPW 13M; C e D)processo de purificação de protoplastos (centrifugação, ressuspensão em CPW 13); E e F) Detalhe dos protoplastos isolados (100x e 400x respectivamente).



**Figura 2** – Esquema do processo de isolamento segundo Ochatt *et. al.* (1987).

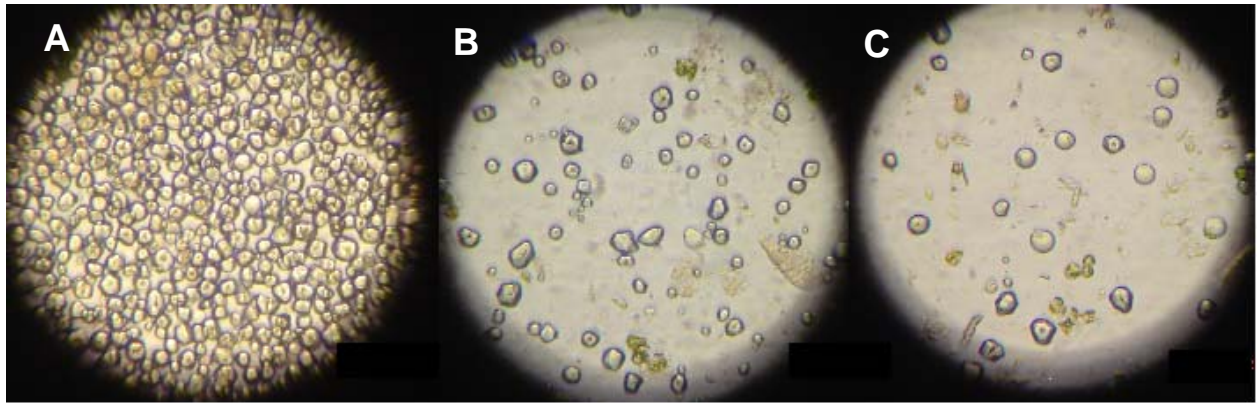
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A protocolo de isolamento foi eficiente no isolamento de protoplastos de folhas de pequizeiro cultivado *in vitro*. Nas primeiras horas observadas, houve intensa presença de células individualizadas observados na solução (Fig. 3A).

Na contagem em câmara de Neubauer foram obtidos por este protocolo  $6,0 \times 10^5$  protoplastos/g de matéria fresca.

Ochatt *et. al.* (1987) trabalhando com cerejeira (*Prunus avium* x *Pseudocerasus*), obteve um isolamento de  $0,6 \times 10^7$  a  $1,5 \times 10^8$  protoplastos/g de matéria fresca, bem maior do que o observado no presente trabalho.

Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira *et. al.* (1995) trabalhando com os porta-enxertos de citrus limoeiro Cravo e tangerina Cleópatra, onde obteve  $0,5 \times 10^6$  e  $0,7 \times 10^6$  protoplastos por mL de suspensão. Neste trabalho os autores utilizaram  $3 \text{ cm}^3$  de células cultivadas em suspensão celular.



**Figura 3.** Marcha do isolamento. A) primeiras horas; B) antes da purificação; C) Contagem.

Costa et al. (2002), utilizando a mesma solução enzimática obteve um rendimento de  $4,8 \times 10^6$  protoplastos/g de calos em laranja Pera cv. 158.

O presente trabalho é pioneiro, visto que, não se tem notícia de outros trabalhos de isolamento de protoplastos para o pequizeiro. Mais estudos estão sendo realizados para que seja consolidado um protocolo otimizado para a espécie, facilitando o melhoramento da espécie, bem como sua transformação.

## CONCLUSÃO

A solução enzimática composta de 1% de cellulase “onozuka” R-10 (Yakult Honsha), 0,2% de macerozyme R-10 (Yakult Honsha), 0,1% da enzima driselase e 5mM de MES (Ochatt et al., 1987) com 7 horas de incubação foi eficiente no isolamento de protoplastos de folhas de pequizeiro cultivado *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, L. M. G. & CARNEIRO, V. T. C. Eletroporação de protoplastos. In: BRASILEIRO, A. C. M. & CARNEIRO, V. T. C. Manual de transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CENARGEM, p.37-47, 1998.

BENEDITO, V.A.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; MENDES, B.M.J. Calogênese, embriogênese somática e isolamento de protoplastos de laranja-doce. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.1, p.33-38, 2000.

COSTA M<sup>a</sup>. A. P. C.; FILHO, F. A. A. M. & MENDES, B. M. J. Isolamento e eficiência de plaqueamento de protoplastos de citros. **Rev. Bras. Frutic.** v.24n.2Jaboticabalago.2002

DA SILVA, A. L. C. Cultura de tecidos de plantas. Disponível em: <http://br.geocities.com/alccoelho/calogenese.html>. Acesso em: 02 abr. 2007.

FREARSON, E. M.; POWER, J. B & COCKING, E. C. The isolament, culture, and regeneration of *Petunia* leaf protoplasts. **Developmental Biology**, San Diego, v.33, p.130-137, 1973

LINS, S. R. O. & COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v 29, n. 3, Brasília, May/June, p. 332-335, 2004.

OCHATT, S.J.; COCKING, E.C.; POWER, J.B. Isolation, culture and plant regeneration of colt cherry (*Prunus avium x pseudocerasus*) protoplasts. **Plant Science**, Amsterdam, v.50,p.139-143, 1987.

OLIVEIRA, R.P. de et al . Isolation and growth of citrus rootstock protoplasts. **Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)**, Piracicaba, v. 52, n. 2, 1995. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90161995000200007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161995000200007&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 04 May 2007. Pré-publicação.

POULSEN, ONE. D.. *Etilingera* of Borneo. Natural history publications (Borneo) 263 p.. 2006.

ARAUJO, F. D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): an economically valuable of central Brazilian cerrados. **Economic Botany**, Bronx, v. 49, n. 1, p. 40-48, Jan./Mar. 1995.

ALMEIDA, S. P. de; SILVA, J. A. **Piqui e Buriti**: Importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1994. 38 p. (EMBRAPA-CPAC. Documentos, 54).

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 528 p.

ALMEIDA, S. P. de. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico – química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de (Ed.). **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 248-285.

DOMBROSKI, J. L. D. **Estudos sobre a propagação do pequi (Caryocar brasiliense Camb.)**. 1997. 80 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MIRANDA, J. de S.; SILVA, H.; MATOS, M. A. de O. Emergência e vigor de sementes de pequi submetidas a pré-tratamentos mecânicos e térmicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1987. p. 647-651.

**PALAVRAS-CHAVES:** *Caryocar brasiliense*; *Cariocaraceae*; cultivo *in vitro*; celulase; pectinase.

Apoio: CNPq

## **<sup>1</sup>Características básicas de calos embriogênicos formados em tecidos somáticos de Angiospermas**

<sup>1</sup>Termignoni, Regina Ramos.

<sup>1</sup>Professor Associado I, UFRGS, IB, Departamento de Botânica, Laboratório de Cultura de Tecidos e Desenvolvimento Vegetal, Av. Bento Gonçalves, 9500 prédio 43432, Campus do Vale, UFRGS, CEP 91501-970, Porto alegre, RS, Brasil, fone (51)3308-7572, (51) 3308-7576, email: [regtr@terra.com.br](mailto:regtr@terra.com.br).

A utilização de tecidos somáticos de dicotiledôneas e monocotiledôneas em diferentes tratamentos de cultura *in vitro* tem permitido a observação de um comportamento diferenciado das células no que se refere ao seu potencial de regeneração e as sucessivas etapas na indução e expressão das características morfo-fisiológicas das estruturas geradas ao longo dos processos regenerativos.

Com base em observações feitas no comportamento *in vitro* de várias espécies estudadas, calos com potencial embriogênico induzido, independentemente da espécie que serviu como fonte de explantes, sempre vão apresentar um escurecimento dos tecidos acompanhado da presença muito precoce de um gel, uma substância mucilaginosa, que encobre a superfície do calo. Mergulhados neste gel, estão estruturas nodulares, que podem apresentar uma cor parda a marrom, muitas vezes, tornando-se pretas. Os calos tem uma aparência brilhante devido ao gel, esta mucilagem que se forma em torno dos mesmos. Um outro indicio de potencial embriogênico induzido e já em expressão nos tecido em cultura, é o aparecimento de células com tonalidade rosada ou quase roxa, provavelmente devido à presença de antocianinas. Após a formação destas áreas rosadas, inicia-se o aparecimento de áreas com uma cor verde que vai intensificando-se até o aparecimento de ápices vegetativos que se alongam em ramos, enraizando-se muitas vezes. A diferença mais crítica entre calos com potencial embriogênico e organogênico já estabelecido na cultura, observada nos tecidos das diferentes espécies estudadas (*Eucalyptus* spp. entre estas, *E. dunnii*, *E. viminalis*, *E. saligna* e híbridos de eucalipto, *Vetiveria zizanioides*, *Pennisetum purpureum*, *Baccharis trimera*, *Plecthranthus lentiscifolius*, *Medicago sativa*, *Trifolium repens*) é justamente a presença do gel e da cor avermelhada seguida do surgimento de áreas verde, que precede a neoformação dos embriões. Os calos organogênicos são muito similares muitas vezes aos embriogênicos, porém não apresentam a formação do gel precedendo a coloração avermelhada e a posterior intensa coloração verde que se forma nas áreas onde surgirão os embriões.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Calos embriogênicos; dicotiledôneas; nódulos; mucilagem; antocianinas.

---

<sup>1</sup> Agradecemos ao CNPq as bolsas concedidas



## Índices de recuperação de microenxertos de diferentes espécies e variedades de citros.

Silva, Luis Fernando Carvalho<sup>1,2</sup>; Carvalho, Sérgio Alves de<sup>1,3</sup>; Santos, Francisca Alves dos<sup>1,2</sup>; Machado, Marcos Antonio<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Centro APTA Citros 'Sylvio Moreira' – IAC, email: [lfernando@centrodecitricultura.br](mailto:lfernando@centrodecitricultura.br); <sup>2</sup>Bolsista AT CNPq; <sup>3</sup>Bolsista Produtividade CNPq - Rodovia Anhanguera km.158, caixa postal 04, CEP 13.490-970 Cordeirópolis, São Paulo, fone: (19)3546-1399

A susceptibilidade dos citros a doenças sistêmicas, causadas por vírus, viróides e bactérias, torna de extrema importância a aplicação de técnicas de limpeza clonal, visando a recuperação de clones sadios para utilização como matrizes. Atualmente, isto pode ser realizado através da microenxertia de ápices caulinares, sem os inconvenientes da embrião nucelar, como longo período juvenil e necessidade de cruzamentos com marcadores morfológicos conhecidos para identificação das plântulas zigóticas. A microenxertia tem sido amplamente utilizada nos países que possuem programas de registro de matrizes e limpeza clonal. São descritos neste trabalho os índices médios obtidos na recuperação de plantas de diferentes espécies e variedades de citros, pela aplicação da microenxertia como parte do Programa de Matrizes do Centro APTA Citros 'Sylvio Moreira' – IAC (Instituto Agrônomo de Campinas). Durante o período de 1992 a 2007, foram realizadas 29.852 operações de microenxertia, envolvendo cerca de 1000 clones diferentes, sendo 75% do Banco ativo de germoplasma de Citros – IAC e o restante de candidatas à matrizes da iniciativa privada. Considerando-se todas as espécies e variedades, a taxa média de recuperação das plantas foi 2,49%, com diferença de 2,1% entre grupos de maior ou menos sucesso. Variedades de laranjas doces (*Citrus sinensis*) e limas doces e ácidas (*C. aurantifolia* e *C. latifolia*) apresentaram maior facilidade na recuperação *in vitro*, com índices de 3,09% e 3,35% respectivamente, seguidos dos limões (*C. limon*), com 2,25% de pegamento. Variedades ou clones de *Poncirus trifoliata* e híbridos, pomelos (*C. paradisi*) e tangerinas e seus híbridos (*C. reticulata*, *C. deliciosa* e outros), apresentaram menor taxa de recuperação, com valores médios de 1,36, 1,29% e 1,25%, respectivamente. O índice relativamente baixo de recuperação das plantas está relacionado com a necessidade de uso de ápices meristemáticos bastante reduzidos que, mesmo garantindo 100% de sucesso na limpeza para o vírus da tristeza dos citros, exocorte e xiloporose, apresentam falha de cerca de 30% para o vírus da sorose, que entretanto pode ser também completamente eliminado quando a microenxertia é associada à técnica de termoterapia. Sucesso de 100% também tem sido obtido na aclimação das plantas em casa de vegetação, através da garfagem em plantas já estabelecidas em vasos, possibilitando o rápido crescimento e obtenção de material para os testes de re-indexação e multiplicação do material.

### PALAVRAS-CHAVES

Limpeza clonal; *in vitro*; microporta-enxertos; citrus

## **Avaliação da contaminação por fungos em fragmentos de tecidos interno e externo de segmentos nodais de cultivares de *Mangifera indica* L.**

Oliveira, Welmo da Costa<sup>1</sup>; Andrade, Solange Rocha Monteiro<sup>2</sup>; Charchar, Maria José D'Ávila<sup>2</sup>; Gonçalves, Roberto M.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia, Universidade de Brasília (UnB) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV), Campus Universitário Darcy Ribeiro, CEP: 70910-900, Brasília, Distrito Federal, e-mail: [welmocosta@yahoo.com.br](mailto:welmocosta@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, CEP 73310-970, Brasília, Distrito Federal, fone (61) 3388- 9836, e-mail: [solange@cpac.embrapa.br](mailto:solange@cpac.embrapa.br); <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, CEP 73310-970, Brasília, Distrito Federal, fone (61) 3388- 9916, e-mail: [mdavila@cpac.embrapa.br](mailto:mdavila@cpac.embrapa.br); <sup>3</sup>Técnico laboratório Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, CEP 73310-970, Brasília, Distrito Federal.

A comercialização da manga apresenta tendência crescente no mercado de frutas e derivados. A cultura de tecidos vegetal é de grande importância para o melhoramento genético, visto que pode acelerar algumas fases do programa. Pesquisas buscam o desenvolvimento de métodos de descontaminação superficial de explantes que propiciem a propagação *in vitro* da espécie. Visando observar a origem do foco de contaminação por fungos em segmentos nodais da mangueira, fragmentos foram obtidos de tecido interno e externo dos explantes de estacas de diferentes idades (jovens e adultas), em três cultivares (Alfa, Roxa e Tommy Atkins). Assim, para cada cultivar, tinham-se quatro placas, em um total de doze placas. Os fragmentos foram submetidos a desinfestação superficial em álcool 70%, seguido de 2 min. em Hipoclorito de Sódio 1%. Em seguida, as amostras foram inoculadas em meio BDA em placas de Petri, sendo mantidas em BOD com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi feita aos dez dias após a inoculação em meio de cultura. O experimento foi analisado qualitativamente. Os resultados obtidos demonstraram que nas três cultivares e nas duas idades do tecido, 100% das contaminações são oriundas da região superficial, ao passo que, amostras de tecido interno não apresentaram nenhum tipo de contaminação. Os resultados sugerem que o protocolo de descontaminação superficial de explantes de mangueira precisa ser aprimorado, bem como sugerem a necessidade de tratamentos com fungicidas das matrizes fontes dos explantes.

### **PALAVRAS-CHAVES:**

Cultura de tecidos; descontaminação; fungos; *Mangifera indica*.

## **Produção de flores de *Hippeastrum hybridum* cv Ferrari em diferentes tipos de substratos.**

Castilho, Regina M. M. de<sup>1</sup>; Picoli, Pedro Renan Ferreira<sup>2a</sup>; Silva, Thaís Garcia da<sup>2b</sup>.

<sup>1</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – Unesp / Campus de Ilha Solteira, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br); <sup>2</sup> Discentes da Unesp / Campus de Ilha Solteira, <sup>2a</sup> Curso de Agronomia, <sup>2b</sup> Curso de Ciências Biológicas.

### **INTRODUÇÃO**

O gênero *Hippeastrum* constitui-se de plantas herbáceas, com folhas dísticas laminares e escapos com duas brácteas espatais livres. As flores são descritas como grandes, exibindo faixa de cores do vermelho escuro até o branco, passando pelo verde e o laranja, e também mescladas, de forma afunilada e levemente zigomorfa. Possui tépalas livres na base e filamentos desiguais e mais ou menos ascendentes.

Geralmente são cultivados em vasos, mas podem ser plantados a pleno sol como bordadura ou em conjuntos. Tanto o solo dos vasos como os canteiros devem ser férteis, de textura média, bem drenável e irrigados periodicamente, exceto quando se preparam para o florescimento. São multiplicados facilmente por bulbos, os quais devem ser separados da planta mãe após o desaparecimento da folhagem.

A maioria dos cultivares comerciais são híbridos complexos, sendo os cultivares de *Hippeastrum hybridum* Hort os mais cultivados. O principal produto é o bulbo, sendo também comercializado como planta envasada ou como flores dormentes.

Quando em vaso, o substrato a ser utilizado deve ter características que garantam o bom desenvolvimento da planta, ser de fácil aquisição, leve, econômico e que possibilite uma boa produção de flores.

A vermiculita é um mineral praticamente inerte, de estrutura variável, muito leve, constituído de lâminas, com grande aeração, alta capacidade de troca catiônica e retenção de água e livre de microrganismos patogênicos. Pode ser usada pura na fase inicial de enraizamento de estacas ou em misturas diversas para promover maior aeração e porosidade a outros substratos menos porosos. Uma desvantagem da vermiculita quando usada pura ou em grande concentração, é a dificuldade desta em promover a agregação do sistema radicular da muda ao substrato, resultando em quebra do torrão quando a muda for transportada e pela retirada da embalagem.

A casca de arroz carbonizada é extremamente leve, estéril, de fácil manuseio, de alta porosidade, boa aeração e baixa capacidade de retenção de água. É utilizada também para aumentar a porosidade em mistura com outros substratos.

Substratos comerciais, como o Plantimax também podem ser utilizados, e possui a seguinte composição: cascas processadas e enriquecidas, vermiculita expandida e turfa processada e enriquecida. Esse substrato é amplamente difundido entre produtores comerciais.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o florescimento de *Hippeastrum hybridum*, em diferentes tipos de substratos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no período de abril a maio de 2005, em estufa, com plástico de 100 micrometros, da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP de Ilha Solteira - SP, no município de Ilha Solteira - SP.

Foram utilizados 30 bulbos de *Hippeastrum hybridum*, da variedade Ferrari de cor vermelha com diâmetro de 22 a 23 cm.

A cultura foi conduzida em vasos de 1,3 L, que foram preenchidos com Plantimax, (Tratamento 1), vermiculita expandida (Tratamento 2) e palha de arroz carbonizada (Tratamento 3).



No tratamento com vermiculita foi utilizada argila expandida no fundo dos vasos para que diminuísse a perda do substrato e que servisse também como área de drenagem.

Os vasos eram molhados 2 vezes ao dia, com regador.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo que cada repetição apresentava dois bulbos, totalizando 30 bulbos.

Os resultados obtidos foram avaliados através do programa STAT. As médias foram comparadas pelo teste de TUKEY, ao nível de 5% de probabilidade.

Foram feitas as seguintes avaliações:

- Altura das hastes: utilizou-se régua, compreendendo a distância entre a saída da haste do bulbo até o final da haste, antes do botão floral, dados em centímetros.
- Diâmetro das hastes: utilizou-se paquímetro, medindo-se o diâmetro logo acima da saída da haste do bulbo.
- Número de flores: obtidas visualmente através da contagem do número de flores por haste floral.
- Porosidade dos substratos: obtidas pelo método da mesa de tensão, a porosidade esta subdividida em macroporosidade e microporosidade dados em  $m^3/m^3$ .

## RESULTADOS

A casca de arroz carbonizado apresentou um melhor desempenho frente aos outros substratos, com hastes florais mais altas; porém, não foram verificadas diferenças estatísticas para o diâmetro médio das hastes florais e número de flores (Tabela 1). O fornecimento de ar é favorecido por não apresentar água em excesso, o que pode ter feito com que o mesmo proporcionasse um desenvolvimento mais rápido que os demais (Tabela 2).

Tabela 1. Média da altura das hastes (cm), diâmetro médio das hastes (cm) e número médio de flores de *Hippeastrum hybridum* cv Ferrari em diferentes substratos.

Substratos	Altura média das hastes florais	Diâmetro médio das hastes florais	Número médio de flores
Substrato comercial	15,96 AB	1,52 A	2,9 A
Vermiculita	11,52 B	1,47 A	2,7 A
Casca de arroz carbonizada	23,64 A	2,21 A	3,9 A

Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si, médias com letras diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Porosidade dos diferentes tipos de substratos em  $m^3/m^3$ .

Substrato	Macroporosidade	Microporosidade	Total
Substrato comercial	0,343	0,432	0,775
Vermiculita	0,268	0,441	0,708
Casca de arroz carbonizada	0,602	0,194	0,796

## CONCLUSÃO

Para produção de flores de *Hippeastrum hybridum* cv Ferrari, o melhor substrato foi à casca de arroz carbonizada (Tratamento 3).

## PALAVRAS-CHAVE

*Hippeastrum hybridum*, substrato, bulbo

## **Influência da cor e do tamanho de vasos plásticos na evaporação de água e temperatura do substrato.**

Castilho, Regina Maria Monteiro de<sup>1</sup>; Fioravati, Celso Daniel<sup>2</sup> ; Pereira, Leandro Barradas<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – Unesp / Campus de Ilha Solteira, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br); <sup>2</sup> Eng. Agrônomo, e-mail: [danielfioramaq@bol.com.br](mailto:danielfioramaq@bol.com.br); <sup>3</sup> Discente do Curso de Agronomia - Unesp / Campus de Ilha Solteira, e-mail: [morna.agronomia@hotmail.com](mailto:morna.agronomia@hotmail.com)

A evolução tecnológica ocorrida na área industrial agrícola possibilitou a introdução de novos materiais como matéria-prima para os contêineres utilizados em paisagismo, destacando-se o plástico. A diversidade de coloração dos recipientes, inicialmente colocado como elemento decorativo, surgiu de modo a propiciar aos consumidores maior adaptação à harmonia do ambiente, o que leva a dúvidas quanto a influência da cor no desenvolvimento da planta e também sua ação no substrato. E, com a alta demanda de recipientes, adaptado ao ambiente e a planta, tornou necessária a diversificação no tamanho dos mesmos. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da cor e do tamanho do vaso sobre o comportamento do substrato, verificando-se a interferência na temperatura e evaporação de água. Foi realizado na Unesp – Ilha Solteira / SP, em ambiente coberto com tela de sombreamento 50% e plástico transparente, no período de jan-fev de 2006. Foram utilizados vasos de plástico nas cores preto, cerâmica e marfim, com dois volumes: 2,5 L e 7 L, preenchidos com solo + composto orgânico (2:1). Avaliou-se: temperatura do substrato (°C) e evaporação de água (L/cm<sup>3</sup>). Concluiu-se que: a cor do vaso não influenciou na temperatura ou no volume de água perdido pelo substrato e que vasos de menor tamanho apresentam maior temperatura de substrato, assim como maior volume de evaporação de água.

**PALAVRAS-CHAVE:** vaso, substrato.

## **Desenvolvimento de bulbos de *Hippeastrum X hybridum* Hort cv Ferrari com o uso de diferentes doses de Stimulate Mo.**

Guerrero, Amaralina Celoto<sup>1</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro <sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia área de concentração Horticultura, Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP- Fazenda Experimental Lageado, C.P. 237, CEP:18603-970, Botucatu-S.P, e-mail: amaralina@fca.unesp.br; <sup>2</sup> Professora Assistente Doutora, Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia da Faculdade de Engenharia-UNESP-Campus de Ilha Solteira, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br)

### **INTRODUÇÃO**

O *Hippeastrum X hybridum* Hort, conhecida como Amarílis ou açucena, pertence à família Amarilidaceae, é uma bulbosa, cuja espécie original *H. vittatum* Herb, do Peru, sofreu hibridação com outras espécies, deu origem à afamada linhagem de híbridos holandeses, com folhagem ornamental que desaparece ou não durante o inverno (LORENZI & SOUZA, 2001).

Segundo o mesmo autor citado acima, geralmente são cultivadas em vasos, mas pode ser plantado a pleno sol como bordadura ou em conjuntos. Tanto o solo dos vasos como dos canteiros devem ser férteis, de textura média, drenável e irrigados periodicamente, exceto quando se preparam para o florescimento. São multiplicados facilmente por bulbos, os quais devem ser separados da planta mãe após o desaparecimento da folhagem.

A maioria dos cultivares comercial são híbridos complexos, sendo os cultivares de *Hippeastrum X hybridum* Hort os mais cultivados. O principal produto são os bulbos, sendo também comercializados como planta envasadas ou como plantas dormentes (AMARILIS, 2001).

Um dos artifícios que podem ser usados na melhoria da qualidade de plantas cultivadas seria a utilização de reguladores vegetais. Esses produtos são muito utilizados em diversas culturas, sendo que para plantas ornamentais, as pesquisas são escassas.

A mistura de dois ou mais reguladores vegetais com outras substâncias (aminoácidos, nutriente, vitaminas, etc.) é designada bioestimulante. Este produto químico pode, em função da sua composição, concentração e proporção das substâncias, incrementarem o crescimento desenvolvimento vegetal, estimulando a divisão celular, diferenciação e alongamento das células, favorecer os equilíbrios hormonais da planta, podendo também aumentar absorção, a utilização da água e dos nutrientes pelas plantas (CAMARGO E CASTRO & VIEIRA, 2003).

Sabe-se que aplicação de bioestimulante tem proporcionado bons resultados na agricultura. Um bioestimulante que vem sendo utilizado para essa finalidade é o Stimulate Mo. Alguns pesquisadores testaram a sua eficiência e obtiveram os resultados descritos a seguir.

Segundo Dario & Baltieri (1998), estudando diferentes doses de Stimulate Mo em sementes de milho, não observaram diferenças significativas entre tratamentos com Stimulate em sementes de milho e o controle, para os parâmetros: emergência de plântulas, altura de plantas, número de espigas/metro e produção.

Reghin et al (2000), em estudo realizado com mandioquinha salsa, mostrou que as doses de Stimulate não promoveram diferença significativa nas características de desenvolvimento da parte aérea. Por outro lado, a aplicação de Stimulate aumentou o número e o comprimento das raízes, tendo sido estimado como ponto de máxima a dose de 7,0 ml/ L. Não foram observados sintomas de fitotoxicidade em quaisquer das doses estudadas. Estes resultados confirmam a atuação do produto como estimulador do sistema radicular, podendo resultar na maior capacidade de absorção de água e nutrientes.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de bulbos

de *Hippeastrum X hybridum* Hort cv Ferrari com o uso de diferentes doses de Stimulate Mo.

#### MATERIAL E MÉTODOS.

O experimento foi desenvolvido na Casa de Vegetação, da Faculdade de Engenharia-UNESP, Campus de Ilha Solteira-SP. A Casa de Vegetação apresenta PAD/FAN e temperatura variando entre 25 e 27°C. Foi conduzido no período de dezembro de 2004 a fevereiro de 2005.

Foram utilizados 90 bulbos, fornecido pela empresa BRASBONITAS®/Holambra - SP. A variedade usada foi a Ferrari de flores de cor vermelha, com bulbos de diâmetro entre 22 e 23 cm.

A cultura foi conduzida em vaso de 5L. Utilizou-se, para preenchimento dos vasos, Plantimax que é um substrato comercial com a seguinte composição: cascas processadas e enriquecidas, vermiculita expandida e turfa processada e enriquecida.

Em cada vaso foram plantados dois bulbos que foram previamente tratados com Stimulate Mo, ficando imersos por 30 minutos em cada uma das concentrações utilizadas.

Foram utilizados três tratamentos: T1 - testemunha (bulbos imersos em água);

T2 - 5ml de Stimulate Mo L<sup>-1</sup>; T3 - 10ml de Stimulate Mo L<sup>-1</sup>.

Avaliaram-se, a cada dois dias, até o ponto de senescência (76 dias após a implantação do experimento) considerando-se ponto de senescência, quando as plantas estabilizaram o crescimento das hastes, folhas e murchamento das hastes e das flores: comprimento das folhas, número de folhas, número de haste, altura das hastes, diâmetro das hastes, número de flores, diâmetro das flores, peso dos bulbos antes e após o plantio e fitomassa fresca e seca da parte aérea.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 15 repetições, sendo que cada repetição apresentava dois bulbos em um total de trinta bulbos por tratamento, totalizando 90 bulbos.

As médias foram comparadas pelo teste de tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que as doses de Stimulate Mo testadas não promoveram diferenças entre os tratamentos nas características de desenvolvimento da planta. Para número de folhas, número de hastes, altura das hastes e diâmetro das flores o tratamento 1 foi o que obteve maiores médias e também maior porcentagem de bulbos com quatro flores por haste.

**Tabela 1.** Médias do número de folhas (cm), comprimento de folhas (cm), altura das hastes (cm), número de flores (%) e diâmetro das flores em cm, *Hippeastrum X hybridum* Hort (Amarílis).

T	Numero de folhas	Comprimento de folhas (cm)	Altura das hastes (cm)	Diâmetro das hastes (cm)	Número de flores*			Diâmetro das flores (cm)
					2	3	4	
T1	5,00 A	29,63 A	20,26 A	1,43 A	10	20	70	14,71 A
T2	4,93 A	27,76 A	18,47 A	1,42 A	6,6	26,6	66,6	14,29 A
T3	4,83 A	32,16 A	19,57 A	1,46 A	3,3	43,3	53,3	14,29 A
CV%	0,21	38,13	36,07	4,49	-	-	-	8,41
DMS	0,92	10,39	5,52	0,05	-	-	-	1,09

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; \* Porcentagem de bulbos com 2, 3 e 4 flores; . T-Tratamentos; T1-testemunha - bulbos imersos em água; T2- 5ml de Stimulate Mo L<sup>-1</sup> de água e T3- 10 ml de Stimulate Mo L<sup>-1</sup> água.

Em relação a comprimento de folhas e diâmetro das hastes o tratamento que sobressaiu, obtendo médias maiores foi o tratamento 3. Para número de flores, o tratamento 3 obteve a menor porcentagem de bulbos com duas flores, porém sem diferenças significativas.

Em relação ao peso do bulbo antes do plantio pode-se observar que estes apresentavam peso uniforme, não apresentando diferença entre os tratamentos. Para peso do bulbo após florescimento os resultados indicam que os tratamentos 1 e 3 não apresentam diferença significativa, tendo consumo de reservas semelhantes, sendo que o tratamento 2 houve menor consumo de reserva.

A massa fresca da parte aérea apresentou diferença entre os tratamentos. O tratamento 1 apresentou diferença em relação aos tratamentos 2 e 3 que tiveram médias semelhantes.

A massa seca da parte aérea não apresentou diferença entre os tratamentos obtendo a mesma média estatística.

**Tabela 2.** Média do peso do bulbo antes do plantio (g), peso após florescimento (g), fitomassa fresca da parte aérea (g), fitomassa seca da parte aérea (g) dos bulbos de *Hippeastrum X hybridum* Hort (Amarílis).

Tratamento	Peso do bulbo antes do plantio	Peso do bulbo após florescimento	Massa fresca parte aérea	Massa seca da parte aérea
T1	898,72 A	520,38 B	505,00 A	43,12 A
T2	896,48 A	708,88 A	312,02 B	30,66 A
T3	873,54 A	529,94 B	331,22 AB	34,48 A
CV %	5,91	7,71	28,85	38,15
DMS	88,63	76,26	186,45	23,21

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade T-tratamentos; T1-testemunha - bulbos imersos em água; T2 - 5ml de Stimulate Mo L<sup>-1</sup> de água e T3 - 10 ml de Stimulate Mo L<sup>-1</sup> água.

Em relação ao peso do bulbo antes do plantio pode-se observar que estes apresentavam peso uniforme, não apresentando diferença entre os tratamentos. Para peso do bulbo após florescimento os resultados indicam que os tratamentos 1 e 3 não apresentam diferença significativa, tendo consumo de reservas semelhantes, sendo que o tratamento 2 houve menor consumo de reserva.

A massa fresca da parte aérea apresentou diferença entre os tratamentos. O tratamento 1 apresentou diferença em relação aos tratamentos 2 e 3 que tiveram médias semelhantes.

A massa seca da parte aérea não apresentou diferença entre os tratamentos obtendo a mesma média estatística.

Em relação ao peso do bulbo após florescimento, o Tratamento 2 (Tabela 2) apresentou menor consumo de reserva e menor massa fresca da parte aérea, não havendo influência nas características de desenvolvimento da planta, como observado na Tabela 1. Nos tratamentos 1 e 3, onde se observa que foi consumido uma maior quantidade de reserva (Tabela 2), não ocorreu influência nas características apresentadas pela Tabela 1.

Para massa fresca da parte aérea (Tabela 2), o tratamento 1 foi estatisticamente diferente aos tratamentos 2 e 3, mostrando uma maior retenção de reservas pela parte aérea da planta. Esse fator não influenciou na massa seca visto que mostram a mesma média estatística (Tabela 1) podendo-se inferir que a menor retenção de água nos tratamentos 2 e 3 foi devido ao uso do Stimulate Mo.

## CONCLUSÃO

O uso de Stimulate Mo nas doses testadas para o desenvolvimento de bulbos de *Hippeastrum X hybridum* Hort (Amarílis), não mostrou resultados eficientes nas condições em que o experimento foi realizado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARÍLIS. **Ruralnet**, São Paulo, 2001. Disponível em:

<<http://www.ruralnet.com.br/ornamentais/amarilis.asp>> Acesso em: 17 out. 2003.

CAMARGO E CASTRO, P. R. DE; VIEIRA, E. L.. Biorreguladores e bioestimulante na cultura do milho. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Org.). **Milho**: estratégias de manejo para alta produtividade. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2003. p. 99-115

DARIO, G. J. A.; BALTIERI, E. M. Avaliação da eficiência do regulador vegetal Stimulate (citocinina+ácido indolbutírico+ácido giberélico) na cultura do milho. Piracicaba: Escola Superior "Luiz de Queiroz", 1998.12p. (Relatório Técnico)

LORENZI, H.; SOUZA, H. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa: Plantarum, 2001. p. 151.

REGHIN, M. Y.; OTTO, R.F.; SILVA, J. B. C. da. "Stimulate Mo" e proteção com tecido e "não tecido" no pré-enraizamento de mudas de mandioquinha salsa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, n.1, p.53-56, mar. 2000.

**PALAVRAS-CHAVES**

*Hippeastrum X hybridum* Hort; Stimulate Mo; biorreguladores.

## Valorização da biodiversidade urbana em Curitiba.

Cuquel, Francine L.<sup>1</sup>; Mielke, Erica C.<sup>2</sup>; Valle Francisca Juçara Ribeiro do<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Professora, doutora Universidade Federal do Paraná - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo. Caixa Postal 19061, CEP 81531-99041, Curitiba, Paraná, (41) 3350-5751, [francine@ufpr.br](mailto:francine@ufpr.br). <sup>2</sup> Agrônoma, mestre Prefeitura Municipal de Curitiba - Secretaria Municipal de Meio Ambiente. Av. Manoel Ribas, 2727. CEP 80810-000, Curitiba, Paraná, (41) 3350-9206, [emielke@onda.com.br](mailto:emielke@onda.com.br). <sup>3</sup> Coordenadora de Planejamento Estratégico, Prefeitura Municipal de Curitiba - Secretaria Municipal de Meio Ambiente, (41) 3350-9206, [fvalle@smma.curitiba.pr.gov.br](mailto:fvalle@smma.curitiba.pr.gov.br)

Muitas das plantas ornamentais utilizadas em projetos de paisagismo no Brasil são plantas exóticas introduzidas, enquanto que as plantas nativas vêm sendo pouco cultivadas e algumas apresentam desta forma risco de extinção. Isto vem causando a perda da biodiversidade do espaço urbano. O “Projeto Biocidade” busca a valorização da biodiversidade urbana em Curitiba pelo resgate das plantas ornamentais nativas com potencial ornamental de áreas que ainda não sofreram ações antrópicas e a re-introdução destas em jardins públicos e privados a fim de permitir a preservação do patrimônio natural. Este projeto está sendo desenvolvido pela Prefeitura Municipal de Curitiba, capital do Estado do Paraná, Brasil, uma cidade conhecida nacionalmente pelas suas ações ecológicas. Na primeira etapa deste projeto as plantas nativas com potencial ornamental estão sendo coletadas e identificadas pelo Museu Botânico Municipal. Na seqüência estão sendo implantados testes para avaliação da melhor tecnologia de propagação de cada espécie em grande escala. As mudas oriundas estão sendo plantadas em áreas experimentais situadas no espaço urbano para avaliação da capacidade de adaptação. Estes espaços consistem em praças, parques e jardins. O local do plantio dependerá das condições requeridas pela planta para seu desenvolvimento. Aquelas que melhor se adaptarem serão produzidas pelos viveiros municipais. Para a divulgação destas será implantado no Jardim Botânico Municipal o Jardim das Plantas Nativas e incentivado o plantio das plantas nativas selecionadas nas praças e parques municipais. Concomitantemente serão desenvolvidas ações educacionais para a comunidade visando a sensibilização para o uso de plantas nativas em jardins residenciais por meio de cursos de jardinagem e curso de conhecimento das plantas nativas. Além disto, a Prefeitura lançará dois livros sobre Borboletas e Pássaros nativos e elaborará um filme educacional sobre plantas e animais nativos da região.

### PALAVRAS CHAVES

Paisagismo, plantas ornamentais nativas,



## Produtores de plantas ornamentais do estado de Minas Gerais

Landgraf, Paulo Roberto Correa<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>;

<sup>1</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, Alfenas, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br), <sup>2</sup>Professor do Departamento de Agricultura da UFLA, Fone (35) 3829-1855 email: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

A atividade da produção de flores possibilita, segundo Bongers (1995), múltiplas formas de exploração e diversidade de cultivo que podem ser: produção de flores de corte, produção de flores e plantas envasadas, produção de folhagens, plantas de interior e viveiros de produção de mudas (jardins). O setor é responsável pela geração de aproximadamente 50 mil empregos, dos quais, 22,5 mil (45%) estão localizados na produção, cerca de 3,5 mil (6%) na distribuição, 22,5 mil (45%) no comércio e 2,0 mil (4%) em atividades de apoio (IBRAFLO, 2002).

No Brasil, a profissionalização e o dinamismo comercial da floricultura são fenômenos relativamente recentes. No entanto, frente ao enorme mercado interno de consumo, a atividade já contabiliza números extremamente significativos. São mais de 4 mil produtores, cultivando uma área de cerca de 5,2 mil hectares anualmente. Embora com fortes tendências atuais de descentralização produtiva e comercial por várias regiões de todo o País, a atividade ainda é fortemente concentrada no Estado de São Paulo e, particularmente, na região do município de Holambra. No total, estima-se a geração de 50 mil empregos (IBRAFLO, 2005).

As flores mais produzidas no Brasil são: rosas (40,6 milhões de dúzias); violetas (25,7 milhões de vasos); crisântemos (15,2 milhões de vasos + 12,6 milhões de maços); kalanchoe (9,2 milhões de vasos); begônias (3,7 milhões de vasos); cravos (3,2 milhões de maços); e azaléias (2,5 milhões de vasos), (Antunes, 2002),.

Segundo Gavioli (2004) o setor da floricultura brasileira conta atualmente com quatro mil produtores concentrados, principalmente, em São Paulo (70% da produção e 40% do consumo), Minas Gerais, Rio de Janeiro, Alagoas, Pernambuco, Bahia, Ceará, Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

De acordo com Silveira, em levantamento realizado no ano de 1993, em Minas Gerais, a Floricultura estava localizada nas regiões das cidades de Barbacena, Juiz de Fora, São João Del Rei, Belo Horizonte, Congonhas, Mateus Leme, Sete Lagoas e Diamantina, expandindo-se para Ituiutaba, Uberaba, Uberlândia, Viçosa, Pato de Minas, Paracatu, Teófilo Otoni, Governador Valadares, Montes Claros, e principalmente Poços de Caldas, Alfenas, Itajubá, Lavras, Pouso Alegre, Munhoz, Andradas, Florestal, Juatuba, entre outras, sendo praticada por 342 produtores. No diagnóstico da Associação Mineira de Floricultura (1996) para os Estados de Minas Gerais e Espírito Santo foram levantados 178 produtores que se dedicam a essa atividade.

O Estado de Minas Gerais é dividido em 10 regiões administrativas: Alto Paranaíba, Central, Centro-Oeste, Jequitinhonha/Murici, Noroeste, Norte, Vale do Rio Doce, Sul e Triângulo Mineiro e Zona da Mata, sendo que cada uma apresenta particularidades de produção de flores e plantas ornamentais (IBGE, 2005).

No Estado de Minas Gerais as principais regiões produtoras são: região de Barbacena; Sul de Minas, Grande Belo Horizonte, entorno de Dona Eusébia, Teófilo Otoni e ainda Munhoz e Araxá. No entanto, não existem dados recentes desta atividade no estado de Minas Gerais. O último levantamento foi feito pela AMIFLO (Associação Mineira de Floricultura) no ano de 1996 e somou informações com o estado do Espírito Santo, não gerando em algumas situações dados precisos. Não se

tem dados exatos da produção de flores em cada região do Estado dificultando acesso a informações sobre a produção e comercialização desses produtos. A floricultura de corte mineira tem nas rosas a sua exploração principal, havendo ainda destaque os cultivos de crisântemo, cravo, áster, gladiolo e produtos de floricultura silvestre. Dentre as demais plantas ornamentais, destacam-se algumas mudas para jardim (azaléias, primaveras e dracenas, folhagens (aráceas), plantas envasadas (violela africana e samambaia) e espécies arbóreas (bignoniáceas, melastomatáceas e leguminosas, principalmente). No total são comercialmente exploradas 120 diferentes plantas ornamentais (Landgraf & Paiva, 2005)

O presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento no número de produtores de plantas ornamentais localizados no estado de Minas Gerais.

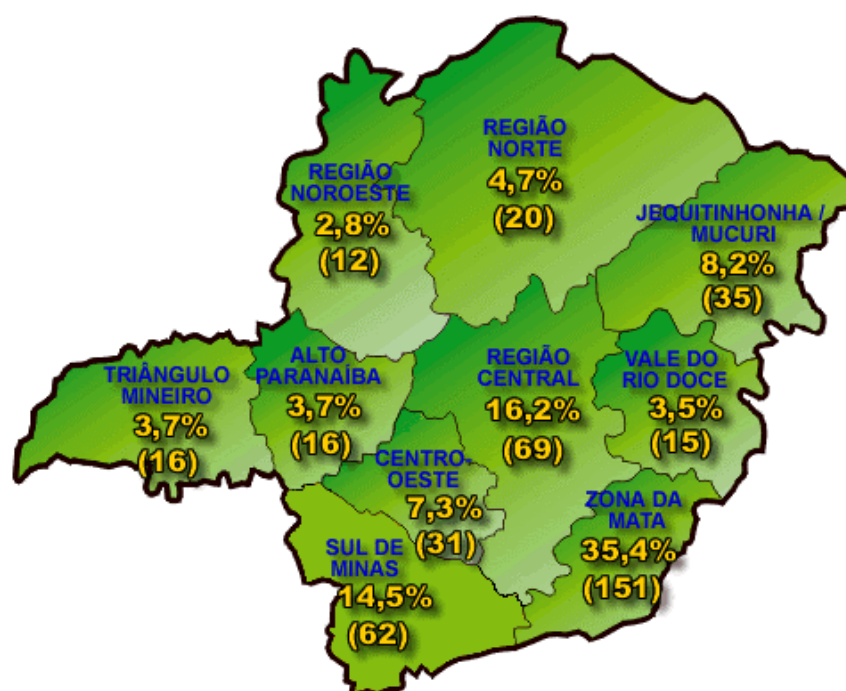
## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Estado de Minas Gerais junto aos produtores de plantas ornamentais, flores de corte, vasos, bulbos, palmeiras e mudas arbóreas. Como não foi encontrado nenhum cadastro ou registro desses produtores, a identificação desses foi feita de maneira exploratória, por meio de visitas às áreas produtivas. As visitas foram feitas *in loco* nos 853 municípios, sendo identificado um total de 427 produtores no período de 2003 a 2005. Os resultados foram apresentados em número e em porcentagem de produtores em cada uma das regiões administrativas do Estado de MG

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 são apresentadas as porcentagens de produtores de plantas ornamentais no Estado de Minas Gerais, distribuídos segundo as regiões administrativas, conforme classificação do IBGE (2005). Foram identificados 427 produtores de plantas ornamentais, flores de corte, vasos, palmeiras e mudas arbóreas em 129 municípios. No ano de 1999, conforme IBRAFLOR (2001) o número de produtores de plantas ornamentais no Estado de Minas Gerais era de 350. Assim, nota-se um aumento de 22% no número de produtores.

A região que apresentou maior porcentagem de produtores de plantas ornamentais foi a Zona da Mata, com 35,4%, perfazendo um total de 151 produtores. Na região Central estão 16,2% (69) dos produtores e na região Sul 14,5% (62) dos produtores. Nessas três regiões concentram-se 66,1% dos produtores do estado. O restante dos produtores, 33,9%, está distribuído nas outras regiões sendo: a região do Vale do Jequitinhonha/Mucuri com 35 produtores (8,2%), a região Centro-Oeste, 31 produtores (7,3%); na região Norte, 20 produtores (4,7%); na região Alto Paranaíba, 16 produtores (3,7%). Na região do Triângulo foram identificados 16 produtores (3,7%), na região do Vale do Rio Doce, 15 produtores (3,5%). A região Noroeste apresentou o menor número de produtores no estado, apenas 12, correspondendo a 2,8%.



**FIGURA 1.** Distribuição em porcentagem e número absoluto dos produtores de flores e plantas ornamentais segundo as regiões administrativas do Estado de Minas Gerais. Lavras: UFLA, 2003-2005.

## CONCLUSÃO

O estado de Minas Gerais apresenta aproximadamente 427 produtores, sendo que a região da Zona da Mata foi a que apresentou maior número de produtores seguida pelas regiões Central e Sul.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO MINEIRA DE FLORICULTURA - AMIFLOR. **Cadastro da floricultura mineira e capixaba**. Belo Horizonte, 1996. 153 p.

ANTUNES, M. G. **Floricultura em Pernambuco**. Recife: SEBRAE, 2002.

82 p. (Série Agronegócios).

BONGERS, F. J. A economia das flores. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 9, p. 1-4, set. 1995.

GAVIOLI, F. **Brasil Prospecta Aumentar Exportação de Flores e Plantas Ornamentais**. Disponível em: <<http://www.netmarinha.com.br>>. Acesso em: 28 jan. 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLO. Brasil: mostra tua flora. **Informativo ABRAFLO**, São Paulo, v. 7, n. 23, p. 4, mar. 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLO. **Levantamento Ibraflor 2001-02**: Banco de Dados. 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA - IBRAFLO. 1º Encontro brasileiro de dirigentes de mercado de flores e plantas ornamentais. Disponível em: <<http://ceasacampinas.com.br/ibra.htm>> Acesso em: 12 jul. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Dados populacionais municipais**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 27 out. 2005.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. de O. Produção e comercialização de flores em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 7-11, 2005.

SILVEIRA, R. B. de A. Floricultura no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas: SBFPO, 1993. . Disponível em: <http://www.uesb.br/flower/florbrasil.html#regiao>. Acesso em: 10 jan. 2006.

#### PALAVRAS-CHAVES

Produtores; plantas ornamentais; floricultura

## Atividade antioxidante de extratos de luteína proveniente de flores de *Tagetes patula* L. e *Calendula officinalis* L.

Nachtigall, Aline Manke<sup>1</sup>; Stringheta, Paulo César<sup>1</sup> e Stringheta, Ângela Cristina Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV) Departamento de Tecnologia de Alimentos. Av. PH Holfs, s/n, Campus Universitário, CEP: 36571-000 <sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa (UFV) Departamento de Fitotecnia. [angelaco@ufv.br](mailto:angelaco@ufv.br).

Flores de *Tagetes patula* cv. *French Marigold*, cultivares Yellow, Orange e Flame e de *Calendula officinalis* L. foram cultivadas no Setor de Floricultura e Plantas Ornamentais, do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, MG.

As plantas foram cultivadas a pleno sol e no plantio foram fertilizadas com 50 L.m<sup>-2</sup> de matéria orgânica, 50 g.m<sup>-2</sup> de nitrogênio na forma de sulfato de amônio, 150 g.m<sup>-2</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de superfosfato simples e 20 g.m<sup>-2</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio. Após a coleta das flores, nos meses de novembro de 2004 a fevereiro de 2005

O efeito do solvente extrator e da saponificação sobre a capacidade antioxidante dos extratos de luteína obtidos de flores de *Tagetes patula* L. (tagetes) e *Calendula officinalis* L. (calêndula) foi avaliado pelo teste do radical livre DPPH e pela inibição da oxidação do ácido linoléico em emulsão com β-caroteno. Os extratos foram obtidos mediante extração com os solventes: etanol, tetraidrofurano e hexano por 24 h ao abrigo da luz, sendo a extração com hexano realizada, também, a quente em aparato Soxhlet com 7 h de extração dinâmica, seguida de extração estática *over night* e 1 h de extração dinâmica. A saponificação foi efetuada simultânea a extração com KOH etanólico 10%. Os extratos que apresentaram menor valor de EC<sub>50</sub>, ou seja, maior capacidade de seqüestro do radical DPPH foram os de tagetes extraídos com etanol não saponificado (0,044 g.mmol DPPH<sup>-1</sup>) e o saponificado extraído com tetraidrofurano (0,068 g.mmol DPPH<sup>-1</sup>), bem como, os de calêndula extraídos com tetraidrofurano independente da saponificação (0,004 e 0,015 g.mmol DPPH<sup>-1</sup>). Já os que apresentaram as maiores porcentagem de inibição à oxidação lipídica foram os extratos de tagetes e calêndula não saponificados, com inibições de 72,22% e 72,97%, respectivamente. O tetraidrofurano foi o solvente que de uma forma geral apresentou extratos mais efetivos quanto à proteção da oxidação, sendo que a saponificação contribuiu para a redução desta capacidade. Além da luteína outros compostos contribuíram para a ação antioxidante das oleoresinas. As flores estudadas podem ser consideradas fontes promissoras de compostos biologicamente ativos com propriedades antioxidantes.

### PALAVRAS-CHAVES

Tagetes; calêndula; luteína; antioxidante.

## Área de produção de flores de corte no Estado de Minas Gerais

Landgraf, Paulo Roberto Correa<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, Alfenas, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br), <sup>2</sup>Professora do Departamento de Agricultura da UFLA, Fone (35) 3829-1786 email: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br).

### INTRODUÇÃO

O consumo de flores e plantas ornamentais em todo mundo vem aumentando ao longo dos anos. Nos tradicionais países consumidores e nas novas economias de países em desenvolvimento a demanda tem crescido significativamente. A produção e o consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil vêm acompanhando a tendência de crescimento da expansão do mercado mundial e crescendo a cada ano. Avalia-se que a floricultura brasileira movimente, no mercado interno, um valor global em torno de 750 milhões de dólares ao ano. Embora não seja um exportador tradicional de flores e plantas ornamentais a profissionalização do segmento exportador no Brasil vem se intensificando nos últimos anos e, atualmente, o país já se projeta no cenário internacional como importante referencial de qualidade e competitividade (JUNQUEIRA e PEETZ, 2002).

As condições de produção do Brasil, dotado de diversidade de solo e clima, permitem o cultivo de grande número de espécies de comprovada qualidade e beleza. Os produtos nacionais como flores tropicais, bromélias, orquídeas, entre outros, têm estimulado novos mercados, sendo competitivos no mercado mundial.

A atividade da produção de flores possibilita, segundo Bongers (1995), múltiplas formas de exploração e diversidade de cultivo que podem ser: produção de flores de corte, produção de flores e plantas envasadas, produção de folhagens, plantas de interior e viveiros de produção de mudas (jardins). O setor é responsável pela geração de aproximadamente 50 mil empregos, dos quais, 22,5 mil (45%) estão localizados na produção, cerca de 3,5 mil (6%) na distribuição, 22,5 mil (45%) no comércio e 2,0 mil (4%) em atividades de apoio (IBRAFLOR, 2002). A produção brasileira de flores e plantas ornamentais, inicialmente concentrada no estado de São Paulo, tem expandido para todo o país, com cultivos nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Bahia, Alagoas, Pernambuco, Ceará e, também, na região norte do país (IBRAFLOR, 2002).

As rosas são as principais flores de corte cultivadas no Brasil, concentrando 426 hectare, seguidas por crisântemo com 234,5 hectare, helicônias com 1001,8 hectare, gérbera, gipsofila, estrelícias, tango, gladiólos e alpinias, entre outras 70 espécies (Junqueira e Peetz, 2002).

A floricultura de corte mineira tem nas rosas a sua exploração principal, sendo em menor escala o crisântemo, o cravo, o áster, o gladiolo e produtos de floricultura silvestre.

Existe necessidade de se obter informações no que tange à produção de plantas de corte no estado de Minas Gerais, pois o potencial de crescimento desse segmento de produção é bastante desconhecido e, aparentemente concentradas em alguns pólos de produção do estado.

O presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento da área de produção de plantas de corte no estado de Minas Gerais.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Estado de Minas Gerais, constituído de 853 municípios e uma população de 17,5 milhões de habitantes, a segunda maior do Brasil, conforme dados do IBGE (2005).

O estado de Minas Gerais está dividido em 10 macrorregiões de planejamento administrativo (Alto do Paranaíba, Central, Centro-oeste, Jequitinhonha, Noroeste, Norte,, Sul, Triângulo,Vale do rio Doce e Zona da Mata), que se caracterizam por aspectos econômicos e sociais distintos, ocupando áreas territoriais com dimensões e recursos diversificados (IBGE, 2005).

A produção de plantas de corte foi diagnosticada por meio de um questionário, aplicado a todos os produtores das regiões do estado de Minas Gerais, no período de 2003 a 2005. As visitas foram feitas *in loco* nos 853 municípios. As análises foram realizadas levando-se em consideração as respostas contidas nos questionários.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise dos questionários foi possível obter várias informações sobre a produção de plantas de corte no estado de Minas Gerais. Na região Central, onde está localizada a cidade de Barbacena, encontra-se o maior número de produtores de rosas (26), o que corresponde a 50% dos produtores do estado, seguido da região Sul onde estão 30,8% dos produtores (15). A área de produção de rosas no estado de Minas Gerais é de 151,571 ha.

A segunda espécie mais produzida no Brasil é o crisântemo e no estado de Minas é produzido principalmente nas regiões Sul e Central. As sempre-vivas, importante espécie que compõe a listagem de exportação brasileira (NERI, PAIVA e BORÉM, 2005) é produzida exclusivamente na região Central, especificamente na cidade de Diamantina, onde se encontram 07 produtores. Isto é consequência de sua origem: estas espécies são endêmicas desta região. O Triângulo também apresenta pequena produção de flores cortadas. Nessa região é cultivado 33% da produção mineira de lisiantos, havendo ainda o cultivo de lírio. Algumas regiões apresentam pequena produção de flores cortadas como Vale do Rio Doce e Noroeste que possuem exclusivamente a produção de lírio para corte.

As plantas tropicais são produzidas em maior escala pela Zona da Mata. No município de Rio Casca destaca-se um produtor que, numa área de 8 hectares produz com qualidade helicônias, alpinias, estrelícia e zingiber. A produção toda é vendida para Belo Horizonte. Na região Central, a cidade de Sete Lagoas apresenta produção de plantas tropicais, como helicônias, estrelícia e sorvetão. A região Norte devido ao clima apresenta bom potencial para a produção de plantas cortadas como, por exemplo: rosa, crisântemo, helicônia, copo de leite, antúrio, gipsofila, lírio, margarida, boca de leão, áster e sorvetão. A floricultura tropical é uma atividade que está em ascensão no Brasil e no mundo por destacar-se como um agronegócio gerador de renda, fixador de mão-de-obra no campo é adequado como cultura alternativa para pequenos produtores (LINS e COELHO, 2004).

## CONCLUSÃO

A área de produção de plantas de corte é de 290,6836 ha. As plantas de corte mais produzidas no estado de Minas Gerais são: rosa (151,57 ha), sempre-vivas (57,26 ha), copo de leite (16,02 ha), cravo (12,63 ha), helicônias (11,76 ha) e crisântemo (9,47 ha). A produção no estado é uma atividade realizada por pequenos produtores com grande variedade de espécies.

O estado apresenta vantagens para ampliar a produção de flores, como por exemplo: localização estratégica, clima favorável, disponibilidade de terra, mão-de-obra e tecnologias agronômicas disponíveis, fatores importantes na produção com

qualidade. A área ocupada atualmente ainda é pequena, mas com possibilidades de expansão.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONGERS, F. J. A economia das flores. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 9, p. 1-4, set. 1995.

IBRAFLOR.- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Levantamento Ibraflor 2001-02**: Banco de Dados. 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Dados populacionais municipais**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 27 out. 2005.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETS, M.S. Os pólos de produção de flores e plantas ornamentais do Brasil: uma análise do potencial exportador. **Revista Brasileira de Horticultura ornamental**, Campinas, v.18, n.1/2, p.25-47, 2002.

LINS, S.R.O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.29, n.3, Maio/Jun. 2004.

NERI, F.C.S; PAIVA, P.D. de O.; BORÉM, R.A.T. Produção e comercialização de sempre-vivas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.227, p.56-61, 2005.

#### PALAVRAS-CHAVES

Área de produção; flores de corte; floricultura.



## **Utilização da Praça Dr. Augusto Silva, Lavras - MG, segundo seus freqüentadores.**

Alessandra Teixeira da Silva<sup>1</sup>; Thaísa Silva Tavares<sup>2</sup>; Patrícia Duarte de Oliveira Paiva<sup>3</sup>; Denismar Alves Nogueira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Professora Substituta da Universidade Federal de Lavras, UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, Lavras Minas Gerais, fone(35) 3829-1781, [alepaisagismo@gmail.com](mailto:alepaisagismo@gmail.com); <sup>2</sup>Eng.<sup>o</sup> Agrônoma, pela UFLA, [thaisastavares@yahoo.com.br](mailto:thaisastavares@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professora Associada de Floricultura e Paisagismo, bolsista CNPq, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP- 37 200 000. Tel : 3829 1786. E-mail : [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br) <sup>4</sup>Professor UNIFENAS – CEP 37.130-000 Alfenas-MG, [denisnog@yahoo.com.br](mailto:denisnog@yahoo.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

Esta praça também já foi chamada de largo da Matriz, Praça Central e Jardim Municipal, que foi inaugurado oficialmente em 29 de novembro de 1908, quando passou a ter o nome de um ilustre médico lavrense. O jardim foi idealizado pelo administrador de obras municipais, o português Sr. Bernardino Maceira. A praça possui uma área de 7.552,65 m<sup>2</sup> com pisos de pedras portuguesas bastante utilizados em praças brasileiras.

Atualmente, as praças ou áreas verdes, têm fundamental importância em uma cidade, sendo utilizadas por pessoas de todas as idades e classes sociais, com a função de promover uma qualidade de vida melhor para a população, fornecendo aos seus usuários recreação, lazer e uma vida mais saudável.

As praças apresentam grande importância numa comunidade, sendo, fundamental um planejamento urbano adequado e tecnicamente bem executado, seguido de uma manutenção rigorosa, que levem à preservação e satisfação de seus usuários (Carvalho, 2001).

Estes espaços públicos são unidades urbanísticas fundamentais para a vida urbana e o seu modo de tratamento e uso indicam o nível de civilidade de seus usuários e o exercício dos direitos e deveres de cidadania nela vivenciados. É pelo uso que as pessoas fazem de uma praça um espaço importante para o seu dia-a-dia e convívio social (Sousa, 2005).

Do romantismo à praticidade, conceitos e funções sobre as praças existem os mais diversos; porém, todos têm um ponto em comum: é o local de reuniões e encontros. As praças são locais onde se reúnem para fins comerciais, políticos, sociais ou religiosos ou ainda, onde se desenvolvem atividades de entretenimento (Angelis Neto, 2003).

Neste contexto, a praça Dr. Augusto Silva, muito tradicional e de grande valor histórico está presente no dia-a-dia dos habitantes da cidade de Lavras - MG, destacando-se como um ponto de convergência para seus usuários e freqüentadores. Objetivando analisar seus freqüentadores, realizou-se uma pesquisa de opinião na qual foram avaliados os períodos de freqüência diária na praça, faixa etária bem como o nível de escolaridade de seus usuários. Com isto buscou-se analisar a importância deste espaço público junto à população dos diferentes bairros da cidade.

### **METODOLOGIA**

Foi realizada uma pesquisa junto aos usuários da praça, onde se avaliou seus freqüentadores a faixa-etária, período do dia em que utilizam e freqüentam a praça bem como o nível de escolaridade dos usuários. A pesquisa de opinião foi aplicada a aproximadamente 600 usuários, na própria praça, em dias da semana e horários diferentes, por meio de um questionário com perguntas diretas ao próprio entrevistado. Os dados coletados foram analisados estatisticamente utilizando o Software SPSS, de onde foram obtidas as freqüências percentuais.

Os itens qualitativos avaliados na pesquisa foram previamente estipulados em uma ficha de campo (formulário), com as seguintes características:

a) identificação do usuário: nesse item foi identificada a profissão do usuário, bem como sua faixa etária, nível de escolaridade;

b) utilização da praça: relatou-se a frequência com que este usuário utiliza a praça, assim como os períodos do dia em que costuma frequentá-la;

Para um estudo com proporções, o tamanho da amostra pode ser definido pela equação (1.1). A equação depende da margem de erro da pesquisa e do nível de confiança de 95%, considerando uma distribuição normal. Não se sabe, a priori, sobre o comportamento da proporção de indivíduos que possuem a característica de interesse e dos indivíduos que não possuem a característica de interesse. Dessa forma, adota-se o valor para a consideração da maior incerteza, sendo  $p = q = 0,5$  (FERREIRA, 2005).

$$erro = Z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}} \quad n \cong \frac{1}{erro^2} \quad (1.1)$$

Adotando-se uma margem de erro de 4,1%, o tamanho da amostra foi definido em, aproximadamente 600 entrevistas. Determinado o tamanho da amostra, realizou-se um processo de amostragem aleatória simples.

$$Z = \frac{(p_i - p_{i'})}{\sqrt{\left(\frac{p_i(1-p_i)}{n_i}\right) + \left(\frac{p_{i'}(1-p_{i'})}{n_{i'}}\right)}} \sim N(0,1) \quad (1.2)$$

sendo  $p_i$  e  $p_{i'}$  proporções de classes diferentes e  $n$  o tamanho amostral.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se a Tabela 1, observa-se que, por se tratar de uma praça central, a população a tem como referência. A maioria dos usuários entrevistados (35,5%) frequenta este espaço público somente uma vez por semana, talvez por questões de necessidades pessoais ou, simplesmente, por lazer.

Tabela 1. Frequência semanal de utilização da praça Dr. Augusto Silva, Lavras, MG, 2006.

Frequência de utilização da praça	Porcentagem* dos usuários
Somente 1 vez por semana	35,5 a
2 vezes por semana	25,2 b
3 vezes por semana	14,2 c
Todos os dias	24,8 b

\*Pelo Teste Z para proporções, a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de letras iguais são estatisticamente iguais.

Com relação ao nível de escolaridade, 45,8% dos usuários entrevistados possuem o ensino fundamental e 33% o ensino médio (Tabela 2).

Tabela 2. Nível de escolaridade dos usuários da praça Dr. Augusto Silva, Lavras, MG, 2006.

Nível escolar	Porcentagem *
Fundamental	45,8 a
Médio	33,0 b
Superior	21,0 c
Total	100,0

\*Pelo Teste Z para proporções, a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de letras iguais são estatisticamente iguais.

A Tabela 3 mostra a utilização da praça segundo a faixa etária dos seus usuários. Jovens entre 15-20 anos e pessoas acima de 60 anos apresentaram percentagens próximas, 27,0% e 25,5%, embora tenham sido detectadas diferenças estatísticas..

Tabela 3. Frequência de usuários à praça Dr. Augusto Silva, segundo a faixa etária, Lavras, MG, 2006.

Faixa etária	Porcentagem*
15 a 20	27,0 a
20 a 30	15,7 d
30 a 40	13,8 e
40 a 50	18,0 c
Acima de 60 anos	25,5 b
Total	100

\*Pelo Teste Z para proporções, a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de letras iguais são estatisticamente iguais.

Observa-se que adultos jovens, nas faixas etárias entre 30-40 e 20-30 anos, são os que menos frequentam a praça, correspondendo a apenas 13,8% e 15,7%, respectivamente.

Em relação ao período de utilização, a menor frequência foi observada no período da manhã (13,8%), conforme dados da Tabela 4. Apesar de ser uma percentagem inferior em relação às demais, algumas pessoas utilizam o passeio de contorno da praça para realização de caminhadas nesse período.

Tabela 4. Horários de maior frequência à praça Dr. Augusto Silva, Lavras, MG, 2006.

Horários de frequência	Porcentagem*
Tarde	25,5 b
Manhã	13,8 d
Manhã e tarde	20,5 c
Noite	40,2 a
Total	100

\*Pelo Teste Z para proporções, a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de letras iguais são estatisticamente iguais.

A interação das variáveis períodos de frequência à praça e faixa etária, diversão e faixa etária foram estudadas para verificar a existência de dependência. Foi utilizado o teste de  $\chi^2$ , a 5% de significância. Todas as relações apresentaram significância e, com isso, pode-se afirmar que existe relação entre as variáveis. Por esta razão, foram feitos os desdobramentos utilizando-se o teste Z para proporções, a 5% de significância.

Para o estudo das variáveis períodos de frequência e faixa etária foi realizado o desdobramento, em que foram estudadas as diferenças entre as faixas etárias dentro de cada período. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Relação entre as variáveis período de frequência à praça x faixa etária dos usuários, Lavras, MG, 2006.

Períodos	Faixa etária					Total (%)
	15-20	20-30	30-40	40-50	Acima 60	Total
Manhã	24,5bB	12,4dB	9,5eB	21,2cA	32,4aA	100
Tarde	23,0bB	28,1aA	20,3cA	20,3cA	8,5dC	100
Manhã e Tarde	25,3bB	9,6eB	19,3cA	12,0dB	33,7aA	100
Noturno	38,2aA	10,6dB	10,6dB	13,0cB	27,6bB	100

\*Pelo Teste Z para proporções, comparando linha, a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas são estatisticamente iguais.

De acordo com os dados da Tabela 5, pode-se observar que o período de maior frequência, por jovens entre 15 e 20 anos (38,2%), é o noturno. Observa-se também que pessoas mais idosas (acima de 60 anos) utilizam à praça tanto na parte da manhã quanto na manhã e tarde (33,7%), mas são poucos (8,5%) que a utilizam apenas na parte da tarde.

Quando se analisa o período da tarde, pode-se concluir-se que a faixa etária que mais frequenta a praça está compreendida entre 20-30 anos, o que corresponde a 28,1% dos usuários. Acredita-se que as pessoas dessas faixas etárias entre 20-30 e 30-40, frequentam a praça principalmente por motivos de trabalho, tornando assim, a praça, um local de passagem.

Em virtude da extensa área verde situada no centro da cidade e pela sua considerável beleza, a praça poderia ser mais utilizada e explorada em determinados períodos, pois alguns usuários entrevistados frequentam o local somente uma vez por semana ou esporadicamente.

## CONCLUSÕES

Analisando a opinião dos usuários da praça, pode-se concluir que:

- A Praça Dr. Augusto Silva é frequentada principalmente por jovens de 15-20 anos e adultos acima de 60 anos.
- No contexto geral, a praça é um local muito frequentado pela população, em virtude de possuir uma extensa e agradável área verde com uma beleza extraordinária, pois é considerada uma das mais belas praças públicas de cidades do interior.
- Os frequentadores diários bem como os que frequentam este local duas vezes ou até uma vez por semana têm esta praça como um marco, pois o local faz parte do cotidiano de grande parte da população.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIS NETO, G. de. Paisagismo urbano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS E PLANTAS, 1., 2003, Lavras. **Palestras...** Lavras, MG UFLA/FAEPE, 2003. P. 50-57.

CARVALHO, L.M. de **Áreas verdes da cidade de Lavras/MG: caracterização, usos e necessidades.** 2001. 115 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, D. F. **Estatística básica.** Lavras - MG. Editora UFLA, 2005. p.664.

SOUSA, B. A. de A. **Análise da utilização pelos usuários de duas praças em Betim-MG.** 2005. 53p. (Monografia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PALAVRAS - CHAVES: Praças Públicas; Urbanismo; Paisagismo

## Efeito de vários tipos de antioxidantes sobre a oxidação polifenólica de tecidos de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) cultivados *in vitro*.

ALOUFA, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>1</sup>; CÂMARA, Marianne de Mélo Arruda<sup>2</sup>; SOUSA, Emerson de Medeiros<sup>3</sup>; SILVA, Kleptura de Oliveira e<sup>4</sup>; LIMA, Simone Cassiano de<sup>5</sup>; CAVALCANTI, Lony Lacerda<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)- Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Campus Universitário Lagoa Nova, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Natal, Rio Grande do Norte, fone: (84) 3211-9205, email: [magdi-aloufa@bol.com.br](mailto:magdi-aloufa@bol.com.br); <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente (UFRN), email: [mariannebio@hotmail.com](mailto:mariannebio@hotmail.com); <sup>3</sup>Aluno de iniciação científica (UFRN), email: [emerson\\_bioufrn@yahoo.com.br](mailto:emerson_bioufrn@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestre, pesquisadora da UFRN, email: [kletinha@hotmail.com](mailto:kletinha@hotmail.com); <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (UFRN), email: [biodarwin@yahoo.com.br](mailto:biodarwin@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Aluno de graduação (UFRN), e-mail: [lonynat@yahoo.com.br](mailto:lonynat@yahoo.com.br).

A cultura *in vitro* de tecidos de algodão apresenta limitações, sendo a oxidação polifenólica a principal delas. Uma das maneiras de contornar esse problema é a adição de substâncias antioxidantes ao meio de cultura. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes antioxidantes no processo de indução de calos em algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.). Sementes da variedade CNPA-8H foram esterilizadas em álcool a 70% (por cinco minutos), hipoclorito de sódio a 2% (por vinte minutos) e água destilada, e depositadas em meio de cultura MS diluído a 50%, para a germinação. Após sete dias da germinação, segmentos de hipocótilo medindo 01 cm de comprimento foram retirados das plântulas germinadas *in vitro* e inoculados em meio MS suplementado com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,1 g.L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 8g.L<sup>-1</sup> de solidificante ágar e os reguladores de crescimento KIN e NAA, cada um usado na concentração de 1,5 mg.L<sup>-1</sup>; cada unidade experimental recebeu um segmento. Para cada meio básico acima mencionado foi adicionada uma substância antioxidante em uma determinada concentração. Os antioxidantes adicionados ao meio foram ácido ascórbico (T0= 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1= 50 mg.L<sup>-1</sup>; T2= 100 mg.L<sup>-1</sup>; T3= 150 mg.L<sup>-1</sup>); ácido cítrico (T0= 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1= 50 mg.L<sup>-1</sup>; T2= 100 mg.L<sup>-1</sup>; T3= 150 mg.L<sup>-1</sup>); carvão ativo (T0= 0 g.L<sup>-1</sup>; T1= 2 g.L<sup>-1</sup>; T2= 5 g.L<sup>-1</sup>; T3= 10g.L<sup>-1</sup>) e cisteína (T0= 0 mg.L<sup>-1</sup>; T1= 50 mg.L<sup>-1</sup>; T2= 100 mg.L<sup>-1</sup>; T3= 150 mg.L<sup>-1</sup>). Foram utilizadas dez unidades experimentais com 03 repetições para cada tratamento. Os resultados demonstram que as taxas de oxidação nos tratamentos T1, T2 e T3 foram, respectivamente, 21,57%, 2,8% e 8,23%. Conclui-se que o carvão ativo foi a melhor substância antioxidante.

### PALAVRAS-CHAVES

Oxidação polifenólica; substâncias antioxidantes; hipocótilo; carvão ativo.

## Aspectos paisagísticos e de utilização da Praça Dr. Augusto Silva, Lavras – MG, segundo a opinião de seus usuários e freqüentadores.

Alessandra Teixeira da Silva<sup>1</sup>; Thaísa Silva Tavares<sup>2</sup>; Patrícia Duarte de Oliveira Paiva<sup>3</sup>; Denismar Alves Nogueira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Professora Substituta da Universidade Federal de Lavras, UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, Lavras Minas Gerais, fone(35) 3829-1781, [alepaisagismo@gmail.com](mailto:alepaisagismo@gmail.com); <sup>2</sup>Eng.º Agrônoma, [thaisastavares@yahoo.com.br](mailto:thaisastavares@yahoo.com.br); fone (35) 3822-4599; <sup>3</sup>Professora Associada de Floricultura e Paisagismo, bolsista CNPq, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP- 37 200 000. Tel: 3829 1786. E-mail : [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br) <sup>4</sup>Professor da UNIFENAS, CEP 37.130-000-Alfenas, MG, [denisnog@yahoo.com.br](mailto:denisnog@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

As praças públicas, no contexto urbanístico ambiental, apresentam relevante papel na melhoria da qualidade de vida da população, sendo bens de uso comum que contribuem para o embelezamento das cidades (Silva, 2003).

Ao construir e expandir as cidades, novas áreas habitacionais surgem e a grande maioria das edificações atuais persiste na utilização de uma arquitetura e uma engenharia voltada ao aproveitamento máximo das áreas úteis. Assim, os espaços reservados para os projetos de paisagismo, na sua maioria, são restritos, exigindo que o profissional detenha o indispensável conhecimento técnico que lhe permita conhecer as necessidades vitais de cada espécie e um senso artístico apurado para alcançar o esperado êxito paisagístico (Robba & Macedo, 2003).

A Praça Dr. Augusto Silva, situada no município de Lavras-MG, possui rica vegetação, na qual se destaca uma espécie centenária de tipuana (*Tipuana tipu*), um magnífico exemplar de cedro-do-Líbano (*Cedrus* sp) e palmeiras imperiais (*Roystonea oleracea*). Há ainda, cerca de 42 exemplares de ipês de cores diversas o que corresponde a 38% do total dos exemplares arbóreos. Com relação às espécies arbustivas e forrações relata-se aproximadamente 20 espécies distintas sendo a maioria exótica.

No paisagismo, deve haver uma harmonia com as características plásticas da vegetação, permitindo assim um equilíbrio dos elementos de um ambiente que irá determinar a qualidade do projeto paisagístico. As plantas ornamentais podem se dividir em função do aspecto morfológico, hábito de crescimento ou mesmo pelo uso mais freqüente.

Objetivando-se obter informações sobre uma das mais belas praças públicas do sul de Minas Gerais, caracterizada por apresentar uma considerável beleza, pesquisou-se junto aos seus freqüentadores alguns aspectos paisagísticos da praça, onde se realizou uma avaliação, mediante análise quantitativa e pesquisa junto à população.

### METODOLOGIA

A cidade de Lavras, MG, está situada na região Sul de Minas Gerais, segundo coordenadas geográficas de 21º 14' 30" de latitude Sul, e de 45º0'10" de longitude Oeste.

No início o logradouro era denominado Jardim Municipal, nome que permaneceu até a inauguração oficial, em 29 de novembro de 1908, na administração do senhor agente executivo (denominação da época para o cargo de prefeito), Coronel Pedro Salles, passando então a ter a denominação de Praça Dr. Augusto Silva em homenagem ao ilustre médico lavrense, falecido em 1905.

Visando o embelezamento do Jardim Municipal, o idealizador do jardim, o português Sr. Bernardino Maceira, elaborou um projeto propondo calçadas cimentadas e extensas áreas ajardinadas. Era um amante da natureza, um ecologista e costumava comprar sementes exóticas da Alemanha e de outros países e também cultivava flores raras em sua residência.

Atualmente a praça possui uma área de 7.552,65 m<sup>2</sup> com pisos de pedras portuguesas bastante utilizados em praças brasileiras.

Foi realizada uma pesquisa junto aos usuários da praça, onde os aspectos referentes ao paisagismo foram avaliados, para se determinar quais as necessidades e opinião da população em relação à praça. A pesquisa de opinião foi aplicada a aproximadamente 600 usuários, na própria praça, em dias da semana e horários diferentes, por meio de um questionário com perguntas diretas ao próprio entrevistado. Os dados coletados foram analisados estatisticamente utilizando o Software SPSS, de onde foram obtidas as frequências percentuais.

Os itens qualitativos foram previamente estipulados em uma ficha de campo (formulário), com as seguintes características:

a) identificação do usuário: nesse item foi identificada a profissão do usuário, bem como sua faixa etária, nível de escolaridade;

b) aspectos gerais sobre a praça: questionou-se sobre beleza da praça em geral, espécies arbóreas e arbustivas e também avaliou a presença ou ausência dos canteiros de flores. Neste caso, o usuário avaliou estes itens tendo como parâmetro os conceitos: péssimo, ruim, regular, bom e ótimo;

c) aspectos específicos da vegetação: foram avaliados os diferentes grupos de plantas ornamentais, tais como: árvores, arbustos, palmeiras e canteiros floríferos. Assim como no item anterior, também foram utilizados os conceitos: péssimo, ruim, regular, bom e ótimo.

Para um estudo com proporções, o tamanho da amostra pode ser definido pela equação (1.1). A equação depende da margem de erro da pesquisa e do nível de confiança de 95%, considerando uma distribuição normal. Dessa forma, adota-se o valor para a consideração da maior incerteza, sendo  $p = q = 0,5$  (Ferreira, 2005).

$$erro = Z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}} \quad n \cong \frac{1}{erro^2} \quad (1.1)$$

Adotando-se uma margem de erro de 4,1%, o tamanho da amostra foi definido em, aproximadamente 600 entrevistas. Determinado o tamanho da amostra, realizou-se um processo de amostragem aleatória simples.

$$Z = \frac{(p_i - p_{i'})}{\sqrt{\left(\frac{p_i(1-p_i)}{n_i}\right) + \left(\frac{p_{i'}(1-p_{i'})}{n_{i'}}\right)}} \sim N(0,1) \quad (1.2)$$

sendo  $p_i$  e  $p_{i'}$  proporções de classes diferentes e  $n$  o tamanho amostral.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio do questionário, os entrevistados puderam avaliar estes espaços em relação a sua beleza e à presença de árvores, arbustos, palmeiras e canteiros floríferos. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização de alguns aspectos das praças Dr. Augusto Silva, segundo a opinião de seus usuários. Lavras, MG, 2006.

Opinião dos usuários	Itens avaliados*				
	Beleza	Árvores	Arbustos	Palmeiras	Canteiros floríferos
Péssimo	0,0	0,3 d	0,5 d	1,3 e	34,2 a
Ruim	0,5 c	5,2 c	8,8 c	8,3 d	24,3 b
Regular	8,0 b	26,7 b	22,2 b	29,8 b	19,0 b c
Bom	48,8 a	43,0 a	58,0 a	42,0 a	15,8 c

Ótimo	42,7 a	24,8 b	10,5c	18,2 c	4,8 d
Total	100,0	100,0	100,0	99,7	98,2

\*Pelo Teste Z, para proporções a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de letras iguais nas colunas são estatisticamente iguais.

Segundo a opinião dos usuários, em relação à beleza, a maioria, 91,5%, considera a praça como bela, avaliando-as nas categorias bom e ótimo, confirmando a idéia de serem consideradas monumento da cidade. As árvores e arbustos existentes na praça também agradam à maioria dos entrevistados, pois receberam 43% e 59%, respectivamente, de conceito bom. Em relação à presença de canteiros floríferos, apenas 4,8% atribuíram um conceito ótimo e 15,8% como bom. A maioria, 34,2%, considera esse item como péssimo.

Do ponto de vista paisagístico, relata-se que a praça necessita de intervenções, em se tratando do manejo de algumas espécies arbóreas. Em se tratando das espécies arbustivas e forrações, estas necessitam de grandes intervenções de manejo e substituições para se adequarem ao estilo original clássico, preservando assim a sua concepção original.

Com relação à infra-estrutura da praça, a avaliação de seus usuários revelou que os itens avaliados (lixeiras, atividades para crianças, atividades culturais, coreto ou palco e outros) foram enquadrados em itens satisfatórios ou deficitários para as praças. Com relação à realização de atividades para crianças, a opinião dos entrevistados foi dividida, ou seja, estatisticamente, as opiniões foram iguais, resultando em 43,7% para satisfatório e 56,3% para deficitário. Esse resultado talvez esteja associado às diferentes necessidades de cada usuário em relação a este item, os resultados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Infra-estrutura da praça Dr. Augusto Silva, segundo a opinião de seus usuários, Lavras, MG, 2006.

Opinião dos usuários	Itens avaliados*				
	Lixeira	Atividades para crianças	Atividades culturais	Coreto (palco)	Outros
Satisfatório	52,7 a	43,7 a	51,7 a	39,8 b	39,2 b
Deficitário	47,2 b	56,3 a	48,0 b	60,2 a	60,8 a
Total (%)	100	100	100	100	100

\*Pelo Teste Z para proporções, a 5% de significância, pode-se afirmar que as médias seguidas de letras iguais nas colunas são estatisticamente iguais.

Observa-se que 52,7% dos usuários considera como satisfatórios o número de lixeiras ou a realização de atividades culturais (51,70%).

Perguntou-se também a opinião dos entrevistados sobre estruturas que a praça não apresentava. De acordo com os resultados, 60,8% deles se mostraram insatisfeitos, sendo necessárias outras estruturas. Entre os elementos solicitados a 39,2% dos entrevistados, têm-se a instalação de um ponto de informações (64%), seguido de bebedouro (22%) e ainda, de um banheiro público, solicitado, principalmente, pelos mais idosos e residentes em bairros mais afastados da praça.



## CONCLUSÕES

Em âmbito global, a praça representa para a população um local identificado por rara beleza o que foi concluído pela maioria dos usuários, 91,5%, que a considera com significativos aspectos paisagísticos, ou seja, os usuários confirmam a idéia da praça ser um monumento da cidade. Parte dos usuários entrevistados sobre os aspectos paisagísticos da praça revela que alguns grupos de plantas como arbustos, forrações necessitam de um determinado manejo para que possam se destacar, assim sendo se enquadram com um conceito bom.

A praça não apresenta canteiros floríferos, não agradando assim a grande maioria dos entrevistados. Com relação às atividades culturais, bem como as atividades para as crianças pode-se concluir que os entrevistados apresentam opiniões divididas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. **Estatística básica**. Lavras - MG. Editora UFLA, 2005. p.664.

ROBBA, F.; MACEDO, S.S. **Praças brasileiras**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002. 311p.

SILVA, M. J. **Ações Estratégicas para o turismo no município de Lavras- MG**, 2003. 167p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, UFLA.

## PALAVRAS-CHAVES

Praças Públicas; ;Praças Públicas;Urbanismo; Paisagismo

## O paisagismo como uma atividade transdisciplinar fomentando a educação ambiental.

Ottmann, Michelle Melissa Althaus<sup>1</sup>; Ferriani, Aurea Portes<sup>2</sup>; Borsatto, Ricardo<sup>2</sup>; Cidade Junior, Homero<sup>3</sup>; Oliver, Claudio Ferraz<sup>4</sup>; Feniman, Eduardo<sup>5</sup>.

1Engenheira Florestal, Mestre em Agronomia, Av. Benjamin Lins 750, CEP 80420-100, Curitiba, Paraná, email: michellealthaus@hotmail.com; 2 Doutorando(a) em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 81531-990, Curitiba, Paraná, email: rsborsat@ig.com.br, apferriani@ig.com.br; 3 Mestrando em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 80035-05 Curitiba, Paraná, email: campocidade@pop.com.br; 4 Mestrando em Educação, PUCPR, Curitiba, Paraná, email: claudio@docaminho.com.br; 5 Aluno do curso de Pedagogia, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, Paraná, email:eduardo@docaminho.com.br.

A maior parte da humanidade vive atualmente nos centros urbanos, funcionando como verdadeiros “parasitas” do planeta, devido ao estilo e proporção do consumo e à conseqüente geração de lixo, resíduos sanitários e industriais, produzidos e despejados diariamente nos rios e em outras áreas. Além da formação de ilhas de calor, subproduto da verticalização arquitetônica, utilização de materiais impermeáveis e a transformação dos antigos jardins, quintais e praças em áreas maciças concretadas. Este cenário tende a se agravar em áreas de risco social, fomentando ainda mais a baixa qualidade de vida dos moradores dessas regiões. Desta forma, o escopo desse trabalho que constitui um recorte metodológico do projeto intitulado “Comunidades verdejantes” é mostrar o programa que vem sendo desenvolvido desde agosto de 2006 até o presente na área de Paisagismo, Horticultura e Agricultura Urbana com as crianças freqüentadoras da ONG Casa da Videira, localizada no bairro Vila Fanny, na cidade de Curitiba, Paraná. Esse bairro da periferia de Curitiba, não dispõe de equipamentos públicos como: praças, parques, biblioteca, posto de saúde, etc. Desta forma, os moradores do bairro, notadamente as crianças e adolescentes, não possuem atividades e espaços para bem aproveitarem o seu tempo livre, aumentando a situação de risco a que estão submetidas. Sem opções, muitas vezes as atividades ilícitas acabam por tragá-los. O projeto se propõe a resgatar e/ou trabalhar o meio urbano promovendo a educação ambiental de crianças, melhoria da paisagem na comunidade e a qualidade de vida de seus moradores. Vários temas são trabalhados com as crianças para tratar de paisagismo, horticultura urbana e agricultura urbana: valorização do paisagismo como um fomentador para a conservação da natureza no meio urbano, arborização de ruas, utilização de espécies vegetais ornamentais, medicinais, aromáticas e comestíveis, jardinagem ecológica dando prioridade para espécies nativas. Outros temas como: nutrição, saúde, conservação de recursos hídricos, geometria, estética, reciclagem de resíduos, aproveitamento de água da chuva, racionalização de uso dos recursos, são discutidos e ampliados por meio de várias formas de arte, como música, teatro e poesia. Os trabalhos ocorrem em encontros semanais, nos quais os monitores abordam os temas de forma transdisciplinar. Como resultados preliminares se pode observar o maior interesse por parte das crianças participantes do projeto nos temas ambientais, as quais propõem alternativas para os problemas atuais e mudanças de atitudes em suas famílias. Qualitativamente, nota-se a melhoria do aspecto visual no local trabalhado, organização do jardim, além da coesão manifestada pelo trabalho em equipe.

**Palavras-chave:** horticultura urbana, crianças e adolescentes, periferia, conservação da natureza.

## Uma experiência transdisciplinar no ensino de Paisagismo.

Ottmann, Michelle Melissa Althaus<sup>1</sup>; Ferriani, Aurea<sup>2</sup>; Borsatto, Ricardo<sup>2</sup>; Moraes, Carmem de<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Engenheira Florestal, Mestre em Agronomia, Av. Benjamin Lins 750, CEP 80420-100, Curitiba, Paraná, email: michellealthaus@hotmail.com; <sup>2</sup> Doutorando (a) Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Caixa Postal 19061, CEP 80035-05 Curitiba, Paraná, email: [rsborsat@ig.com.br](mailto:rsborsat@ig.com.br), [apferriani@ig.com.br](mailto:apferriani@ig.com.br); <sup>3</sup> Comunicadora Visual, Especialista em Paisagismo, Curitiba, Paraná, email: [carmendemoraes@hotmail.com](mailto:carmendemoraes@hotmail.com)

### INTRODUÇÃO

O paisagismo, embora muitos não o percebam, sempre exerceu uma valiosa função social, pois observa-se sua evolução ao longo da história da humanidade, de forma sincronizada com as mudanças ocorridas em diversos âmbitos da vida humana. Mas no momento histórico em que começam a surgir as primeiras comunidades capitalistas (Renascimento), onde eclode um novo paradigma para se abordar o universo (cartesianismo) e se consolida a especialização do trabalho (revolução industrial), o trabalho do paisagista que, no passado, beneficiava a toda uma sociedade, ficou restrito a uma pequena elite, que o utilizava como símbolo de status e também como ponto de encontro de dirigentes de reinados, para realizarem pactos e alianças econômicas. E é nesse contexto, que surge o arquiteto paisagista, o qual, principalmente na França tem por meta “domar a natureza indomável”.

E devido ao rumo tomado por essa atividade e também pela ciência, ou seja o rumo do paradigma cartesiano, no cenário atual o paisagismo encontra grandes dificuldades em se firmar como uma reconhecida área do conhecimento, devido em grande parte, a manutenção deste paradigma vigente em nossas instituições de ensino.

Kuhn (2005) escreve que paradigma científico é o universo de valores culturais, ideológicos, históricos e epistemológicos que condicionam a produção do conhecimento. Em nosso sistema de ensino, teve sua base filosófica e metodológica construída por René Descartes (1596-1650), que separou o sujeito pensante (*ego cogitans*) e a coisa extensa (*res extensa*), isto é, separou a filosofia da ciência, e coloca como verdade as idéias “claras e distintas” (DESCARTES, 2002). A partir deste momento somente o que é tangível e mensurável passa a ser considerado científico e de relevância social.

Em sua segunda regra Descartes (2002) propõe: *dividir cada uma das dificuldades encontradas em tantas pequenas partes quanto fosse possível e necessário para melhor resolvê-las*. Esta regra, que persiste no ideário acadêmico até os dias de hoje, impossibilita a verdadeira compreensão e o desenvolvimento do paisagismo.

Recentemente, com o advento das grandes megalópoles como São Paulo, Tóquio, Nova Iorque, a humanidade começa a perceber que estamos vivenciando uma problemática sócio-ambiental – a poluição e a degradação do meio, crise de recursos naturais, energéticos e de alimentos - que afeta a sustentabilidade do planeta e questiona a racionalidade econômica e tecnológica dominantes. Esta problemática sócio-ambiental tem levado a sociedade a internalizar novos valores e princípios epistemológicos que orientem a construção de uma nova racionalidade produtiva, sobre bases de sustentabilidade ecológica e equidade social. Neste momento a humanidade começa a “revalorizar” os benefícios proporcionados pelo trabalho do paisagista. (LEFF, 2002)

Diante dessa problemática que envolve instituições de ensino, profissionais, alunos etc, desenvolveu-se uma experiência transdisciplinar na Escola CEPDAP, em Curitiba, Paraná, no curso Técnico em Paisagismo, especificamente no primeiro módulo do curso, o qual envolve as disciplinas de História do Paisagismo, Botânica, Meio

Ambiente e Ecologia e Desenho Geométrico. Essa experiência transdisciplinar de aprendizado objetivou exatamente a quebra do paradigma vigente na formação do paisagista e tentou fazer com que os alunos que vivenciaram a experiência adquirissem uma visão holística e transdisciplinar da profissão de Paisagista.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para realização dessa experiência de aprendizado transdisciplinar foi elaborada uma visita com os alunos do Curso de Técnico em Paisagismo, da Escola CEPDAP, ao Jardim Botânico da cidade de Curitiba, Paraná.

Primeiramente foram realizadas reuniões entre os professores com o intuito de elaborar um roteiro ressaltando objetivos a serem alcançados e pontos-chaves para compreensão da atividade a ser realizada. Desta forma foram definidos como objetivos gerais para a atividade:

- desenvolver a observação crítica e sucinta com relação aos aspectos históricos, ecológicos e estéticos do parque;
- produzir material informativo com a utilização de multimeios (fotografia, textos, desenho, pintura, poesia, música, etc.).

A proposta foi apresentada e comentada com os alunos, com o intuito de esclarecer e acrescentar informações pertinentes, estimulando também a pesquisa prévia sobre os aspectos relacionados à atividade proposta.

Esse roteiro foi entregue aos alunos, que durante e após a visita realizaram observações diretas *in loco* e dialogadas; pesquisas bibliográficas e eletrônicas; entrevistas com funcionários e frequentadores do Jardim Botânico e reconhecimento das áreas do parque.

Para a discussão dos resultados foi realizada uma análise qualitativa. Segundo Serapioni (2000) os métodos qualitativos devem ser utilizados quando o objeto de estudo não é bem conhecido. Por sua capacidade de fazer emergir aspectos novos, de ir ao fundo do significado e de estar na perspectiva do sujeito, estando apto para descobrir novos nexos e explicar significados. De fato, durante a pesquisa, freqüentemente emergem relações entre variáveis, motivações e comportamentos completamente inesperados, que não surgiriam utilizando um questionário estruturado, cuja característica técnica é a uniformidade do estímulo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a visita, que durou cerca de 4 horas, os alunos foram acompanhados pelo professores de História do Paisagismo, Botânica e Ecologia visando a integração das disciplinas e horizontalidade nas análises.

Ao longo do trajeto escolhido para observação, foi possível estabelecer uma leitura dialética da realidade em que está inserido o Jardim Botânico e o Herbário Municipal de Curitiba. Nesse sentido, a dialética foi utilizada para indicar que os próprios argumentos provenientes da discussão sobre o que foi observado serviram para subsidiar a construção do conhecimento. Assim justifica-se a adoção de uma avaliação qualitativa, pelo fato da sua capacidade de perceber uma problemática além dos levantamentos quantitativos (DEMO, 1988).

Os alunos foram capazes de observar aspectos gerais da localização do parque, analisando-se o contexto de sua criação; assim como a manutenção de áreas (remanescente de Floresta Ombrófila Mista), onde há a conservação de espécies representativas de flora e fauna locais para desenvolvimento de atividades educativas.

Foi possível comentar e diferenciar conceitos desenvolvidos ao longo das aulas, como a utilização de espécies exóticas e nativas, as vantagens e desvantagens desse uso; o plantio de espécies arbustivas e arbóreas para formação de zonas-tampão que amenizam o ruído intenso dos automóveis que transitam ao redor do parque, oferecendo aos frequentadores do parque um certo conforto ambiental.

Ainda em relação a questão do conforto ambiental nesse caso especificamente o conforto térmico, pôde-se entretanto, perceber que por outro lado esse aspecto foi inteiramente negligenciado em todo o desenho do jardim, localizado a frente do Palácio de Cristal. Esse jardim possui um conceito bem característico de jardins europeus, especialmente os jardins de estilo francês, caracterizados por forte racionalismo, simetria e rigidez de formas, que traduziam de forma eloqüente o desejo de domínio da natureza pelo homem (DE LA CADENA, 1998; LIRA FILHO *et al.*, 2001). Esse aspecto foi um ponto da vivência que gerou profunda discussão interdisciplinar e aonde se pôde evidenciar de forma bastante consistente a eficácia da metodologia aplicada, pois durante as discussões surgiram questões de ordem estética até política para sustentarem ou desmoronarem o planejamento do espaço.

Houve oportunidade do acompanhamento da rotina de coleta, preparação e montagem de exsicatas, ilustrando as informações transmitidas previamente sobre nomenclatura científica e taxonomia.

Aspectos relacionados ao processo de sucessão ecológica observados no remanescente foram discutidos, salientando-se a importância das espécies pioneiras, essenciais à implantação de processos de restauração de ecossistemas. Aproveitou-se a oportunidade para apontar a necessidade da revitalização e implantação maciça dessas áreas nas cidades, a fim de contribuir para uma sensível redução dos impactos ambientais e a suma importância desse conhecimento, que muitas vezes o paisagista pela sua própria formação não o possui. Mais uma vez outro ponto da vivência que gerou discussões muito produtivas em relação à importância da visão holística e inter ou multidisciplinar do paisagista e também da importância dessa visão ser alcançada em seu processo de formação acadêmica, profissional e também como ser humano.

*“Isto significa que somos seres que nos relacionamos com outras pessoas e com a natureza e que estamos em constante processo de aprendizagem e, portanto a saúde de uma pessoa ou de uma coletividade, é resultante de uma multifatorialidade, não representando um somatório de fatores políticos, econômicos, sociais, culturais, psicológicos (mentais e emocionais), genéticos, biológicos, físicos e químicos e sim uma interação destes”* (DE LA CRUZ, 2003).

Outro aspecto que gerou discussões pertinentes foi em relação ao tema educação ambiental, proporcionada pela visita ao anexo do Salão de Exposições do Jardim Botânico, o qual mantém uma exposição permanente dos resíduos encontrados ao longo do Parque, sem destinação correta, assim como são expostas peças de arte produzidas a partir desses resíduos. O que tornou claro aos alunos outra grande importância do paisagismo: a educação ambiental. E como dizia Burle Marx *“Os jardins devem ser projetados com a intenção de educar. Devem ensinar a conviver. Fazer amigos e a despertar para o prazer da vida”* (LEENHARDT, 1996)

## CONCLUSÃO

O paisagismo enfrenta um *rol* de problemas para a sua consolidação como área de conhecimento, para superá-los deve-se seguir o caminho colocado por Irribarry (2003) que relembra que quando se está às voltas com um problema não solucionado em determinada área temática, é preciso que a transdisciplinaridade seja evocada para instaurar um diálogo com outras áreas temáticas.

Faz-se urgente entender que o paisagismo não é ditado pelo domínio da técnica. O paisagista necessita ter uma mente dialética e brincar o jogo em que de um lado estão as diferentes técnicas e do outro o senso estético-artístico, pois somente deste modo será possível atender aos anseios e sonhos de uma sociedade. que por viver em grandes cidades, sente falta de áreas que resgatem a vida presente nos campos.

De forma bem simples a experiência vivida pelos alunos do curso Técnico em Paisagismo da Escola CEPDAP, tentou mostrar algumas das diversas “nuances” ou “facetadas” que o paisagista deve levar em conta no seu dia a dia de trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DE LA CADENA, F. P. Historia de los estilos en jardinería. Madrid: Istmo, 1998. 370p.
- DE LA CRUZ, M.G. Frutos, Ervas e Temperos: o remédio disponível na sua cozinha e no seu quintal. Mato Grosso: Instituto Centro de Vida, 2003. 74p.
- DEMO, P. **Avaliação qualitativa**. São Paulo: Cortez Autores Associados, 1988, 103p.
- DESCARTES, R. - **Discurso do método: para bem conduzir a própria razão e procurar a verdade nas ciências**. São Paulo: Paulus, 2002. 159p.
- IRIBARRY, I. N. **Aproximações sobre a transdisciplinaridade: algumas linhas históricas, fundamentos e princípios aplicados ao trabalho de equipe**. *Psicol. Reflex. Crit.* [online]. 2003, vol.16, n.3, p.483-490. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010279722003000300007&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010279722003000300007&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 23 de maio de 2005.
- KUHN, T. S. **Estrutura das revoluções científicas**. São Paulo: Perspectiva. 2003. 257p.
- LEENHARDT, J. Nos jardins de Burle Marx. São Paulo: Perspectiva, 1996.
- LEFF, E. **Epistemologia ambiental**. 3. ed. São Paulo: Cortez, 2002. 240p
- LIRA FILHO, J. A.; PAIVA, H. N. de; GONÇALVES, W. . **Paisagismo – princípios básicos**. Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, 2001. 163p.
- SERAPIONI, M . Métodos qualitativos e quantitativos na pesquisa social em saúde: algumas estratégias para a integração. **Ciência e Saúde Coletiva**. v.5, n.1, 2000.

## PALAVRAS-CHAVE

curso técnico em paisagismo, processo de aprendizagem transdisciplinar, formação profissional.

## Revitalização da Praça do Maçom, município de Jaboticabal, SP.

Frateschi, Camila Schiavoni<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Iha, Liriane Laguardia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [camilafrateschi@bol.com.br](mailto:camilafrateschi@bol.com.br); <sup>2</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV) Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup> Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [liriiha@yahoo.com.br](mailto:liriiha@yahoo.com.br)

A praça do maçom, localizada num bairro residencial (Bairro Aparecida), foi projetada por Douglas Alencar Barbosa com a finalidade de homenagear a instituição e seus membros. Foi construída em tempo recorde de 30 dias, apresentando amplo espaço, 7.034m<sup>2</sup>, inaugurada no dia 18 de maio de 1996. O projeto seguiu muitas regras e caracteres maçônicos e, em função disso, muitas vezes deixou de atender as necessidades da comunidade do bairro. Apresenta grande área gramada com grama-batatais (*Paspalum notatum* Flügge) e muitas arbóreas, em fase de crescimento e já adultas; dentre aquelas em fase de crescimento, foram encontradas mudas de quaresmeira (*Tibouchina granulosa* Cogn.) e ipê-mirim (*Tecoma stans* (L.) Juss. Ex Kunth) e dentre as adultas, figueira (*Ficus benjamina* L.), flamboyant (*Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf.) e jatobá (*Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang.), com destaque para a última, por terem sido plantadas 12 (doze) mudas em linha reta como um significado maçônico. Foram plantadas aleatoriamente e de forma excessiva, por iniciativa dos moradores da vizinhança, muitas mudas de pingo-de-ouro (*Duranta repens* L. 'aurea'). Os bancos, retos e sem encosto, foram doados por famílias ou empresas e estão colocados recuados nos canteiros, de forma que não atrapalham a passagem das pessoas; por serem retos e sem encosto, desestimulam as pessoas e andarilhos a deitarem e colocarem os pés em cima, porém, a propaganda polui visualmente. A princípio, havia um sistema de irrigação escamoteável, porém, devido à falta de manutenção, não funciona mais. As luminárias altas dificultam o vandalismo, porém, muitas lâmpadas encontram-se queimadas. A utilização da praça para a prática de esportes como patins e skate, é motivo de queixa por parte dos moradores da vizinhança. A praça é muito restrita em todos os tipos de lazer, incluindo o contemplativo e não atende as necessidades do entorno. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi fazer o readequação da Praça do Maçom, procurando manter as características originais, porém, com incremento do lazer, visando maior utilização da vizinhança. Foi realizado o levantamento cadastral e fotográfico; entrevistas com moradores do bairro; consultoria de membros da maçonaria e análise e readequação da planta baixa, propondo o readequação que mantém os caracteres maçônicos, porém, acrescenta linhas sinuosas em algumas partes, privilegia lazer para crianças e terceira idade, bem como o lazer contemplativo acrescentando floríferas anuais (petúnia – *Petúnia x hybrida* Hort. ex Vilm, tagetes – *Tagetes patula* L. e sálvia – *Salvia splendens* Sellow ex Roem & Schult.) e outras espécies que florescem abundantemente na região (alpinia – *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum., camará - *Lantana camara* L. e vedelia – *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski) a fim de tornar a praça mais alegre e que seja mais freqüentada pelos moradores do bairro. O novo projeto teve aprovação da população local e de membros da maçonaria.

### PALAVRAS-CHAVES

Paisagismo; readequação; praça

## Planejamento paisagístico do prédio de cães e gatos (Hospital Veterinário) da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal.

Rosa, Camila Soares<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Mateus, Caroline de Moura D'Andréa<sup>3</sup>; Coan, Ruchele Marchiori<sup>4</sup>; Santos, Juliana Garcia dos<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal – SP, fone (16) 3209-2668, e-mail: [camisrosa@yahoo.com.br](mailto:camisrosa@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Doutora - Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [caroline\\_mateus@hotmail.com](mailto:caroline_mateus@hotmail.com); <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [ruchelecoan@yahoo.com.br](mailto:ruchelecoan@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [jugarciaagro01@yahoo.com.br](mailto:jugarciaagro01@yahoo.com.br).

Visando adequar o entorno do prédio recém construído para atendimento de cães e gatos, do Hospital Veterinário da UNESP/FCAV, esse trabalho teve como objetivo fazer o planejamento paisagístico da área. O trabalho foi realizado pelo Grupo “*Oficina da Paisagem*”, criado com a finalidade de estudar aspectos ligados à paisagem, prioritariamente, do Campus de Jaboticabal. Foi realizado o levantamento plani-altimétrico, fotográfico e cadastral, bem como, análise do solo. Foram anotadas as preferências das pessoas que freqüentam o prédio, bem como, as necessidades relacionadas ao bem-estar dos animais. Verificou-se que os elementos arquitetônicos foram devidamente previstos por ocasião da construção do prédio. Relacionado aos elementos vegetais, atenção especial foi dada às espécies arbóreas, pois, os animais permanecem nesse prédio quando estão em tratamento e sob observações dos médicos, demandando áreas de sombreamento leve para banho de sol, pela manhã e de sombreamento pesado, nas de áreas de permanência, onde o sol incide no período da tarde. Atenção também foi dada às cercas vivas visando isolar os animais das pessoas que transitam pelo Campus, reduzindo o estresse. A escolha foi criteriosa evitando espécies tóxicas, com espinhos e que produzam frutos que possam ser consumidos pelos animais, interferindo na dieta. Foi feito o planejamento paisagístico, apresentado em planta baixa no programa Autocad, versão 2006, mantendo a harmonia do Campus, que segue um padrão tropical naturalista. Na área onde os cães tomam banho de sol pela manhã, foi projetada uma farinha seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.) e na área onde ficam no período da tarde, três oitis (*Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch.); nesta área, projetou-se uma cerca viva com a palmeira areca-bambu (*Dypsis lutescens* (H. Wendl.) Beentje & J. Dransf.); na área de recreação e banho de sol dos gatos, três lados são de paredes do prédio e o quarto lado e parte superior, alambrado; foi projetada, externamente ao alambrado, a colocação de uma palmeira *Ptychosperma elegans* (R Br.) Blume, que fornece sombra leve e frontalmente ao alambrado, três estrelicias (*Strelitzia reginae* Aiton) que isolam, parcialmente, os animais e permite a passagem de raios solares; na área interna, brinquedos confeccionados em madeira. Na fachada, onde os animais não tem acesso, foram colocadas cinco palmeiras da espécie *Veitchia montgomeryana* H. E. Moore e duas da espécie *P. elegans* (que compõem com a outra colocada próxima à área de recreação dos felinos), alamandas (*Allamanda cathartica* L.) em uma das laterais, canteiros de agaves (*Agave americana* L., *A. angustifolia* Haw. e *A. attenuata* Salm-Dyck) na parte mais alta do terreno, canteiros de alpinias (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum e *A. zerumbet* (Pers.) B. L. Burtt & R.M.Sm) e hemerocalis amarelos (*Hemerocallis x hybrida* Hort.) e, ainda, cinco touceiras de estrelicias (*S. reginae* Aiton). Projetou-se o gramado de todas as áreas com grama-esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.). Foi projetado um estacionamento com a espécie *Tipuana tipu* (Benth.) Kuntze.

### PALAVRAS-CHAVES

Paisagismo; planejamento; paisagem.



## Remodelação da paisagem do entorno do Restaurante Universitário da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal.

Coan, Ruchele Marchiori<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Rosa, Camila Soares<sup>3</sup>; Mateus, Caroline de Moura D'Andréa<sup>4</sup>; Santos, Juliana Garcia dos<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal – SP, fone (16) 3209-2668, e-mail: [ruchelecoan@yahoo.com.br](mailto:ruchelecoan@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Doutora - Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária (UNESP/FCAV), e-mail: [camisrosa@yahoo.com.br](mailto:camisrosa@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [caroline\\_mateus@hotmail.com](mailto:caroline_mateus@hotmail.com); <sup>5</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), e-mail: [jugarciaagro01@yahoo.com.br](mailto:jugarciaagro01@yahoo.com.br).

O Restaurante Universitário (RU) da UNESP/FCAV é um espaço muito freqüentado por alunos e funcionários, além de estar inserido em um local de intenso trânsito de pessoas e automóveis. A queda recente de uma das árvores que ornamentavam a área desse prédio, e a necessária retirada de outras árvores que traziam risco ao prédio, fez com que o mesmo perdesse seu contexto paisagístico. Visando adequar o entorno do prédio do Restaurante Universitário, esse trabalho teve como objetivo fazer o replanejamento paisagístico da área. O trabalho foi realizado pelo Grupo “*Oficina da Paisagem*”, criado com a finalidade de estudar aspectos ligados à paisagem, prioritariamente, do Campus de Jaboticabal. Foi realizado o levantamento plani-altimétrico, fotográfico, cadastral e botânico, bem como, análise do solo. Foram anotadas as preferências e necessidades das pessoas que freqüentam o prédio ou circulam no entorno, visando tornar o local mais seguro, bonito e agradável, e acima de tudo, um local que esteja inserido no contexto paisagístico do Campus de Jaboticabal (Tropical Naturalista). Verificou-se que há, primeiramente, a necessidade de remodelar a calçada que dá acesso ao prédio, já que a mesma é estreita e dificulta o trânsito do grande número de pessoas que freqüentam o local e, principalmente, de cadeirantes. Relacionado aos elementos vegetais, maior atenção foi dada às palmeiras, pois o prédio está inserido numa grande área escolhida como banco de espécies da família *Arecaceae* e, com esse intuito, foram acrescentadas mais três espécies à coleção, ou seja, *Dypsis decaryi* (palmeira-triângulo), *Ptychosperma macarthurii* (palmeira-de-macarthur) e *Wodyetia bifurcata* (palmeira-rabo-de-raposa), somando às já existentes plantas de *Copernicia prunifera* (carnaúba), *Ptychosperma elegans* (palmeira-solitária) e *Syagrus romanzoffiana* (jerivá), presentes no entorno desse prédio. Também foram utilizadas muitas espécies herbáceas de pequeno porte e rasteiras, como amendoim-rasteiro (*Arachis repens*), abacaxi-roxo (*Tradescantia spathacea*), quaresmeira-rasteira (*Schizocentron elegans*), clorófito (*Chlorophytum comosum*), azulzinha (*Evolvulus glomeratus*), moréia (*Dietes bicolor*), rabo-de-gato (*Acalyfa reptans*) e falsa-murta (*Murraya exotica*) para formação do plano de massa. Atenção também foi dada para as espécies arbóreas, pois o local estava deficiente de áreas sombreadas. Dessa forma, foi introduzida uma espécie arbórea na fachada da entrada principal do prédio (*Bauhinia blaqueana*) e algumas espécies na área do fundo do prédio, como ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba*), ipê-amarelo (*Tabebuia aurea*), ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*), paineira (*Chorisia speciosa*), com o objetivo de formar um bosque de contemplação. A escolha foi criteriosa evitando espécies tóxicas, com espinhos e de difícil manutenção, já que o Campus possui uma grande área paisagística. Foi feito um estudo das áreas de vistas do prédio, tanto internas quanto externas e realizado o planejamento paisagístico, apresentado em planta térrea e em perspectiva isométrica no programa Autocad, mantendo a harmonia do Campus.

### PALAVRAS-CHAVES

Paisagismo; planejamento; paisagem.

## **Escolha de espécies arbóreas floríferas pelos moradores de dois bairros de Americana/SP.**

Silva, Luzia Ferreira da<sup>1</sup>; Volpe-Filik, Andrea<sup>2</sup>; Lima, Ana Maria Liner Pereira<sup>3</sup> e Silva Filho, Demóstenes Ferreira da<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup> Doutorandas do Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Rua Pádua Dias, nº 11, 13418-900-Piracicaba-SP, fone (19)34294050, e-mail: [lfsilva@esalq.usp.br](mailto:lfsilva@esalq.usp.br), [avfilik@esalq.usp.br](mailto:avfilik@esalq.usp.br), <sup>3</sup> Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. do Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Rua Pádua dias, nº 11, 13418-900 Piracicaba-SP, fone (19)34294190 e-mail: [amlplima@esalq.usp.br](mailto:amlplima@esalq.usp.br), <sup>4</sup> Prof. Dr. do Departamento de Ciências Florestais, ESALQ/USP, Rua Pádua dias, nº 11, 13418-900 Piracicaba-SP, fone (19)34368686, e-mail: [dfsilva@esalq.usp.br](mailto:dfsilva@esalq.usp.br)

### **INTRODUÇÃO**

A participação da comunidade na escolha de espécies para o plantio, em calçadas, é uma prática recomendável e usada como forma de educação ambiental. A participação contribui para mudanças de atitudes e comportamentos relacionados à arborização urbana, principalmente para moradores que sentem aversão à árvore.

Para Paiva & Gonçalves (2000), o plantio de árvores estabelece um vínculo social entre a comunidade e a árvore, como também, uma continuidade que vai além de partidos e mandatos políticos.

O processo de urbanização tem mudado, drasticamente, a relação entre a sociedade e o meio natural. As pessoas têm sido afetadas pelas mudanças de valores sociais (Konijnendijk, 2000).

Neste contexto, é importante o regaste do valor paisagístico nas pessoas, principalmente em relação ao plantio de árvores. Com esta finalidade, o trabalho envolveu a comunidade, por meio de eleição de várias espécies.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi realizada nos dois bairros mais populosos do município de Americana, Estado de São Paulo, com 22°44'21" latitude sul, 47°19'53" longitude, e foi dividida em duas fases.

Na primeira, foi elaborado um levantamento dos lugares que não tinham árvore plantada, com ruas de comprimento entre 800 a 1.500 metros, e maior que 1.500 metros; avaliando-se: calçada (largura em metros); rua (largura em metros, declividade, sombreamento); presença de fiação elétrica; presença de encanamento; calçada com cova vazia, árvores mortas e tocos, e calçada com possibilidade de plantio.

Após o levantamento destes dados, foi realizado um estudo com as espécies que poderiam ser indicadas para o plantio no local, considerando as características da espécie (caducifolia, semicaducifolia, perenifolia, origem, floração e frutificação). Foram escolhidas 26 espécies, variando entre arbustos e árvores, de pequeno e grande porte (Tabela 1).

Na segunda fase foi mostrado aos moradores pranchas com fotos das espécies indicadas para cada rua, para que eles pudessem escolher. Na prancha, constava o nome da rua, seu comprimento (de 800 a 1.500m e maior que 1.500m), sua largura e da calçada correspondente; o bairro; o potencial de plantio; observações (declividade e sombreamento); presença ou não de fiação elétrica e o nome científico e popular de cada espécie.

Nas ruas de 800 a 1.500 metros, foram oferecidas três espécies aos moradores, sendo selecionadas as duas mais votadas para o plantio; já para as ruas maiores que 1.500 metros, ofereceram-se quatro, para seleção de três. De antemão, os moradores foram avisados que o processo de plantio das espécies mais votadas caberia à Prefeitura Municipal, realizando ela própria as atividades ou delegando-as às empresas interessadas.

Tabela 1 - Espécies indicadas para o plantio nas ruas dos bairros de Americana/SP, considerando nome científico, nome popular, origem (nativa - N e exótica - E), abscisão foliar (perenifólia - P, caducifólia - C e semicaducifólia - SC), período de floração e de frutificação

NOME CIENTÍFICO	NOME POPULAR	ORIGEM	ABSCISÃO FOLIAR	FLORAÇÃO	FRUTIFICAÇÃO
<i>Stiffia crysantha</i> Mikan	Estífia/Rabo de cutia	N	P	Jul – Set	Set – Nov
<i>Eugenia involucrata</i> D. C.	Cereja do Rio Grande	N	C	Set – Nov	Out – Dez
<i>Grevilea banksii</i> R. Br.	Grevílea – anã	E	P	Jan – Dez	Ano todo
<i>Esenbeckia grandiflora</i> Mart.	Guaxupita	N	P	Nov – Jan	Jun – Ago
<i>Peschiera fuchsiaefolia</i> Miers.	Jasmim do campo	N	P	Out - Nov	Mai – Jun
<i>Lagerstroemia indica</i> L.	Rededá – anão	E	C	Dez - Mar	Abr – Jun
<i>Senna macranthera</i> (Collad.) Irwin et Barn.	Manduirana	N	P	Dez – Abr	Jul – Ago
<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.	Erva mate	N	P	Out – Dez	Jan – Mar
<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. Ex. Reiss.	Espinheira santa	N	P	Ago – Out	Jan – Mar
<i>Conofaryngia crassa</i> Stapf.	Dois irmãos	E	SC	Ano todo	Ano todo
<i>Gustavia augusta</i> L.	Geniparana	N	P	Out – Dez	Mar – Mai
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	Guaçatonga	N	P	Jun – Ago	Set – Nov
<i>Dictyoloma vandellianum</i> A .Juss.	Tingui	N	P	Fev – Abr	Jul – Ago
<i>Metrodorea nigra</i> St. Hil.	Carrapateira	N	P	Set – Nov	Mar – Abr
<i>Cordia superba</i> Cham.	Babosa - branca	N	SC	Out – Fev	Set – Nov
<i>Nerium oleander</i> L.	Espirradeira	E	P	Set – Mar	Mai – Jul
<i>Trichilia hirta</i> L.	Carrapeta	N	SC	Out – Nov	Mai – Jul
<i>Alectryon tomentosum</i> Radlk.	Alectrion	E	P	Out – Nov	Mar – Mai
<i>Guapira graciliflora</i> (Mart. Ex. J. A João mole Schimidt) Lundel		N	P	Ago – Set	Out – Nov
<i>Allophylus edulis</i> (A . St. Hil.)	Chal chal	N	P	Set – Nov	Nov – Dez
<i>Poecilanthe parviflora</i> Benth	Coração de negro	N	P	Out – Nov	Jun – Jul
<i>Pittosporum undulatum</i> Vent.	Pitosporo incenso	E	P	Ago – Set	Dez – Jan
<i>Cinammomum zeylanicum</i> Ness.	Canela da índia	E	P	Jul – Ago	Set - Out
<i>Licania tomentosa</i> (Benth) Fritsch	Oiti	N	P	Jun – Ago	Jan – Mar
<i>Cinammomum camphora</i> (L.) Ness Sebern	Canforeira	E	P	Out – Dez	Jan – Mar

Fonte: LORENZI et al. (1992, 1998, 2003)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas 181 covas vazias, 89 árvores mortas ou tocos e 1.314 lugares com potencial de plantio, em todas as ruas, inclusive, aquelas menores que 800 metros. Foram encontradas 485 casas que não tinham árvores nas calçadas. Destas, foram entrevistados 247 moradores, sendo um de cada casa; 162 casas encontraram-se sem moradores e 55 não quiseram atender. Além disso, 15 casas estavam com material de construção espalhados pela calçada e 6 já tinham feito o pedido de muda.

As espécies mais votadas pelos moradores foram *Lagerstroemia indica* (Resedá - anão) e *Stiffia crysantha* (Estífia/Rabo de cutia) (Tabela 2).

Tabela 2 – Espécies mais votadas e o número de votos, nas ruas de 800 a 1.500m e maior que 1.500m, em dois bairros de Americana/SP

ESPÉCIES	NÚMEROS DE VOTOS	
	Ruas de 800 a 1500m	Ruas maiores que 1500m
<i>Metrodorea nigra</i>	6	9
<i>Stiffia crysantha</i>	6	14
<i>Lagerstroemia indica</i>	5	17
<i>Gustavia augusta</i>	5	3
<i>Eugenia involucrata</i>	4	5
<i>Senna macranthera</i>	2	6

A escolha por árvores com flores significativas, pelos moradores, foi muito evidente, provavelmente em virtude do seu reduzido número no local, uma vez que há uma tendência das pessoas buscarem espécies floríferas para colocar em casa ou próximo desta. As árvores frutíferas comestíveis também costumam ser procuradas, fato que ficou evidente nos 9 votos que a cereja do rio grande obteve. Já o oiti, embora muito interessante pela sombra proporcionada e, mesmo, pela bonita arquitetura da árvore, não foi eleita pelos moradores pois, embora frutífera na região Norte e Nordeste, não é muito utilizada para tal fim, em nosso meio.

## CONCLUSÃO

A participação da comunidade, na escolha das espécies, foi de fundamental importância, ao despertar seu interesse pela arborização das ruas. Entretanto, embora bastante subsidiado quanto a que espécie utilizar, o Órgão Público deve levar a frente à proposta levantada pelo trabalho, não deixando ocorrer uma decepção nas pessoas que esperam, após a realização do mesmo, ver suas ruas plantadas com as espécies eleitas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KONIJNENDIJK, C. C. Adapting forestry to urban demands – role of communication in urban forestry in Europe. **Landscape and Urban Planning**, Amsterdam, v.52, p. 89-100, 2000.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. v. 1, 352 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1998. v. 2, 352 p.

LORENZI, H. et al. **Plantas exóticas no Brasil**: madeiras, ornamentais e aromáticas. 2.ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2003. v. 1, 368p.

PAIVA, H. N.; GONÇALVES, W. **Florestas urbanas**: planejamento para melhoria da qualidade de vida. Viçosa/MG: Aprenda Fácil, 2002. 180p. (Série Arborização Urbana, 2).

#### PALAVRAS-CHAVES

Arborização urbana, flores significativas, participação comunitária e espécies arbóreas viárias.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro.



## Utilização de espécies ornamentais nativas do Cerrado nos pátios das Escolas Municipais Rurais de Mineiros-Goiás

Paula, Márcia Maria de<sup>1</sup>; Diogo, Alcebíades<sup>2</sup>; Cabral, Kátia Fortaleza<sup>3</sup>; Dutra, Eliane Moraes<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Analista de Desenvolvimento Rural da AGENCIARURAL (Unidade Local de Mineiros) e Professora da FIMES, Segunda Avenida n. 78 Centro, CEP 75 830-000, Mineiros, Goiás, fone (64) 3661 1198, email: [marcia@agenciarural.go.gov.br](mailto:marcia@agenciarural.go.gov.br); <sup>2</sup>Extensionista Rural da AGENCIARURAL (Unidade Local de Mineiros), Segunda Avenida n. 78 Centro, CEP 75 830-000, Mineiros, Goiás, fone (64) 3661 1198, email: [diogo@agenciarural.go.gov.br](mailto:diogo@agenciarural.go.gov.br); <sup>3</sup>Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal da FIMES, Rua 22 s/n Setor Aeroporto, CEP 75 830-000, Mineiros, Goiás, fone (64) 3661-1970, email: [katia\\_florestal@hotmail.com](mailto:katia_florestal@hotmail.com); <sup>4</sup>Acadêmica do Curso de Agronomia da FIMES, email: [elianeagr@hotmail.com](mailto:elianeagr@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

O Cerrado, segundo maior bioma do Brasil, representa um quarto do território brasileiro, concentra cerca de um terço da biodiversidade nacional e 5% da flora e fauna mundial (ALMEIDA, 1998). Apesar da sua importância ambiental, é pouco valorizado. Observa-se que as comunidades que vivem neste Bioma não valorizam a sua importância e o conhecimento que ainda resta nas comunidades tradicionais, têm-se perdido ao longo do tempo. Outra preocupação relevante é o processo rápido de degradação que o Cerrado vem sofrendo, com a conversão da vegetação original em áreas de agricultura e de pecuária. Aliado a isso, com a maioria da população vivendo nas cidades, esse conhecimento deve ser resgatado e a promoção da valorização do Cerrado deve ser urgente.

A presente proposta tem como base, um trabalho iniciado em 2006, onde foram sugeridas ações de educação ambiental, com o objetivo de tornar as Escolas Municipais Rurais de Mineiros-GO, centros de difusão de conhecimentos para a preservação, conservação e utilização sustentável dos recursos naturais do Cerrado, visando à melhoria da qualidade de vida nas comunidades rurais. Uma dessas ações é a readequação paisagística dos pátios escolares, com a utilização de espécies nativas do Cerrado.

As Escolas Rurais em nossa região, de uma forma geral, não se preocupam com a questão do ordenamento das espécies vegetais e elementos arquitetônicos nos seus pátios escolares. Desta forma a adequação paisagística traz uma série de benefícios, melhorando o ambiente para as crianças que nelas estudam, tornando assim, um local arejado para o lazer, descanso, realização de aulas práticas, e principalmente, para a preservação da vegetação natural que existe no local, o Cerrado.

O espaço na escola onde acontece o processo ensino-aprendizagem ainda está, em nosso meio, centrado nas quatro paredes da sala de aula. Fredrizzi (1999), aborda sobre o movimento chamado Learning Through Landscapes, LTL (*Aprendendo com a Paisagem*), que iniciou na Inglaterra e vem mudando os pátios escolares de todo mundo. Com a proposta apresentada, o pátio pode ser também utilizado como espaço didático, onde se pode estudar e praticar educação física, português, matemática, ciências, geografia, educação ambiental e outros.

Espera-se que a presente proposta possa contribuir com as Escolas Rurais do município de Mineiros-GO, no sentido de despertar para a valorização do Cerrado, preservando e criando uma nova consciência no presente e para as futuras gerações.

### MATERIAL E MÉTODOS

O município de Mineiros-GO está localizado na região *core* dos cerrados. A economia está diretamente ligada à atividade agropecuária, primeiramente com a pecuária extensiva e posteriormente, a partir de 1970, com a chegada dos sulistas (gaúchos, paranaenses e catarinenses) com a produção de grãos, soja e milho principalmente (SILVA, 1991). Atualmente, o município passa pelo processo da agroindustrialização com a chegada

de empresas de processamento de aves, no sistema de integração, e ainda indústrias de cana de açúcar.

O clima é tropical com duas estações bem definidas: uma seca e outra chuvosa. Encontra-se, também, o Parque Nacional das Emas, umas das mais importantes unidades de conservação do Bioma Cerrado, que recebeu o título de Patrimônio da Humanidade - UNESCO 2001 (IBAMA/CEBRAC, 2004). O município abriga também as nascentes do Rio Araguaia.

A região de Mineiros assume ainda uma grande importância no que diz respeito aos recursos hídricos, pois possui uma grande quantidade de nascentes, além de ser considerada região divisora de águas, pois se encontram nascentes de rios que drenam três grandes bacias hidrográficas do continente sul americano: Bacia do Prata, Bacia Amazônica e Bacia do Paraguai (FUNDAÇÃO EMAS, 1998), além de ser área de carga e recarga do Aquífero Guarani, o maior aquífero subterrâneo da América do Sul (GOMES, 2000).

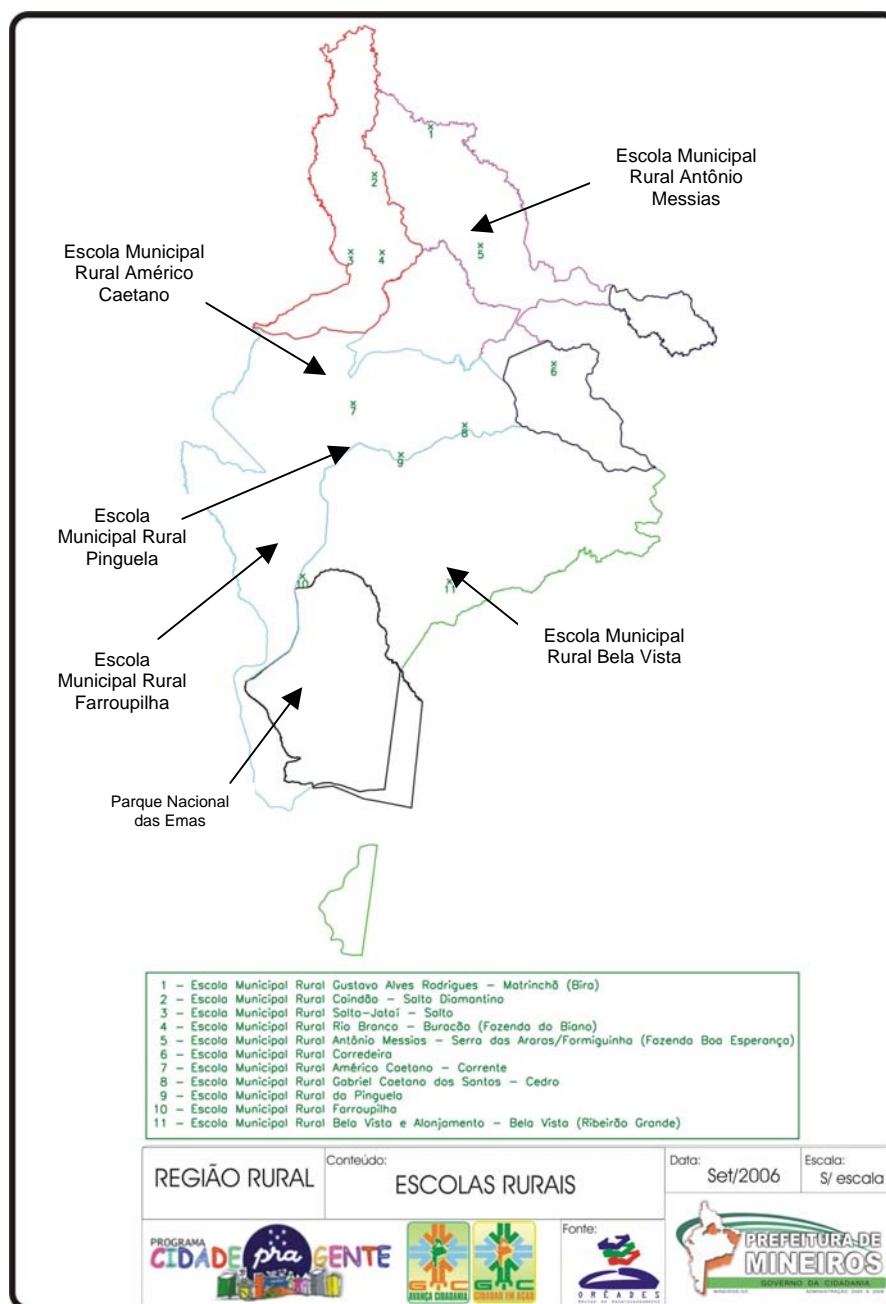


Figura 1. Mapa de localização das Escolas Rurais de Mineiros-GO  
 Fonte: Plano Diretor Democrático de Mineiros-GO, setembro de 2006



A metodologia para a realização do trabalho se dá, num primeiro momento, através de levantamentos da situação atual dos pátios das escolas rurais, em visitas realizadas *in loco*, onde são geradas plantas baixas da situação atual. Todas as espécies que ocorrem no pátio são catalogadas, incluindo nativas e exóticas. Posteriormente, são realizadas oficinas onde são abordados temas como a caracterização do Cerrado, utilização das espécies nativas, destinação de lixo, plantio de hortas orgânicas e realização de trilhas interpretativas com as crianças, visando a identificação botânica de algumas espécies que ocorrem na região. Neste momento, ainda são realizadas atividades com o objetivo de ver a percepção da comunidade (alunos, pais, professores, dirigentes das associações rurais) em relação ao pátio escolar. Em seguida, buscam-se sugestões para a adequação paisagística. Na Tabela 1, observa-se a lista de espécies que estão sendo utilizadas na adequação paisagísticas dos pátios das escolas rurais.

Tabela 1. Espécies ornamentais nativas do Cerrado utilizadas na adequação paisagística dos pátios das Escolas Rurais Municipais de Mineiros-GO

Classificação quanto uso paisagístico	Família	Nome Científico	Nome Vulgar
Árborea	Malpighiaceae	<i>Byrsonima basiloba</i> Juss.	murici
	Leguminosae	<i>Anadenanthera macrocarpa</i> Benth.	Angico Vermelho
	Caryocaraceae	<i>Caryocar brasilienses</i> Camb.	Pequi
	Bignoneaceae	<i>Tabebuia serratifolia</i> (Vahl) Nich.	Ipê amarelo
	Bignoneaceae	<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart) Mart.	Ipê verde
	Bignoneaceae	<i>Tabebuia avellaneda</i> Lor. Exgriseb.	Ipê roxo
	Bignoneaceae	<i>Tabebuia caraíba</i> (Mart) Bur.	Caraíba
Palmeira	Palmaceae	<i>Syagrus olerácea</i> (Mart.) Becc.	Gueroba
	Palmaceae	<i>Butiá purpurascens</i> Glassman	Butiá
Arbustiva	Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Tr.	Quaresmeira
Bromélia	Bromeliaceae	<i>Ananás ananassoides</i> (Bak.) L.B.Smith	Abacaxi

Fonte: LORENZI, 2001; LORENZI, 2002; POTT, 1994.

Baseado no levantamento realizado e nas sugestões da comunidade, o projeto paisagístico é elaborado, priorizando a utilização de espécies nativas, e depois, é devolvido à comunidade. Posteriormente, com a ajuda da Prefeitura Municipal e comunidade, o projeto é implantado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As ações realizadas nas Escolas Municipais Rurais de Mineiros-GO, tiveram início em fevereiro de 2006, com uma parceria institucional da Agência Goiana de Desenvolvimento Rural e Fundiário (AGENCIARURAL Unidade Local de Mineiros), Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior (FIMES) e Prefeitura Municipal de Mineiros, através da Secretaria Municipal de Educação, no âmbito do Projeto “Escolas do Cerrado”.



A proposta é levar esta ação a todas as Escolas Municipais Rurais do município. Até o presente momento, foram readequados os pátios de duas escolas (Escolas Municipais Antônio Messias e Américo Caetano) e encaminhado o projeto de readequação paisagístico a uma escola (Escola Municipal Bela Vista).

Na Escola Municipal Rural Bela Vista foi realizado um encontro com a comunidade, em maio de 2006, com o objetivo de ver a percepção da comunidade em relação ao pátio e buscar subsídios para a adequação do mesmo. Posteriormente foi feita a proposta de readequação, levando em consideração a opinião da comunidade rural e alunos através de atividades didáticas. Após esta reunião na escola rural, foi feita a devolução sistematizada da proposta de adequação paisagística para a comunidade.

Em março e maio de 2007, os pátios das Escolas Municipais Antônio Messias e Américo Caetano foram readequados com o apoio da comunidade e parceiros. Em visitas prévias, foi levantada a situação atual dos mesmos e posteriormente, num sistema de mutirão os trabalhos de plantio foram realizados. Além das espécies ornamentais foram plantadas também hortaliças.

Com o objetivo de reforçar os conceitos vistos nas oficinas com a comunidade, são utilizadas atividades práticas como a realização de trilhas interpretativas no Cerrado, onde as crianças podem perceber as diferenças botânicas entre as espécies.

Na elaboração do projeto paisagístico, a escolha das espécies, parte primeiramente daquelas encontradas na região e as mudas são produzidas no Viveiro da Prefeitura Municipal de Mineiros-GO.

## CONCLUSÃO

Com a realização do presente trabalho pode-se observar a integração dos moradores das comunidades rurais e com isso a preocupação na busca de melhorias estruturais e pedagógicas para as escolas. Conclui-se também, que a comunidade passa a ter um conhecimento maior da utilização das espécies do Cerrado, como ornamentais, alimentícias e medicinais, despertando com isso a necessidade de preservação dessas espécies.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P. de, et alli. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1998.

FUNDAÇÃO EMAS. **Cumeira do Brasil: Projetos de Preservação Ambiental**. Brasília: ABEAS, 1998.

FREDIZZI, BEATRIZ. **Paisagismo no Pátio Escolar**. Porto Alegre: Ed. Universidade/AFRGS, 1999.

GOMES, M.A.F.; FILIZOLA, H. F.; DE PAULA, M. M.; DIOGO, A.; CERDEIRA, A.L. Áreas críticas nas porções de recarga do Aquífero Guarani localizado nas nascentes do Rio Araguaia. Jaguariúna: EMBRAPA - Meio Ambiente, 2000. (EMBRAPA Meio Ambiente. **Documentos, 18**)

IBAMA/CEBRAC. **Plano de Manejo do Parque Nacional das Emas - GO/MS/MT**. Brasília: IBAMA/CEBRAC, 2004.

LORENZI, H. H., M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. Nova Odessa; Ed. Plantarum Ltda, 3ª Edição, 2001.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras – **Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarum Ltda, Vol 1, 4ª Edição, 2002.

POTT, A; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA, SPI, 1994.

SILVA ,M.J. **Parque das Emas: Última pátria do cerrado: bioma ameaçado**. Goiânia: Editora Três Poderes, 1991.

**PALAVRAS-CHAVES**

Cerrado, Espécies Ornamentais; Escola Rural.

## Remodelação do entorno do condomínio Edifício Itamaracá, município de Jaboticabal, SP.

Iha, Liriane Laguardia<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>, Frateschi, Camila Schiavoni<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [liriiha@yahoo.com.br](mailto:liriiha@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV) Departamento de Produção Vegetal, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [camilafrateschi@bol.com.br](mailto:camilafrateschi@bol.com.br);

O trabalho teve como objetivo a remodelação do entorno do condomínio Edifício Itamaracá, localizado no município de Jaboticabal, Avenida Duque de Caxias, 633, visando atender as necessidades dos usuários, principalmente com relação ao aspecto contemplativo. Foi realizado o levantamento plani-altimétrico, fotográfico e cadastral, bem como, entrevistas com moradores a fim de atender as necessidades e expectativas desses usuários. Foi feito um estudo das áreas de vistas do prédio, tanto internas quanto externas e realizado o replanejamento paisagístico, de forma criteriosa, procurando realçar os pontos fortes da construção e disfarçar os pontos fracos de modo que o conjunto edifício/jardim ganhe força, imponência e, conseqüentemente, mais destaque. De acordo com esses estudos foi planejado como cobertura de solo grama-esmeralda e pedrisco branco e ainda, por escolha dos moradores, foram inseridas palmeiras como a tamareira-anã (*Phoenix roebelinii*) e ráfis (*Rhapis excelsa*), e também, beijo (*Impatiens walleriana*), érica (*Cuphea gracilis*), crossandra (*Crossandra infundibuliformis*), podocarpus (*Podocarpus macrophyllus*) e cica (*Cycas revoluta*), juntando à outras plantas já existentes no local. O projeto privilegiou curvas sinuosas oferecendo maior harmonia e grande efeito decorativo entre as plantas e foi representado em planta térrea no programa Autocad.

### PALAVRAS-CHAVES

Paisagismo, replanejamento

## **Arborização urbana em regiões de diferentes padrões construtivos no município de Jataí, Estado de Goiás.**

Barros, Elaine Franciely dos Santos<sup>1</sup>; Carvalho, Raquel dos Santos Carvalho<sup>1</sup> & Guilherme, Frederico Augusto Guimarães<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Graduação em Ciências Biológicas (UFG - Campus Jataí) Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, BR 364/Km 192 - Pq Industrial; CEP 75801-615; Jataí, GO. E-mail: [elainebioufg@yahoo.com.br](mailto:elainebioufg@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Professor Adjunto I (UFG - Campus Jataí) Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, BR 364 / Km 192 - Pq Industrial; CEP 75801-615; Jataí, GO. Fone (64)3632-2101. E-mail: [fredericoagg@gmail.com](mailto:fredericoagg@gmail.com)

### **INTRODUÇÃO**

A arborização em áreas urbanizadas, como ruas, praças e parques, proporciona uma série de vantagens, como redução dos efeitos da poluição, absorção de parte dos raios solares, proteção aos seres humanos contra o impacto direto dos ventos, redução do impacto das gotas da chuva sobre o solo, minimizando os processos erosivos, ornamentação da cidade, além de eventualmente fornecerem abrigo e alimento para a fauna local (Resende, 1997; Silva *et al.*, 2002).

O planejamento da arborização urbana deve considerar a caracterização física do local onde será plantada determinada muda, definindo critérios que condicionam a escolha das espécies mais adequadas. Três critérios devem ser apreciados no planejamento da arborização urbana (Amir & Misgav, 1990). O primeiro leva em conta o aspecto visual-espacial, definindo o tipo de árvore mais apropriada ao local em termos paisagísticos. O segundo considera as limitações físicas e biológicas que o local impõe ao crescimento das árvores. O terceiro critério, funcional, procura avaliar quais espécies seriam mais adequadas para melhorar o microclima e outras condições ambientais.

Entretanto, geralmente o planejamento urbano deixa de incluir a arborização, permitindo que iniciativas particulares, desprovidas de conhecimento técnico, executem o plantio irregular de espécies, ou seja, sem compatibilidade com o local. Esta situação é traduzida em perda da eficácia da arborização, trazendo futuros transtornos à população local e causando sérios prejuízos, como rompimento de fios de alta-tensão e telecomunicação, entupimento de calhas e danos às redes subterrâneas de água e de esgoto, obstáculos para circulação e acidentes envolvendo pedestres, veículos ou edificações (Silva *et al.*, 2002). Em casos menos comuns, pode causar até intoxicação com partes ingeridas de plantas tóxicas. Para reduzir a ocorrência desses danos, devem ser selecionadas árvores com portes diferenciados, compatíveis com fiações e interferências subterrâneas.

Por ser uma atividade onerosa e exigente de suporte técnico especializado, a arborização urbana requer um planejamento adequado. Neste contexto, o atual estudo teve como objetivo avaliar comparativamente a qualidade e a quantidade de árvores plantadas no perímetro urbano da cidade de Jataí, localizada no sudoeste do Estado de Goiás a cerca de 350 km da capital goiana, apresentando aproximadamente 83.000 habitantes.

Para possibilitar comparações, foi utilizado um mapa georeferenciado do padrão construtivo de todas as quadras da cidade de Jataí, confeccionada pela prefeitura municipal, que seccionou as quadras da cidade em três níveis sociais distintos, segundo o padrão de construção civil adotado: 1. alto/médio; 2. simples e 3. precário. Partindo do princípio de que o alto/médio padrão construtivo é composto por população com maior poder aquisitivo, trabalhou-se com a hipótese de que há maior adequação da arborização urbana nessas quadras do que naquelas com padrão construtivo precário.

## MATERIAL E MÉTODOS

Com base nos dados meteorológicos coletados na estação do Centro de Ciências Agrárias e Biológicas da UFG - Campus de Jataí, a temperatura média anual oscila em torno dos 22,2°C, com máximas médias de 24,4°C nos meses mais quentes, e mínimas médias de 18,2°C nos meses mais frios do ano. A precipitação anual média é de 1.609 mm (valores correspondentes aos anos de 1980 a 2001), com período chuvoso se estendendo de outubro a abril, e período seco correspondente aos meses de junho a agosto, onde a precipitação mensal é inferior ou igual ao dobro da temperatura. A umidade relativa do ar varia de 49 a 80%.

A avaliação comparativa da arborização urbana, foi baseada em um mapeamento georeferenciado contendo todas as quadras da cidade de Jataí, confeccionado pela prefeitura municipal em programa AutoCad, subdividindo as quadras em três tratamentos de acordo com o padrão de construção civil adotado: 1. alto/médio; 2. simples e 3. precário. Para cada um dos tratamentos foi analisada a arborização urbana de 30 quadras, escolhidas de forma aleatória, independente do bairro, totalizando 90 quadras avaliadas ao longo da cidade de Jataí. Os dados foram coletados em março e abril de 2007.

Para a correta obtenção dos dados, foi realizada a observação e registro fotográfico das árvores previamente indeterminadas, presentes nas calçadas das quadras. Os indivíduos arbóreos plantados foram identificados e algumas informações foram registradas: 1. porte arbóreo (pequeno ou médio/grande porte) possibilitando avaliar se a planta é indicada ou não para arborização urbana; 2. fitossanidade (sadia, doente ou com poda radical); 3. local do plantio (em frente a residência, repartição pública ou comércio); 5. posição na calçada (meio-fio, centro ou parede), possibilitando avaliar a interferência do tronco ou ramos da árvore no trânsito de pedestres.

O número de árvores plantadas por quadra, além do número de espécies arbóreas levantadas em cada um dos tratamentos foi registrado possibilitando, junto com as demais informações relacionadas acima, analisar estatisticamente os dados. Assim, análises de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), baseado em frequência de ocorrência, e análises de variância (ANOVA), baseado em comparação de médias entre os três tratamentos, foram realizadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No calçamento das 90 quadras urbanas amostradas em Jataí, foram registrados 1046 indivíduos arbóreos distribuídos em 87 espécies. Apenas quatro quadras não tiveram plantas registradas (03 no tratamento 3 e 01 no tratamento 2). O número médio de árvores variou significativamente entre os tratamentos, baseado no teste de ANOVA (tabela 1), sendo que o tratamento 1 apresentou 41,0% e o tratamento 3, 24,2% do total de indivíduos. Isso mostra uma maior preocupação de moradores de quadras com alto e médio padrão construtivo, com relação à ornamentação e amenização climática em frente às suas residências. Outro fator que merece destaque refere-se às más condições do calçamento, especialmente nas quadras com padrão construtivo precário, o que pode desestimular ou impossibilitar a população aí residente a plantar árvores em frente de suas casas.

Tabela 1. Valores médios  $\pm$  desvios padrão de cada um dos três tratamentos avaliados na cidade de Jataí, GO. Onde as análises de variância (ANOVA) indicaram diferenças significativas entre os tratamentos, as médias seguidas de letras são significativamente diferentes em testes de Tukey.

ANOVAS	Tratamentos		
	Alto/médio N = 30	Simple N = 30	Precário N = 30
$F_{(2,87)}$			
4,02	14,3, $\pm$ 7,8	12,1 $\pm$ 10,2	8,4 $\pm$ 5,7
P	a	ab	b

Das 1046 árvores registradas, 93,8% estão plantadas em frente às residências. A espécie mais utilizada na arborização da cidade foi a *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (oiti), contribuindo com 28,4% de todos indivíduos registrados. Outras nove espécies mais

utilizadas na arborização da cidade estão listadas na tabela 2. Embora seja uma liana (planta com hábito trepador), a espécie *Quisqualis indica* L. (jasmim-da-índia) foi considerada no estudo, devido à sua ampla utilização. Essa espécie foi encontrada principalmente no tratamento 3 (68,1%) e é usada para formação de caramanchões na frente das casas. Pode-se supor que o menor tamanho de lotes e casas no padrão construtivo precário, faz com que os moradores desses locais utilizem esses caramanchões como uma varanda alternativa, o que funcionaria como uma 'extensão da residência' e serviria para amenizar a temperatura nos dias mais quentes.

Tabela 2. Principais espécies encontradas na arborização urbana da cidade de Jataí, GO. O número de indivíduos para cada espécie é apresentado para cada tratamento. Número total de indivíduos e espécies registrados nas 90 quadras avaliadas também são apresentados no final da tabela.

Nome Científico	Nome Vulgar	Tratamento			Total
		Alto/Médio	Simples	Precário	
<i>Licania tomentosa</i> (Benth.) Fritsch	oiti	139	102	56	297
<i>Schinus molle</i> L.	chorão	46	19	0	65
<i>Duranta repens</i> L. var. <i>aurea</i> Hort.	pingo-de-ouro	27	16	12	55
<i>Tibouchina granulosa</i> (Desr.) Cogn.	quaresmeira	39	13	3	55
<i>Senna</i> sp		1	47	0	48
<i>Quisqualis indica</i> L.	jasmim-da-índia	3	12	32	47
<i>Ficus benjamina</i> L.	ficus	14	18	14	46
<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack.	murta	11	16	15	42
<i>Terminalia catappa</i> L.	sete-copas	4	9	13	26
<i>Paquira aquatica</i> Aubl.	monguba	10	7	8	25
Total de indivíduos		429	364	253	1046
Total de espécies		40	54	49	87

No tratamento 3 foram encontradas várias espécies frutíferas, como manga, caju, goiaba, limão, acerola, entre outras. Essas árvores frutíferas representaram 17% da arborização total nas 30 quadras amostradas. Esse resultado sugere uma provável preferência dos moradores locais por plantas que irão gerar não só ornamentação, mas também algum tipo de alimento. Além disso, espécies de grande porte e, portanto, menos indicadas para a arborização como *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf. (flamboyant) e *Terminalia catappa* L. (sete-copas) foram encontradas em maior número no tratamento 3. Por outro lado, espécies de pequeno e médio portes como *Duranta repens* L. var. *aurea* Hort. (pingo-de-ouro), *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (quaresmeira), *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. (flamboyant-mirim) e *Callistemon viminalis* (Sol. ex Gaertn.) G. Don ex Loud. (calistemon) foram mais frequentes no tratamento 1. Da mesma forma, 74,1% das oito espécies de palmeiras registradas em todo o levantamento foram registradas no tratamento 1. Em geral, palmeiras são bastante ornamentais e apropriadas ao paisagismo e à arborização urbana, sendo encontradas em viveiros por preços muitas vezes pouco acessíveis, dependendo da espécie. Esses dados evidenciam maior adequação no plantio e melhores condições de elaboração de um paisagismo em áreas com alto e médio padrão construtivo ao longo da cidade, proporcionado por uma melhor renda per capita da população nessas quadras de Jataí.

A frequência de plantas utilizadas na arborização entre os três tratamentos, em função da posição na calçada, mostrou diferenças significativas através do teste de  $\chi^2$  (tabela 3). O tratamento 1 teve um número de árvores acima e abaixo do esperado ( $P < 0,001$ ) no meio-fio e no centro da calçada, respectivamente. Ao passo que o tratamento 3 mostrou resultados significativamente opostos ( $P < 0,001$ ). Esses achados reforçam os problemas encontrados na adequação do plantio em calçadas das quadras com padrão construtivo precário na cidade. Isso porque a correta arborização urbana deve sempre ser feita no meio-fio do calçamento, no sentido de otimizar o fluxo de pedestres. Ou ainda,

dependendo da espécie e da largura da calçada, a arborização pode ser feita satisfatoriamente no limite da casa com a calçada.

Tabela 3. Distribuição de frequência de árvores para os três tratamentos em relação ao posicionamento na calçada, Jataí, GO. Obs: frequência observada. Esp: frequência esperada.

Posição na calçada	Alto/Médio		Simples		Precário		$\chi^2$	P
	obs	esp	obs	esp	obs	esp		
Centro	38	109	92	79	127	69	94,73	<0,001
Meio-fio	296	213	154	155	53	135	81,73	<0,001
Parede	43	55	28	40	60	35	22,63	<0,001
Totais	377	377	274	274	240	240		

## CONCLUSÃO

De maneira geral, visualmente, hoje é nítida a carência ou a inadequação de árvores plantadas em alguns setores da cidade de Jataí. Os resultados obtidos constataram diferenças marcantes na quantidade e na qualidade das árvores plantadas em quadras de diferentes padrões construtivos. Foi encontrada maior adequação da arborização urbana em quadras de nível social mais elevado (alto e médio padrão construtivo) do que em quadras compostas por populações menos instruídas e/ou com menor poder aquisitivo (precário padrão construtivo).

Este estudo pode dar suporte aos órgãos públicos regionais, como a Prefeitura Municipal e a Universidade Federal de Goiás, no sentido de desenvolverem projetos de educação ambiental visando uma maior conscientização da população para a importância da arborização na melhoria da qualidade de vida. Num segundo momento, permitirá e incentivará a realização de campanhas de plantio de árvores, incluindo doação de mudas, principalmente nas escolas públicas do município. Tais campanhas permitirão instruir a melhor forma de plantio e escolha de mudas apropriadas, além da manutenção das mesmas após a maturação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIR, S. & MISGAV, A. A framework for street tree planning in urban areas in Israel. **Landscape and urban Planning**. Amsterdam: Elsevier, 1990.
- RESENDE, A.P.S. **O programa de compatibilização da arborização urbana com redes de energia elétrica da CEMIG**. In 1º Encontro para Conservação da Natureza, Viçosa, MG. Anais... CMCN/DEF/UFV. p.336-339, 1997.
- SILVA, E.M.; SILVA, A.M.; MELO, P.H.; BORGES, S.S. & LIMA, S.C. Estudo da arborização urbana do Bairro Mansur na cidade de Uberlândia-MG. **Caminhos de Geografia** 3(5): 73-83, 2002.

## PALAVRAS-CHAVES

Arborização urbana; inventário de arborização; paisagismo urbano.

## **Le centre d'intérêt dans la perception du paysage des voyageurs étrangers du XIX<sup>ème</sup> siècle passés par l'île de Santa Catarina pendant leurs voyage autour du monde.**

Alves, Schirley Fátima Nogueira da Silva Cavalcante<sup>1</sup>; Luginbuhl, Yves<sup>2</sup>; Paiva, Patricia Duarte de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bolsista Pos Doutorado Jr. FAPEMIG, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP – 37 200 000. Tel: 35 3829 1781. E-mail: [sfnasca@terra.com.br](mailto:sfnasca@terra.com.br); <sup>2</sup> Pesquisador do CNRS e fundador do LADYSS Université de Paris 1 - , 2 rue Valette, 75005 Paris. Tel: 55 331 44 07 76 05 E-mail: [luginbuh@univ-paris1.fr](mailto:luginbuh@univ-paris1.fr); <sup>3</sup> Professora Associada de Floricultura e Paisagismo, bolsista CNPq, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP- 37 200 000. Tel : 3829 1786. E-mail: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br)

### **Introduction**

Le déménagement du cours portugais de la métropole vers la colonie, en 1808, a comme conséquence l'ouverture des ports brésiliens, rendant possible, aux expéditions scientifiques, de pénétrer dans le territoire brésilien.

Ainsi, dès le début du XIX<sup>ème</sup> siècle, arrivent au Brésil toutes sortes de voyageurs, tels que des naturalistes dont l'intérêt pour la nature tropicale est manifesté, des diplomates, commerçants, artistes, aventuriers, touristes et ingénieurs. Parmi ces voyageurs, il faut mettre en valeur les hommes éclairés, originaires des classes bourgeoises et aristocratiques, désireux de jouir esthétiquement la nature.

Belluzzo (1994) a établi la comparaison entre la pratique du voyage en Italie et le voyage au Brésil. En Italie, le voyage qui, depuis la Renaissance, était un rêve pour les humanistes, cherchaient les signes de la civilisation classique et d'une culture artistique idéalisée. Ce voyage en Italie est comparé par cet auteur avec le voyage de Humboldt en Amérique. Accompagné de Bonpland, tous deux étaient à la recherche des grandes civilisations précolombiennes, à la recherche des signes d'une civilisation éteinte. Toutefois, comme la réalité rencontrée en Colombie ne pouvait pas suivre ce modèle, Humboldt a pu surpasser ses attentes et a construit le modèle humboldtien de voyages en Amérique. Belluzzo (1994) compare encore l'atlas pittoresque de Humboldt et Bonpland des années 1814 et 1819 à l'atlas du voyage au Brésil de Spix et Martius, dont les visées avaient pour paramètres un savoir scientifique.

Même si la vision Humboldtienne possède un crible scientifique, elle est chargée aussi des sens métaphysiques. Selon Luginbuhl (1989) Humboldt voit dans le paysage un reflet de l'âme humaine, et cette question révèle aussi du paysage état d'âme.

Cette étude a comme objectif identifier le centre d'intérêt dans la perception du paysage des voyageurs étrangers du XIX<sup>ème</sup> siècle passés par l'île de Santa Catarina pendant leur voyage autour du monde, sont -ils : krusenstern, Lisiansky, Langsdorff, Mawe, Golovnin, Porter, Kotzebue, Chamisso, Choris, Duperrey et Lesson.

Parmi le matériel existant sur les récits des voyageurs, les récits les plus nombreux datent de la période du XIX<sup>ème</sup> siècle, en raison du déménagement de la cour portugaise au Brésil. Cette période est la plus intéressante pour ce travail, car, d'après Belluzzo (1994), les expéditions du XIX<sup>ème</sup> siècle furent des événements qui ont éveillé l'intérêt de leurs contemporains et ont créé des motifs poétiques pour les peintres de paysage. Dans ce sens, la période même a été créatrice de nouveaux regards, engendrant de nouveaux modèles d'appréciations, basés sur l'esthétique occidentale. De plus, selon Luginbuhl (1989) les récits des voyageurs du XIX<sup>ème</sup> siècle furent des lieux d'inspiration des paysagistes en Europe.

### **Méthodologie**



La littérature laissée par ces voyageurs étrangers du XIX<sup>ème</sup> siècle ont été étudiées dans ce travail, dans la perspective de trouver leur centre d'intérêt dans le paysage de l'île de Santa Catarina.

Selon chaque voyage et chaque voyageur les perceptions enregistrées, se sont accumulées au cours du temps.

Cette étude débute par la recherche des voyageurs étrangers qui sont passés par l'île de Santa Catarina au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle et qui ont laissé textes sur leur impression du lieu. Dans cette perspective, le chemin suivi est de rechercher le sens paysager appréhendé par les voyageurs dans leurs récits. Dans ce travail, a été fondamental le recueil de Haro (1996), dans lequel apparaissent, en langue portugaise, les parties des récits des voyageurs étrangers référents à l'île de Santa Catarina.

Comme l'analyse du regard des voyageurs étrangers compte une dimension à la fois historique et socio-géographique, il a été important analyser l'évolution dans le temps des représentations du paysage de ces personnages d'une part, et d'autre part si leur regard est marqué par leur moment de vie, comme leur profession ou leur pays d'origine. Dans ce contexte, il a été nécessaire étudier dans quel contexte ces voyageurs sont arrivés dans l'île de Santa Catarina.

## Résultats et discussion

Le centre d'intérêt des voyageurs dans la perception du paysage a été remarqué sur plusieurs aspects, d'abord selon l'objectif et la condition de ses voyages outre leurs sensibilité.

Krusenstern, Lisiansky et Langsdorff, ont participé à l'expédition du Tsar Alexandre I<sup>er</sup> en 1803. Les commandants de cette expédition étaient les Russes Krusenster et Lisiansky. Leurs objectifs étaient d'exploiter le nord de l'océan Pacifique, d'établir des relations diplomatiques avec le Japon et de maintenir le commerce des peaux avec le Nord.

Krusenstern et Lisiansky portent un grand intérêt pour la politique, le commerce et la géographie. Langsdorff montre dans la description de son premier voyage sur l'île de Santa Catarina, outre sa vision de médecin et de naturaliste, l'aspect du comportement social, culturel, économique, politique et religieux de la Ville Desterro. Ses écrits décrivent aussi les habitudes alimentaires, l'architecture, les aspects sanitaires et des informations sur les formations professionnelles des habitants. Dans un certain regard, Santa Catarina a été pour Langsdorff un petit échantillon de ce qu'il pourrait rencontrer au Brésil. Ce premier voyage avait motivé son retour. Prenant la direction d'une grande expédition de 17 000 Km en terres brésiliennes, entre 1824 et 1829, il souhaitait documenter la flore, la faune et les habitudes culturelles, produisant un document de grande valeur historique.

L'Anglais John Mawe a passé 15 ans de sa vie en voyages maritimes. Lorsqu'il arrive sur l'île de Santa Catarina, il est enchanté par le panorama grandiose et pittoresque qui contraste avec les plaines infinies et dépourvues de forêts de Buenos Aires. Mawe, qui s'intéressait toujours à la minéralogie, en particulier aux pierres et métaux précieux, évoque au sens large un regard critique et contemplatif sur l'île de Santa Catarina.

Malgré quelques références à la nature dans leurs récits, Golovnin n'intègre pas de sensibilité dans sa représentation du paysage, et comme son compatriote Krusenstern, il s'intéresse surtout à décrire les facilités et les difficultés à trouver du bois pour réparer le bateau et des provisions pour continuer le voyage. Peut-être cette expérience négative de Golovnin est due à une caractéristique personnelle: un individu qui n'accompagnait pas les mouvements philosophiques de son temps. Sans doute aussi, les conditions psychologiques – son échec de la traversée du Cap Horn - ne favorisaient pas la contemplation.

L'officier américain David Porter, dans les années 1812, 1813 et 1814, fut le Capitaine de la Frégate "Essex". Durant ce voyage, il est passé par l'île de Santa Catarina en janvier 1813.

Le russe Kotzebue avait déjà participé à la première l'expédition du Tsar Alexandre I<sup>er</sup> en 1802 avec Krusenstern. En 1815, il fut le commandant de la deuxième expédition du Tsar Alexandre I<sup>er</sup> autour du monde. Au cours de ce voyage, en janvier 1816, Kotzebue est passé à Santa Catarina, accompagné par les naturalistes Chamisso et Choris, (Haro, 1996). Comme c'était la deuxième fois qu'il abordait l'île de Santa Catarina et comme, lors de la première expédition, il eut comme compagnons les naturalistes, Tilesius et Langsdorff, il estima que ces faits l'avaient influencé dans son appréciation de ce lieu. Quand Kotzebue évoque son étonnement et son admiration pour la richesse de la nature de l'île Santa Catarina, il se montre un homme sensible par rapport à l'appréciation de la nature.

Chamisso, était le naturaliste français qui accompagne Kotzebue dans cette expédition autour du monde. Sa perception paysagère de l'île de Santa Catarina se présente sur les caractéristiques des modèles bucoliques pour les bourgs et sublime pour la nature. La Ville Desterro n'a été pas perçue par lui dans le sens paysager, la nature étant son plus grand intérêt.

Duperrey était un célèbre navigateur français. Durant son voyage autour du monde, il a séjourné sur le port l'île de Santa Catarina afin de réparer son bateau, y restant 14 jours. Il est arrivé à Santa Catarina juste au moment de la proclamation de l'indépendance du Brésil (Haro, 1996). Il présente un texte détaillé de la ville, comme les bâtiments les plus importants et des scénarios créés par les coutumes des habitants

Lesson, naturaliste de l'expédition commandée par Duperrey, présente un regard plutôt critique sur la société brésilienne.

D'entre les perceptions de chaque voyageur a propos du paysage ils ont été trouvés deux concepts : celui de pays, ou il y a le manque d'appréhension esthétique dans leurs regard, et le concept de paysage, où il est présent cet intérêt esthétique. Alors dans le deuxième cas, il a eu la construction des modèles paysagers bucolique, pittoresque et le sublime de la grandeur nature.

Dans le premier cas, celui du concept de pays, ils ont été présents Krusenstern, Golovnin et Duperrey. Sur l'aspect d'une appréhension esthétique, l'étude des récits de Krusenstern permet affirmer qu'il n'a pas créé de modèles d'appréciations paysagères de la nature dans le sens sublime de l'île de Santa Catarina. Dans la ville, il remarque le grand contraste social, support qui permet d'imaginer un paysage urbain aussi tranché. Le paysage de l'île de Santa Catarina sur le regard de Krusenstern en résultait alors un pays composé par une agriculture de subsistance, formant un paysage proche du pittoresque à la place de campagnes productives. Golovnin aussi n'a pas décrit l'île dans le sens paysager, pour lui les montagnes sont couvertes de forêts vierges, où il est impossible de transiter et qui sont habitées par des serpents et des bêtes féroces. Ce manque de sensibilité met l'île de Santa Catarina, vis-à-vis du regard de Golovnin, dans l'état primitif du pays ; ainsi, comme la montagne citée par Roger (1994), c'était un "très mauvais pays" au regard de Montesquieu. Duperrey a été le premier voyageur à présenter intérêt pour la ville, mais la notion de paysage urbain n'existait pas encore en occident, selon Dantec (1996), il apparaît dans la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et sera traité par la première fois en Occident par les yeux visionnaires des impressionnistes Baudelaire, Rimbaud, Pissaro, Sisley, Degas ou Caillebotte. Certes, longtemps encore la notion de paysage rural ou sauvage restera dominante parmi les géographes et dans l'esprit du public. Alors, il n'a pas perçu le paysage dans l'île de Santa Catarina.

Dans le modèle bucolique, il y a la perception paysagère de Chamisso dont les caractéristiques de ce modèle se présentent pour les bourgs.

Le modèle pittoresque est présent Mawe, qui décrit les plages et les baies ornées de petites maisons parsemées de potagers formés des bananiers, orangers, ou encore ces plantations de café et de manioc qui dominant le paysage perçu par ce voyageur, évoquant le modèle du paysage pittoresque de l'île de Santa Catarina. David Porter, qui montre une sensibilité paysagère par rapport aux plages et aux baies ornées de petites maisons entourées

de potagers, évoquant le modèle du paysage pittoresque de l'île de Santa Catarina, qui dans un certain sens représente l'assurance du lieu et l'harmonie entre l'homme et la nature. Et Kotzebue, que dans sa vision de l'ensemble, c'est le modèle du paysage pittoresque, représenté par la maison de campagne et ses alentours potagers, composés par les bananiers, les cocotiers et les caféiers, qui éveille en lui la dimension paysagère de l'harmonie entre l'homme et la nature, où prédomine la simplicité.

Langsdorff présente la province de Santa Catarina comme un lieu de nature fertile et abondante. Son regard évoque le paysage pittoresque des petites fermes outre le paysage grandeur nature des forêts. Ce dernier, qui peut être aussi désigné sublime, le troisième modèle paysager trouvé dans cette recherche a été présent dans les récits de Chamisso, Lisiansky et Lesson.

Chamisso a comme perception paysagère sublime pour la nature de l'île de Santa Catarina. La Ville Desterro n'a été pas perçue par Chamisso dans le sens paysager, la nature étant son plus grand intérêt.

Lisiansky évoque une série de descriptions détaillées qui forment des images paysagers dans lesquelles la nature apparaît peu à peu accompagnée de merveilles, inattendues, évoquant le sens d'un paysage composé par une nature sublime.

Lesson développe sa vision de la nature dans une combinaison entre le scientifique et le romantique. Sa description passe d'un regard, qui s'attarde sur les formes, dans la forêt, à un regard, qui montre la réalité sociale, plongeant dans les relents de misère de la société de l'île de Santa Catarina. Bien que sa vision soit plus réaliste que romantique, il partage les mêmes motifs paysagers que les autres naturalistes, la grandeur nature.

Dans le cas des voyageurs étrangers, dont la plupart sont passés sur l'île de Santa Catarina à la première moitié du XIX<sup>ème</sup> siècle, le modèle paysager perçu reste dans le domaine du pittoresque des alentours de la ville et du sublime des forêts.

## **Considérations Finales**

Ainsi dans l'évolution de l'histoire du regard des voyageurs passés par l'île de Santa Catarina pendant leur voyage autour du monde, ceux qui ont développé dans leurs récits des compositions qui amènent à la formation de modèles paysagers de cette île, ont été: Lesson, Duperrey, Langsdorff, Mawe, Porter et Kotzebue. Ces voyageurs cités ont porté, au travers d'un regard formé de l'ensemble de petites maisons avec leurs haies composées de plantes tropicales et leurs potagers, une sensibilité liée au modèle paysager pittoresque. Lisiansky et les naturalistes Lesson, Langsdorff et Chamisso ont centré l'intérêt de leur regard sur la nature, plus précisément sur la forêt, où le modèle sublime de la grandeur nature a été développée et où le motif de l'entrelacement des parasites et des épiphytes a été le plus exploité.

L'étude de ces informations, à travers le prisme du paysage, cherche à rapporter leurs perceptions de la formation du paysage de l'inconscient collective des habitants de l'île de Santa Catarina. Les aperçus de ces voyageurs tournaient généralement autour des considérations telles que la morale du peuple de l'île de Santa Catarina, la grande nature, la beauté des deux baies, la politique et le commerce local.

## **Bibliographie**

BELLUZZO, A.M.M. **O Brasil dos Viajantes** - A construção da Paisagem. São Paulo: Metalivros, 1994, 192 p. Volume III

DANTEC, J. **Textes essentiels. Jardins et Paysages**. Textes critiques de l'antiquité à nos jours. Paris: Larousse, 1996, 635 p.

HARO, M.A.P. **Ilha de Santa Catarina**: relatos de viajantes estrangeiros nos séculos XVIII et XIX. Florianópolis: Editora da UFSC, Editora Lunardelli, 1996, 236 pp.

LUGINBUHL, Y. **Paysages, textes et représentations du paysage du siècle des Lumières à nos jours**. Barcelone, Industria Gráfica Domingo, 1989, 268 p.

ROGER, A. **Histoire d'une passion rhétorique**. In: Roger (dir) La théorie du paysage en France (1974-1994). Paris: Champ Vallon, 1995. 463p

MOTS-CLÉS

Paysage; histoire; voyageurs étrangers; île de Santa Catarina.

## **La perception du paysage panoramique de l'île de Santa Catarina au XIX<sup>ème</sup> siècle comme fait favorisant du sens de beauté dans la caractérisation de ses paysages.**

Schirley Fátima Nogueira da Silva Cavalcante Alves<sup>1</sup>; Yves Luginbuhl<sup>2</sup>; Patricia Duarte de Oliveira Paiva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bolsista Pos Doutorado Jr. FAPEMIG, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP – 37 200 000. Tel: 35 3829 1781. E-mail: [sfnasca@terra.com.br](mailto:sfnasca@terra.com.br); <sup>2</sup> Pesquisador do CNRS e fundador do LADYSS Université de Paris 1 - , 2 rue Valette, 75005 Paris. Tel : 55 331 44 07 76 05 E-mail: [luginbuh@univ-paris1.fr](mailto:luginbuh@univ-paris1.fr); <sup>3</sup> Professora Associada de Floricultura e Paisagismo, bolsista CNPq, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP- 37 200 000. Tel : 3829 1786. E-mail : [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br)

### **INTRODUCTION**

*Panorama* selon Belluzzo (1994) est un mot d'origine grecque qui signifie la "vision du tout" ; il a été aussi adopté pour désigner l'ample étendue du champ perceptif. William Gilpin au XVIII<sup>ème</sup> siècle, selon Conan (1992) inventa en Angleterre la pratique du voyage pittoresque, qui allie la promenade a pied, le goût savant pour la composition de dessins de paysage et l'imagination pittoresque dans la découverte de successions de panoramas. Des la renaissance les Italiens ont manifesté le souci de créer autour de leur villa à la campagne des véritables panoramas destinés à faire valoir la puissance du maître du lieu.

Durant le "Grand Tour" de la Méditerranée au XIX<sup>ème</sup> siècle, l'image panoramique a été à la mode. D'après Luginbuhl (1993), ces panoramas ont été photographiés par des artistes connus pour leur maîtrise de cette technique nouvelle et révolutionnaire. Le panorama allait ainsi participer intensément à la socialisation des paysages. Mais le panorama n'est pas resté seulement dans le domaine de la photographie, cette mode a été aussi un modèle de regard, de la peinture et de descriptions des voyageurs.

Dans la perspective de trouver et identifier plusieurs modèles de représentations du paysage de l'île de Santa Catarina dans le XIX<sup>ème</sup> par les voyageurs étrangers, cette étape de la recherche a eu comme objectif concentrer dans l'identification du sens panoramique, ce regard tournant que donne l'appréhension du tout.

L'importance de cette dimension paysagère dans l'île de Santa Catarina est historique, esthétique et paysagère. Le XIX<sup>ème</sup> siècle compte la vogue de ce modèle paysager, et comme l'analyse du regard des voyageurs étrangers compte une dimension à la fois historique et socio-géographique la présence du modèle panoramique dans leurs récits évoque l'insertion sociale et temporelle de ces voyageurs vis a vis les idées de leur époque. La présence du regard panoramique dans la représentation du paysage de l'île de Santa Catarina devient importante car il y a dans ce cas l'insertion de ce modèle entre ceux qu'ont été reconnue dans son histoire de la représentation du paysage, une insertion historique de ce modèle esthétique, qui ne serait pas évidente sans une constatation scientifique.

Cet étude laisse évident deux sens très intéressants de la voie panoramique de l'île de Santa Catarina, d'abord l'arrivé par la mer des voyageurs, laissant évident cette appréhension de grand étendu, et après la constatation de l'existence de la pratique social de l'époque de se promener sur la cime des collines, évoquant l'existence du loisir de l'appréciation visuelle panoramique d'entre les habitants. Ce constat éclaircie le modèle panoramique comme l'un des éléments fondamentaux de la formation du concept paysager du conscient collectif des habitants de l'île de Santa Catarina

### **METHODOLOGIE**

L'étude des récits des voyageurs étrangers du XIX<sup>ème</sup> siècle passés par l'île de Santa Catarina pendant leur voyage autour du monde, a eu comme principal source les données du

recueil de Haro (1996), Dans ce travail, a été fondamental le recueil de Haro (1996), dans lequel apparaissent, en langue portugaise, les parties des récits des voyageurs étrangers référents à l'île de Santa Catarina. Haro (1996). Cette analyse a centré son intérêt dans les modèles paysagers présents dans les récits des voyageurs.

Selon Luginbuhl (2006), cette méthode d'analyse subjective ne peut pas donner lieu à une évaluation quantifiable, elle révèle des valeurs esthétiques, phénoménologique ou symboliques. Ces méthodes se fondent sur l'hypothèse selon laquelle les paysages présentent des valeurs qui sont attribués soit par les populations concernées, soit par des artistes ou écrivains qui ont repéré des attributs esthétiques ou symboliques des paysages dans leurs œuvres. Les méthodes utilisées pour identifier ces valeurs Ces sources de représentation du paysage constituent un moyen de comprendre la relation d'une partie de la société au paysage, à un moment donné de l'histoire.

Considérant modèle, (Hachette) ce qui sert d'exemple, ou ce sur quoi on règle sa conduite, le modèle paysager selon Roger (1994) devient d'abord le regard sur un territoire forgé par la culture pictural et littéraire. D'entre ces modèles seront trouvés le panoramique, le pittoresque et le sublime.

Ce travail a trouvé dans l'interprétation des récits des voyageurs qu'ont passé par l'île de Santa Catarina le modèle du paysage panoramique. Dans cette perspective l'île de Santa Catarina, présente plusieurs points de vues qui offrent ce champ de vision qui donne la possibilité d'avoir la perception panoramique. Ce travail a traité séparément les panoramas d'après le point de vue de sa perception :

- d'abord le panorama de l'île perçu à partir de la mer, qui coïncide avec la première impression sentie par ces voyageurs, lors que le bateau arrive dans le canal qui sépare l'île du continent, où ont été trouvés les voyageurs Langsdorf, Mawe, Chamisso, Duperrey et Lallement.
- ensuite l'appréhension panoramique perçu à partir de la cime des collines, proportionné par l'habitude des habitants et des voyageurs de sortir en promenades aux alentours de la ville pour jouir ces paysages et par la topographie accidentée de l'île, dont les points les plus hauts coïncident avec une ligne longitudinale centrale, favorisent l'appréhension de grandes étendues.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Dans l'analyse des récits de voyageurs deux moments montrent cette appréhension de leurs regards, un lors qu'ils arrivent dans le chenal qui sépare l'île du continent et perçoivent l'île à partir de la mer, et l'autre dans leurs promenades aux cimes des collines.

Au XIX<sup>ème</sup> siècle l'arrivée des voyageurs était toujours en bateau, par la mer. Ce moment proportionnait l'appréhension de l'île à partir de la mer, point de vue que favorise l'ample étendu et conséquemment la perception panoramique. D'entre les voyageurs étudiés ont été sélectionnés ceux dont les sentiment se sont déclenchés a ce moment de l'arrivé, sont ils : Langsdorff, Mawe, Chamisso et Lallement.

L'aperçu général de l'île et du continent en face, à partir de la mer est évoquée par Langsdorff (1803) dans les termes suivants:(...) *"Nous avons aperçu le long de la côte, plusieurs rades et îles, et la terre se trouve abondamment arrosée par une grande quantité de sources, ruisseaux, torrents, fleuves et marais. Les abords sont en partie sableux et inaccessibles, limités par rochers aussi inaccessibles à cause de la fureur des brise-lames. (...)"* Cette construction perceptive du voyageur montre une vision de l'ample étendue renforçant le champ perceptif panoramique.

Mawe (1807), autre voyageur arrivé à Santa Catarina, a eu aussi cette perception panoramique de l'île à partir de la mer. Ses descriptions laissent entrevoir que le panorama perçu de la mer l'émeuvent : *"(...) nous avons croisé l'île de Santa Catarina à l'aube du 29 septembre et nous sommes restées émerveillés devant le panorama magnifique et pittoresque*

*de ses rochers coniques, émergeant, abrupts, de la mer, embellie, au fond, par les grandes montagnes du Brésil, recouvertes de forêts. (...)*. Dans son texte, le sens panoramique est mélangé au pittoresque, celui qui pourrait être peint : en même temps, le sublime est aussi mentionné. L'utilisation de ces adjectifs apporte une valeur esthétique au lieu, contribuant à la formation du paysage de l'île de Santa Catarina.

Chamisso (1815), comme les deux autres voyageurs, partage le même sentiment à propos de la vue panoramique de l'île à partir de la mer. Il reste impressionné lorsque son bateau arrive dans le canal qui sépare l'île du continent. Dans sa description, l'harmonie des lignes et la profusion de la nature forment une vision panoramique comblée du sens de paysage pittoresque: Duperrey (1822), de la même façon que les trois autres voyageurs cités, transmet son appréhension panoramique de l'île de Santa Catarina lorsqu'il arrive dans le canal situé entre l'île et le continent. Sa perception est centrée sur la nature sauvage, décrite comme imposante et pittoresque, avec une végétation qui reçoit l'adjectif de "superbe".

Lallement (1858) évoque aussi lors de son arrivée une appréciation panoramique : "*(...) beau panorama, le lac, la montagne, la forêt, les plantations, tous également beaux (...)*". Après un voyage troublé par des tempêtes et de grandes vagues, ce panorama offert par l'île lui fait oublier immédiatement tous les mauvais moments du voyage.

Le deuxième moment dont l'appréhension panoramique a été perçue dans les récits des voyageurs a été celui de leurs promenades aux cimes des collines. Durant le XIX<sup>ème</sup> siècle, la ville Desterro avait comme l'un de ces attraits des excursions sur la cime de la "Serra do Sinal", la colline la plus proche de la ville. Cette pratique évoque l'existence d'une appréciation de cette appropriation visuelle de l'île en tant que loisir. Ainsi Lallement (1858), lors d'une promenade sur la cime de la "Serra do Sinal", rend possible un essai de création d'un itinéraire panoramique à partir des vues qui y sont proportionnées. La première vue, du haut de la "Serra do Sinal", vers l'ouest, établit un rapport sur le panorama suivant: "*(...) De l'autre côté du lac, sur la terre ferme, bleuissait le labyrinthe des montagnes. Des centaines de pentes raides, grandes et petites, pénétraient la mer, murmurant ou rugissant(...)*" Vers l'Est, Lallement (1858) évoque le panorama d'une plaine très étendue, qui commence dès la mer comme un marais, puis se transforme en terrain de cultures. Pour ce voyageur, ce marais est "*(...) cerclé d'un magnifique amphithéâtre de montagnes qui embrassent le panorama fermé de l'île dans les directions Est et Sud. (...)*".

## **CONSIDERATIONS FINALES**

Sachant que les aperçus de Langsdorff (1803), Mawe (1807), Chamisso (1815) et Duperrey (1822), résultant de leurs premières impressions de l'île, bénéficient du sens panoramique, que le mot paysage associé au sens pittoresque a été employé par les trois premiers voyageurs et que Langsdorff (1803) a relié cette vue au paradis, ces descriptions, malgré des contenus et des intérêts différents, ont comme point commun l'exaltation à la grandeur nature. Ainsi il est possible d'affirmer que le premier paysage créé de l'île de Santa Catarina a été le panorama perçue à partir de la mer et composé par la grandeur de la nature.

La pratique de se promener sur la cime des collines, afin de se régaler de différentes vues panoramiques offertes, était une réalité depuis le XIX<sup>ème</sup> siècle chez les habitants de l'île continuant jusqu'à nos jours.

Sur ce même thème, on peut actuellement voir sur l'île la création de points d'arrêts sur les routes, comme des restaurants, dans des lieux où il est possible d'appréhender le panorama. Ainsi les récits de voyageurs laissent clairement entendre que l'existence de la pratique des excursions sur les cimes des collines, dans un certain sens a créé chez les habitants et les voyageurs l'habitude d'appréhender des paysages, favorisant la création du sens de beauté dans la caractérisation des paysages de l'île de Santa Catarina.

## BIBLIOGRAPHIE

BELLUZZO, A.M.M. **O Brasil dos Viajantes** - A construção da Paisagem. São Paulo: Metalivros, 1994, 192 p. Volume III

CONAN, M. **Eloge du palimpseste**. In: Lassus (Org) Hypothèses pour une troisième nature. Londres: Russel Press, Nottingham et Quadracolor, 1992, 140 p.

HARO, M.A.P. **Ilha de Santa Catarina**: relatos de viajantes estrangeiros nos séculos XVIII et XIX. Florianópolis: Editora da UFSC, Editora Lunardelli, 1996, 236 pp.

LUGINBUHL, Y. **Sur les traces du paysage méditerranéen, in La Méditerranée Assassinée** - Peuples Méditerranéens - n° 62-63 , janvier-juin 1993, pp 89-96 p. 95

LUGINBUHL, Y. **Paysage et identification, qualification et objectifs de qualités**. In : Paysage et développement durable : les enjeux de la Convention européenne du paysage. Strasbourg : Editions du Conseil de l'Europe, 2006, pp107-126.

ROGER, A. **Histoire d'une passion théorique**. In: Cinq propositions pour une théorie du paysage. Seyssel, Editions Champ Vallon, 1994, p. 109 –123.

## MOTS-CLÉS

Paysage; panorama, histoire; voyageurs étrangers; île de Santa Catarina.



## Les concepts pays et paysage dans les sens paysager de l'île de Santa Catarina : son émergence et développement.

Alves, Schirley Fátima Noqueira da Silva Cavalcante<sup>1</sup> ; Luginbuhl, Yves<sup>2</sup> ; Paiva, Patricia Duarte de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bolsista Pos Doutorado Jr. FAPEMIG, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP – 37 200 000. Tel: 35 3829 1781. E-mail: [sfnsc@terra.com.br](mailto:sfnsc@terra.com.br); <sup>2</sup> Pesquisador do CNRS e fundador do LADYSS Université de Paris 1 - , 2 rue Valette, 75005 Paris. Tel : 55 331 44 07 76 05 E-mail: [luginbuh@univ-paris1.fr](mailto:luginbuh@univ-paris1.fr); <sup>3</sup> Professora Associada de Floricultura e Paisagismo, bolsista CNPq, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP- 37 200 000. Tel : 3829 1786. E-mail : [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br)

### INTRODUCTION

Selon Berque (1995) toute société humaine a un environnement, qu'elle perçoit, qu'elle symbolise et qu'elle aménage. Rares pourtant sont les civilisations où cet environnement a fait l'objet des représentations explicitement paysagères, c'est-à-dire comportant dans leurs vocabulaires un mot pour dire "paysage" et dans leurs expressions picturales un genre où la figuration de l'environnement soit instituée en un thème propre, désigné justement par le terme paysage. Dans l'histoire de la civilisation il y a eu que deux civilisations qui aient développé notablement une esthétique du paysage : la Chine et l'Europe. Dans ce deuxième la notion de paysage est apparue avec la modernité, moment du monde où l'homme s'est érigé en sujet devant la nature traité comme objet.

Le mot paysage d'après Roger (1999), apparaît à la fin du XV<sup>ème</sup> siècle, en néerlandais, *landschap*, pour désigner, non pas un lieu naturel, mais un tableau, les premiers tableaux de paysage. Le paysage est l'artialisation du pays, une portion de territoire esthétiquement neutre, avant sont artialisation<sup>1</sup>. Roger (1999) affirme que le pays est le degré zéro du paysage, c'est ce qui précède l'artialisation, directe ou indirecte.

Berque (1995), évoque qu'il est indispensable la distinction entre environnement et paysage, le premier est le côté factuel d'un milieu, et le paysage est le côté sensible de cette relation.

Luginbühl (1995) évoque qu'en Europe les premières représentations de paysages sont picturales et littéraires, où une élite artistique ou savante artialise ou métaphorise la vision du pays et en fait un objet de contemplation ou d'identification.

Dans la perspective de trouver représentations du paysage de l'île de Santa Catarina dans le XIX<sup>ème</sup> siècle ils ont été analysés les récits des voyageurs étrangers krusenstern, Lisiansky, Langsdorff, Mawe, Golovnin, Porter, Kotzebue, Chamisso, Choris, Duperrey et Lesson qu'ont passés par l'île pendant cette période . Cette analyse a révélé dans la perception de ces voyageurs étrangers une oscillation entre la notion de pays et de paysage de l'île de Santa Catarina.

### METHODOLOGIE

Concentrant la recherche dans les récits des voyageurs étrangers passés par l'île de Santa Catarina durant le XIX<sup>ème</sup> , le recueil de Haro (1996), dans lequel apparaissent, en langue portugaise, les parties des récits des voyageurs étrangers référents à l'île de Santa Catarina. Haro (1996) a été fondamental. Le concept de paysage adopté a été le sens esthétique défini par Roger (1999). Partant de ce concept esthétique, l'analyse des récits des voyageurs étrangers a cherché trouver d'entre eux un groupe, qu'il y a eu la

---

<sup>1</sup> L'artialisation, selon Roger, est un processus artistique qui tranforme et embellit la nature, soit directement, soit indirectement, au moyen de modèles.

perception de paysage dans ce sens esthétique à propos de l'île de Santa Catarina. Dans cette perspective ont été trouvés les autres voyageurs dont leurs récits n'évoquent pas d'appréciation esthétique, qui comptent surtout un regard soit d'intérêt commercial ou même politique. Comme spectateurs, ces derniers voyageurs n'interagissent pas en émotion avec les scénarios proposés par l'île. Ainsi, ce travail a interprété comme "pays" les textes dont les descriptions de l'île n'ont été pas développées dans le sens esthétique. Prendre le sens de pays comme départ devient intéressant dans la mesure où il laisse évident, au cours de la période historique étudiée, l'évolution d'une appréciation des facteurs objectifs et subjectifs, dans une trajection<sup>2</sup> dans l'espace des milieux<sup>3</sup>, à partir de son degré zéro. Comme le sens du paysage, pour une large part, est une élaboration culturelle, ce travail a essayé d'éclaircir l'émergence et le développement du sens paysager dans l'île de Santa Catarina, partant de la théorie de l'artialisation de Roger.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Selon Roger (1995), le premier paysage apprécié en Occident est tout à fait déterminé : "l'invention de citadins, un lieu domestiqué, cultivé, paisible, un pays sage, paysage". En Europe, à l'aube de Lumières, l'expérience montagnarde était toujours négative, et, comme témoigne le journal de Montesquieu : "la montagne est un très mauvais pays". Au Brésil, dans l'île de Santa Catarina, l'appréciation des récits des voyageurs évoque deux perceptions de la montagne ; celle d'un cadre vert, le paradis des plantes et des animaux, mais aussi celle de Golovnin qui perçoit la montagne comme l'habitation des bêtes et des serpents vénéreux et une entrave au développement de la civilisation et de la communication avec l'intérieur.. " (...) *Les montagnes et les vastes forêts vierges inaccessibles, habités par des bêtes et des serpents vénéreux, empêchent la communication avec l'intérieur.*(...) " Alors dans ce cas le concept de perception utilisé par Golovnin a propos de la montagne de l'île de Santa Catarina a été celui de pays.

La campagne a été un point commun entre les descriptions des voyageurs, soit par son aspect environnemental ou par son sens productif, elle a été toujours un motif intéressant de décrire. Les voyageurs Lesson, Krusenster, Golovnin, Mawe et Duperrey ont décrit la campagne de l'île de Santa Catarina, sans aborder le sujet du sentiment de la nature ou de la notion de paysage. Ainsi la campagne de l'île a été abordée par ces voyageurs comme "pays", ou selon Roger, degré zéro du paysage.

La description de Lesson (1822) évoque l'île comme un pays en retard, selon ce voyageur, même l'agriculture de l'île de Santa Catarina, appréciée par la plupart des voyageurs, était aussi en retard. Ainsi, d'après la vision de Lesson (1822), l'île de Santa Catarina était un pays insalubre et en retard, caractéristiques que Roger a nommé degré zéro du paysage, c'est-à-dire "pays".

Krusenster (1803), Golovnin (1808), Mawe (1807) et Duperrey (1822), perçoivent l'île comme un pays fécond. Cette fécondité, annoncée par le regard des voyageurs cités, a une position d'interface entre les notions, éthique de pays et esthétique de paysage, produisant alors deux jugements: le bon et le beau. La fécondité a été toujours associée au caractère religieux. Ainsi, selon Grimal (1974), dans les jardins de l'Antiquité, il était naturel que les divinités de la fécondité possèdent auprès de leurs sanctuaires un peu de terre, de bois, ou une plantation sacrée pour manifester leur puissance. La fécondité apporte aussi l'idée du paradis, cité tant dans la Bible que dans le Coran. Il existe ainsi une

---

<sup>2</sup> La trajection, selon Berque, est la conjonction du physique et du phénoménal, engendrant la mouvante réalité de l'écoumène

<sup>3</sup> Selon Berque, c'est la relation d'une société à son environnement.

relation conceptuelle entre la fécondité, la terre promise, et les divinités, et cette relation apporte à la fécondité les sens du bon et du beau.

Les voyageurs, Krusenstern (1803), Golovnin (1808) et Mawe (1807) ont évoqué la campagne de l'île, comme une terre féconde et productrice, Duperrey (1822) étant l'unique voyageur de ce groupe qui a émis un regard esthétique, développant sa description de l'île dans le thème de la beauté.

Krusenstern (1803) évoque la fécondité de la nature quand il cite la grande production des fruits dans l'île, mais à aucun moment, il ne fait allusion aux paysages qui résultent de ces activités. Lorsque Krusenstern (1803) signale les conditions excellentes de production agricole et Golovnin (1808) note avec admiration la bonne production de l'île tant en qualité qu'en quantité des produits du pays, ces voyageurs ne développent pas leurs textes jusqu'aux paysages produits par ces cultures, ils créent le sens de pays fertile. L'admiration de ces voyageurs reste sur la fertilité du sol et conséquemment sur sa productivité. En effet, cette exaltation des voyageurs par rapport aux qualités du sol de l'île se trouve proche d'une appréciation esthétique. Le fait que l'île ait d'excellentes conditions de production agricole à leurs yeux, provoque l'admiration. Celle-ci ne lui donne pas la condition d'un paysage mais crée un mythe : celui du pays fertile.

Ce mythe renforce l'identité de la nature harmonieuse et idéale, où tout ce qui se plante produit pour toujours, sans aucun effort. Selon Reis (2002), dans le cas de l'île de Santa Catarina, l'activité agricole a occupé toutes les terres cultivables. Les sols de l'île étaient vraiment très fertiles, mais seulement au début des plantations ; car comme ce sont des sols très ras, ils s'appauvrissent rapidement. Ce mythe de la terre fertile, qui a fini par stimuler des pratiques appauvrissant le sol, est resté dans le concept des producteurs ruraux de l'île longtemps. L'augmentation de la surface destinée à l'agriculture y a été présente jusqu'au déclin de cette activité dans l'île, à partir des années 50. Ainsi, ces zones, auparavant occupées par des cultures, ont été envahies par la végétation secondaire, retrouvée aujourd'hui à divers stades d'évolution.

Mawe (1807) évoque aussi le mythe du pays fertile dans son texte lorsqu'il cite la variété et la qualité de la production agricole de l'île. Krusenstern (1803), Golovnin (1808) et Mawe (1807) décrivent l'île comme un pays fertile, qui possède une terre féconde et productrice, ce qui rend évident le manque d'une appréciation esthétique de leurs récits. Duperrey (1822), dans le même sens, décrit la fertilité "admirable" des sols humides. Mais Duperrey (1822) développe aussi le thème de la beauté dans son récit (...) *La papaye, le bananier, le cocotier garnissent les haies de ces jardins et l'ananas s'exhibe avec splendeur (...) le caféier embellit les propriétés (...)*. Ce texte de Duperrey (1822) reste comme le premier indice de formation d'un regard esthétique sur la campagne local, supposant ainsi l'éveil de son paysage.

Lesson (1822) voit la campagne comme un pays humide, insalubre et en retard. Krusenstern (1803), Golovnin (1808) et Mawe (1807) l'évoquent comme une terre féconde et productrice, mais n'abordent pas le sujet du sentiment de la nature dans leurs récits. C'est la campagne de l'île comme pays producteur qui est abordé par ces voyageurs. Déjà Duperrey (1822) a éprouvé un regard esthétique, développant le thème de la beauté dans sa description de la campagne de l'île.

Comme déjà cité, la fécondité des champs, inspirant les voyageurs à traiter du sujet des pays féconds, s'est développée entre la notion éthique de pays et esthétique de paysage. L'association de la fécondité au caractère religieux des jardins de l'antiquité et à l'idée du paradis forme une relation conceptuelle de la fécondité avec les sens du bon et du beau. Lorsque les voyageurs évoquent la fécondité de la nature, les sens de la beauté et de la bienveillance à l'esprit de ces environnements sont plus accentués. En effet, dans ce cas, il n'y a plus l'idée d'une campagne productive, liée au concept d'une production économique. L'aspect traité dans le cas de la fécondité de la nature est l'appréciation

gratuite de l'île sur ses divers aspects, comme la diversité des oiseaux et leurs plumes aux couleurs variées, la richesse de la mer, la profusion végétale, la fertilité du sol ou encore la permanence de la présence des fleurs durant toute l'année. Cette admiration gratuite, presque contemplative, provenue de la fécondité de la nature touche un sentiment proche de l'esthétique, laissant l'idée de la nature plus liée au concept du paysage. Dans ce sens, la nature de l'île commence à éveiller le sentiment esthétique à travers les récits des voyageurs, évoquant, dans leurs compositions, des modèles associés aux jardins et esthétiquement admirables.

Ainsi la nature de l'île à travers les récits des voyageurs commence à éveiller le sentiment esthétique. Chamisso (1815) appréhenda cette nature, avec exubérance, harmonie et fécondité. Duperrey (1822) admire la diversité naturelle observée autour de l'île. Kotzebue (1815) attribue à la formation de ce cadre une nature féconde aussi dans la mer, lorsqu'il cite la variété d'animaux aquatiques. Mawe (1807) et Lallement (1858) contribuent au concept de la nature féconde avec la conception enchantée d'un jardin au printemps éternel. Même Lesson (1822) aborde la profusion des plantes et la diversité des oiseaux donnant un support à l'élaboration d'une nature féconde.

### **CONSIDERATIONS FINALES**

Dans cette logique de l'interprétation de la société de l'île de Santa Catarina sur son environnement, inscrite dans une trajectoire de deux siècles, il est possible d'affirmer que, jusqu'à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, les habitants comptaient avec ce que Berque a appelé proto-paysage ou alors ils avaient une appréciation que toute société fait de l'environnement qui est le sien et qui concerne la vue sans pour autant impliquer une esthétique proprement paysagère.

Durant le XIX<sup>ème</sup> siècle, il a été clair dans les récits des voyageurs que la campagne, la ville et la forêt, étaient des domaines traités comme "pays".

Alors les récits des voyageurs évoquent dans leurs compositions la profusion de la nature et l'idée de fécondité. Ces arrangements esthétiquement admirables sont associés à la formation des modèles donnant le sens paysager à la nature de l'île.

### **BIBLIOGRAPHIE**

BERQUE, A. **De paysage en outre pays**. In: Roger (dir) La théorie du paysage en France (1974-1994). Paris: Champ Vallon, 1995. 346p

GRIMAL, P. **L'art du Jardin**. Paris: P.U.F., 1954, Collection Que sais je?, 127 p.

HARO, M.A.P. **Ilha de Santa Catarina; relatos de viajantes estrangeiros nos séculos XVIII et XIX**. Florianópolis: Editora da UFSC, Editora Lunardelli, 1996, 236 pp.

LUGINBUHL, Y. **Le paysage rural**. In: Roger (dir) La théorie du paysage en France (1974-1994). Paris: Champ Vallon, 1995. 313p

ROGER, A.; Lassus, B.; Donadieu, P.; Conan, M.; Berque, A.. **La mouvance du jardin au territoire cinquante mots pour le paysage**. Paris: Editions de la Villette, 1999, 100 p.

REIS, A.F. **Permanências e transformações no espaço costeiro: formas e processos de crescimento urbano-turístico na ilha de Santa Catarina**. Tese de doutorado da FAUUSP, São Paulo: 2002, 287 p.

### **MOTS-CLÉS**

Paysage ; pays ; histoire; voyageurs étrangers; île de Santa Catarina.

## Caracterização morfológica e fertilidade em *Ensete* sp.

Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>1</sup>, Everton Hilo de Souza<sup>2</sup>, Taliane Leila Soares<sup>3</sup>,  
Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>1</sup>, Sebastião de Oliveira e Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, BA, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br; <sup>2</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, e-mail: hilosouza@gmail.com; <sup>3</sup>Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq e-mail: talialeila@gmail.com.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Ensete* pertence à família Musaceae, ordem Zingiberales, e é constituído por sete espécies de origem africana e asiáticas: *E. gillettii*, *E. glaucum*, *E. homblei*, *E. perrieri*, *E. superbum*, *E. ventricosum* e *E. wilsonii*. As plantas são monocotiledôneas, herbáceas e perenes, sendo chamadas de "falsas bananeiras" devido às semelhanças morfológicas com as bananeiras, embora não pertençam ao gênero *Musa* (Birmeta et al., 2004a).

A *Ensete* representa 65% da produção agrícola do sul da Etiópia. O rizoma e o pseudocaulo são altamente ricos em carboidratos e utilizados na alimentação para um quarto da população humana que habita o sul e o sudoeste da Etiópia. Além de fonte alimentar, é economicamente utilizada com várias finalidades, devido ao potencial ornamental e produção de fibras para utilização em artesanatos, entre outros (Tsegaye e Struik, 2002; Shigeta, 1990).

A *Ensete* sp. é um diplóide com  $n = 9$  cromossomos, enquanto as espécies de *Musa* têm diferentes níveis de ploidias (diplóide, triplóide e tetraplóide) com  $n = 9, 10, 11$  e  $14$  (Birmeta et al., 2004a; Bezuneh, 1971). Dentre as espécies do gênero, a *Ensete ventricosum* (Welw.) Cheesman é a mais importante sócio economicamente em alguns países da África e Ásia (Ploetz, et al., 2007).

Um dos entraves ao cultivo e melhoramento genético das ensetes é a dificuldade na germinação de sementes e o seu longo período vegetativo. Para alguns autores a dificuldade na germinação é explicada pela consistência e forma irregular das sementes. Ainda assim, a maioria das espécies selvagens e as poucas plantas cultivadas são produzidas através de sementes em condições naturais. Apenas algumas ensetes dosmeticadas são propagadas vegetativamente (Constantine, 2006; Birmeta et al. 2004b; Shigeta 1990). Dados da literatura enfocam que o final do ciclo de vida deste gênero acontece após o florescimento, o que leva de 9 a 14 anos (Birmeta et al., 2004a). Isso é explicado pelo fato dessas plantas serem monocárpicas, ou seja elas florescem apenas uma vez e morrem após a frutificação (Birmeta et al., 2004b).

Um acesso do gênero *Ensete* foi introduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical há 25 anos pelo pesquisador Dr. Kenneth Shepherd, e permaneceu sem frutificar e perfilhar por todo este período. Este pode ser o único exemplar do gênero no País. Com a ocorrência do florescimento, vários ensaios vêm sendo realizados na Embrapa, incluindo polinização com diferentes parentais masculinos, avaliação da germinação de grãos de pólen *in vitro* de flores hermafroditas e masculinas, germinação *in vitro* dos embriões zigóticos, além da adequação de protocolo de micropropagação através de gema floral e embriogênese somática, uma vez que a planta não produziu mudas por perfilhamento. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar morfológicamente uma *Ensete* sp. e avaliar sua fertilidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal foi utilizada uma planta do gênero *Ensete*, sendo avaliados os seguintes caracteres morfológicos nos estádios de florescimento e colheita do cacho: altura da planta, diâmetro do pseudocaule, peso do cacho, número total de frutos, peso médio dos frutos, comprimento e diâmetro dos frutos.

Para a realização da polinização foram utilizados grãos de pólen de cinco parentais masculinos de bananeira diplóide, selecionados por apresentar características ornamentais e/ou alta viabilidade de pólen, sendo um genótipo de *Musa balbisiana* (Butuham) e quatro de *Musa acuminata* (Monyet, um híbrido ornamental, 0116-01 e 1304-06), além da autopolinização utilizando grãos de pólen das flores hermafroditas da *Ensete* sp. Duas pencas não polinizadas foram utilizadas como controle, para avaliar a eficiência da polinização.

As inflorescências femininas foram protegidas com sacos de polietileno um dia antes da antese (abertura floral), para evitar possíveis contaminações por pólen trazido por insetos. A polinização iniciou-se no dia da abertura das brácteas, quando estas se apresentaram receptivas, ou seja, com os lóbulos livres do estigma, encontrando-se, portanto, aptas para a polinização e fecundação. Foi polinizada uma penca por dia até a emissão da última penca.

As flores dos parentais masculinos foram coletadas na antese e utilizadas para a realização de polinização manual, sendo o pólen distribuído na superfície do estigma. Após a polinização, o cacho foi devidamente identificado e protegido com saco de polietileno até a emissão da última penca, para evitar a entrada de formigas e outros insetos que pudessem trazer pólen de outras plantas ou até mesmo retirar o pólen recém distribuído.

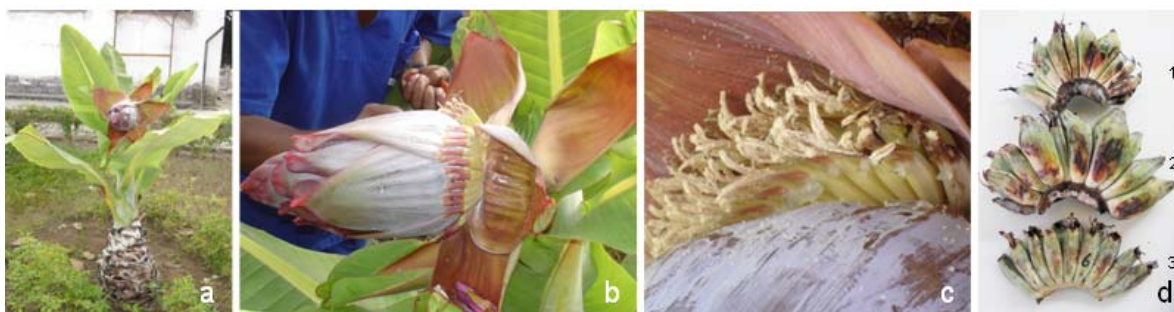
Para análise da viabilidade, os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores recém-abertas, corados com carmim acético a 2% e observados ao microscópio ótico. O percentual de fertilidade do pólen foi estimado pela taxa entre o número de grãos de pólen corados (viáveis) e não corados (não viáveis).

Para o teste de germinação *in vitro*, os grãos de pólen, foram inoculados em 40 ml de meio de cultura contendo 15% de sacarose, 0,01% de ácido bórico, 0,01% de nitrato de potássio, 0,03% de nitrato de cálcio e 0,02% de sulfato de magnésio, solidificado com 0,8% de ágar, previamente distribuído em placas de Petri, subdivididas em quadrantes, cada uma representando uma repetição, totalizando 8 repetições para cada pH estudado (5,8, 7,0 e 8,0). As placas foram mantidas em condições controladas de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , no escuro por 24 horas até a realização da contagem dos grãos de pólen germinados.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A *Ensete* sp. avaliada apresenta porte baixo e atingiu 84 cm na época da emissão e colheita do cacho. A inflorescência é composta de flores femininas, hermafroditas e masculinas, com produção de elevada quantidade de pólen nas flores hermafroditas e masculinas (Figura 1). Mesmo após a emissão do cacho, não ocorreu perfilhamento. O cacho produzido apresentou um peso total de 4,05 kg, contendo 22 pencas e 119 g por penca. Um total de 351 frutos foi obtido, com uma média de 16 frutos por penca.

Entre os parentais masculinos utilizados para polinização houve diferenças na resposta para as variáveis comprimento e diâmetro dos frutos, em consequência da formação de sementes. Entretanto, as maiores médias para as variáveis comprimento, diâmetro dos frutos e peso das pencas foi observada no cruzamento *Ensete* x 0116-01. As menores médias para as variáveis supracitadas foram obtidas na ausência de polinização (controle) e no cruzamento *Ensete* x híbrido ornamental (designado Binésia) (Tabela 1).



**Figura 1.** a) Planta do gênero *Ensete*. b) Detalhe da polinização. c) Inflorescência hermafrodita com elevada quantidade de pólen. d) Frutos resultantes de flores femininas não polinizadas (1), auto-polinizadas (2) e (3) polinizadas com o diplóide 1304-06.

**Tabela 1.** Médias do comprimento, diâmetro dos frutos e peso da penca em *Ensete* sp., nas diferentes polinizações.

Polinização	Comprimento (cm)	Diâmetro (cm)	Peso Penca (g)
Ensete x 0116-01	5,50 a	2,45 a	171,0
Ensete x Butuham	4,80 b	1,70 cd	72,0
Ensete x Ensete	4,73 bc	2,29 ab	164,0
Ensete x 1304-06	4,39 bc	1,46 cd	77,0
Ensete x Monyet	4,36 bc	1,78 bc	50,0
Ensete x Binésia	4,17 c	1,18 d	59,0
Controle	3,50 d	1,40 cd	52,0
MÉDIA	4,58	1,92	119,0
CV	9,0	20,8	-

Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação ao estudo de germinação *in vitro* de pólen, observou-se que as mais altas percentagens de germinação foram obtidas em grãos de pólen provenientes de flores hermafroditas, com um valor médio de 16,73 % de germinação, em relação aos oriundos de flores masculinas, que apresentaram 0,73%.

De maneira geral, os meios de cultura ajustados para 7,0 e 5,8 proporcionaram em média melhor germinação do pólen para ambos os tipos de flores (Tabela 2). Entretanto, as mais altas percentagens de germinação foram obtidas com os grãos de pólen oriundos de flores hermafroditas inoculadas em meio de cultura com pH ajustado para 7,0 (20,77%) seguido pelo pH 5,8 (20,4%). A baixa percentagem de germinação provavelmente foi devida à super hidratação do pólen, já que muitos deles apresentaram-se estourados (Figura 2b). A ocorrência de hidratação excessiva do pólen favoreceu a incidência de contaminantes (fungos e bactérias).

**Tabela 2.** Germinação de grãos de pólen oriundos de flores masculinas e hermafroditas em diferentes pHs.

pH	Germinação de grãos de pólen (%)	
	Flores masculinas	Flores hermafroditas
5,8	0,55aA	20,40bA
7,0	1,04aA	20,77bA
8,0	0,61aA	9,04bB
Média	0,73	16,73
CV	29,3	

Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.





**Figura 2.** Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen de Ensete. a) Flores hermafroditas, grãos de pólen germinados; b) Ecloração de grãos de pólen (seta); c) Coloração com carmim acético dos grãos de pólen viáveis.

A freqüente ecloração dos grãos de pólen e tubo polínico é a maior dificuldade nos trabalhos de cultura de pólen (Baloch *et al.*, 2001). De acordo com Pio *et al.* (2002) os grãos de pólen se rompem devido, entre outros fatores, à alta umidade e à variação do meio, ocasionando pelo aumento da pressão osmótica e de baixa resistência da parede celular.

A coloração com carmim acético revelou 100% de grãos de pólen viáveis, resultado esse obtido tanto para flores masculinas como para flores hermafroditas (Figura 2c). Esses resultados indicam a necessidade de ajuste no meio de cultivo a fim de permitir a germinação in vitro dos grãos de pólen viáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALOCH, M. J.; LAKHO, A. R.; BHUTTO, H.; SOLANGI, M. Y. Impact of concentrations on in vitro pollen germination of Okra, *Hibiscus esculentus*. **Journal of Biological Sciences**, v. 4, n.4, p. 402-403. 2001.

BEZUNEH, T. The role of musaceae in ethiopian agriculture I. The genus *Ensete*. **Acta Horticulturae**, v.1, n.35, 1971.

BIRMETA, G. NYBOM, H. BEKELE, E. Distinction between wild and cultivated enset (*Ensete ventricosum*) gene pools in Ethiopia using RAPD markers. **Hereditas**, v.140 p.139-148. 2004a.

BIRMETA, G. Genetic Variability and Biotechnological **Studies for the Conservation and Improvement of *Ensete ventricosum***. 2004a. 37 p. Dissertação (Doutorado em Ciências Agrárias), Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp/Suecia. 2004b, 37p.

CONSTANTINE, D. Propagating ornamental Musaceae. **Plantsman**. p.110-113. 2006.

PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; PIO, R.; PASQUAL, M. Utilização de ácido bórico na germinação de pólen de citros. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, **XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura em 2002**. Anais...SBF, Belém, p. 1-4. 2002.

PLOETZ, R. C.; KEPLER, A. K.; DANIELLS, J.; NELSON, S. C. Banana and plantain-na overview with emphasis on Pacific island cultivars. **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**. v.1. 2007.



SHIGETA, M. Folk in-situ conservation of Ensete (*Ensete ventricosum* (Welw) E.E. Cheesman): towards the interpretation of indigenous agricultural science of the ari. Southwestern Ethiopia. **Agrican Study Monographs**. v.10 n.3, p.93-107, 1990.

TSEGAYE, A.; STRUIK, P. C. Analysis of enset (*Ensete ventricosum*) indigenous production methodos and farbased biodiversity in major ensete-growing regions of southern Ethiopia. **Experimental Agriculture**, v.38 p.291-315, 2002.

TSEGAYE, A.; STRUIK, P. C. Growth, rsdiation use efficiency and yield potential of enset (*Ensete ventricosum*) at diffetent sites in southern Ethiopia. **Annals of Applied Biology**, v.142 p.71-81, 2003.

UDE, G., PILLAY, M., NWAKANMA, D., TENKOUANO, A. Analysis of genetic diversity and sectional relationships in *Musa* using AFLP markers. **Theoretical Applied Genetics** v. 104, p. 1239-1245. 2002.

#### **PALAVRAS-CHAVES:**

*Ensete* sp., Musaceae, viabilidade do pólen, polinização.

## **Caracterização física e germinação de sementes de grama das espécies Bermudas (*Cynodum dactylum* (L.) Pers.), Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.), São Carlos (*Axonopus compressus* Beauv.) e Japonesa (*Zoysia tenuifolia* Trin.).**

Otoniel Magalhães Morais<sup>2</sup>; Alcebíades Rebouças São José<sup>2</sup>; Bruno Vinícius Castro Guimarães<sup>1</sup>; Tânia Gonçalves Barbosa<sup>1</sup>; Leilanne Silva Lopes<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Laboratório de Tecnologia e Produção de Sementes, Estrada do Bem-Querer, Km 04, Bairro Universitário - CEP 45.083-900 Vitória da Conquista, Bahia, Brasil, email: [bvinicius20@yahoo.com.br](mailto:bvinicius20@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Laboratório Tecnologia e Produção de Sementes - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; <sup>3</sup>Eng<sup>a</sup>. Agrônoma. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB.

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil iniciou o cultivo de grama por volta de 1974, apesar, de ainda não figurar entre os principais produtores mundiais, tem mostrado que este é um setor em pleno crescimento. A manutenção adequada de um gramado proporciona um ambiente confortável e seguro para diversão e prática de esportes, além de contribuir para a melhoria da qualidade do ar, reduzindo a tendência de aquecimento global e captar em até seis vezes mais a quantidade de água da chuva que outras culturas (Villas Boas & Godoy, 2007).

O conhecimento das condições ideais para a germinação da semente de uma determinada espécie é de fundamental importância, principalmente, pelas respostas diferenciadas que ela pode apresentar em função de diversos fatores, como viabilidade, dormência, condições de ambiente, envolvendo água, luz, temperatura, oxigênio e ausência de agentes patogênicos, associados ao tipo de substrato para sua germinação (Brasil, 1992; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000). As sementes apresentam capacidade germinativa em limites bem definidos de temperatura, característicos para cada espécie (Bewley & Black, 1994). Portanto, é de interesse ecofisiológico a determinação das temperaturas mínima, ótima e máxima. A temperatura ótima propicia uma porcentagem de germinação máxima em menor espaço de tempo (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). As temperaturas máximas aumentam a velocidade de germinação, mas somente as sementes mais vigorosas conseguem germinar, determinando assim uma redução na porcentagem de germinação. Temperaturas mínimas reduzem a velocidade de germinação e alteram a uniformidade de emergência, talvez devido ao aumento do tempo de exposição das sementes ao ataque de patógenos (Carvalho & Nakagawa, 2000).

A temperatura afeta tanto a capacidade de germinação das sementes quanto o total de sementes germinadas. As sementes germinam dentro de uma faixa determinada de temperatura, que é típica para cada espécie. Existem, portanto limites mínimos e máximos, assim como uma faixa térmica ótima, dentro da qual se obtém a maior porcentagem de germinação (Bewley & Black, 1994). Acima e abaixo desta faixa o processo germinativo é mais lento e a porcentagem pode ser menor. A temperatura ótima e a extensão de sua faixa determinam a distribuição geográfica da espécie (Labouriau, 1970). O efeito da temperatura pode ser avaliado a partir de mudanças ocasionadas na porcentagem e na velocidade de germinação, afetando, segundo Carvalho & Nakagawa (1988), as reações bioquímicas que determinam o processo germinativo. Para a maioria das espécies a temperatura ótima de germinação, na qual a maior germinabilidade é alcançada em menor tempo (Mayer & Poljakoff – Mayber, 1989), encontra-se entre 15 e 30°C.

Sementes de alto potencial fisiológico são essenciais para que ocorra germinação rápida e uniforme (Marcos Filho, 1999), devido à sua influência no desempenho inicial das plantas. Esse efeito pode ser reduzido com a evolução do crescimento, afetando ou não a produção, dependendo do órgão da planta explorado comercialmente e do estágio em que é efetuada a colheita (Carvalho & Nakagawa, 2000). Sementes consideradas vigorosas são mais efetivas na mobilização e utilização de suas reservas energéticas (Vieira & Carvalho

1994), como consequência, há maior capacidade metabólica, resultando em maior massa inicial (Dan et al, 1987).

A avaliação da qualidade fisiológica da semente para fins de semeadura em campo e de comercialização de lotes tem sido fundamentalmente baseada no teste de germinação. Pelas condições essencialmente favoráveis de sua condução, o teste de germinação não detecta diferenças mais sutis em termos de deterioração, além de não avaliar o potencial de armazenamento e o desempenho das sementes em condições gerais de campo. Assim sendo, não apresenta sensibilidade suficiente para avaliar o estado fisiológico das sementes (Islam et al, 1973). Contudo, fornecem dados que podem ser utilizados, juntamente com outras informações, para a comparação entre lotes de sementes (Marcos Filho et al, 1987).

O objetivo deste trabalho foi determinar as características físicas e germinativas de quatro espécies de grama.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia e Produção de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista – BA (UESB). Foram utilizadas sementes comerciais de 4 espécies de grama: Bermudas (*Cynodum dactylum* (L.) Pers), São Carlos (*Axonopus compressus* Beauv.), Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.) e Japonesa (*Zoysia tenuifolia* Trin.).

Visando determinar as características físicas e germinativas de quatro espécies de grama, foram realizadas as seguintes determinações:

- a. **Teor de Água das Sementes:** determinada pelo método da estufa a 105°C, durante 24h utilizando 2 amostras por lote (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem.
- b. **Pureza Física:** determinada em uma amostra de 5 gramas de sementes de acordo as recomendações prescritas na Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).
- c. **Peso de Mil Sementes:** determinada em oito amostras de 100 sementes de acordo com as recomendações prescritas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).
- d. **Germinação:** utilizou-se quatro amostras de 50 sementes para cada espécie, semeadas em gerbox, utilizando-se como substrato papel germitest, umedecida com um volume de água de equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato, em temperatura alternada de 20 – 30°C, sendo as avaliações realizadas aos 7 e 21 dias após a semeadura (Brasil, 1992).
- e. **Primeira Contagem da Germinação:** realizado conjuntamente com o teste padrão de germinação. Avaliou-se a porcentagem de plântulas normais aos sete dias após a semeadura.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que se refere ao teor de água das sementes, as espécies Bermudas e São Carlos se destacaram em relação às demais, sendo que o menor teor de água foi apresentado pela espécie Japonesa. Praticamente não houve diferença entre as espécies no tocante a pureza física das sementes, embora a Bermuda tenha se mostrado inferior as demais. A espécie São Carlos foi responsável pelo menor peso de 1000 sementes, seguida da Bermuda. Os menores valores foram obtidos pela Japonesa e pela Esmeralda. No tocante ao vigor, os índices seguiram a seguinte ordem: Japonesa, Esmeralda, São Carlos e Bermudas, esta última com o menor vigor (65%). A germinação final seguiu essa mesma tendência, com os melhores índices sendo observados nas espécies Japonesa, Esmeralda, São Carlos e Bermudas, esta última com a menor germinação. Estes resultados podem ser explicados em função do maior teor de água das sementes de Bermuda e São Carlos, que provavelmente, deve ter contribuído para acelerar a deterioração das sementes destas espécies através do processo de respiração e conseqüente queima de suas reservas. Segundo Marcos Filho (2005), o teor de água das sementes entre 18 e 30% confere

respiração intensa e aquecimento da massa de sementes, deterioração acelerada, níveis mínimos para a atividade de enzimas e, portanto, redução no vigor das sementes.

Tabela 01: Valores médios das características físicas, germinação e vigor de espécies de grammas.

Espécies de grama	Teor de água (%)	Pureza física (%)	Peso de 1000 sementes (g)	Primeira contagem de germinação (%)	Germinação (%)
Bermudas	21,13	97,96	0,3325	65	86
São Carlos	18,62	98,62	0,4440	83	91
Japonesa	9,81	99,41	0,3113	89	93
Esmeralda	14,27	99,19	0,3149	88	93

## CONCLUSÃO

O maior teor de água da espécie Bermudas esteve associado aos menores índices de pureza física, primeira contagem de germinação e germinação final. Os menores teores de água nas demais espécies garantiram melhor vigor, medida através da primeira contagem de germinação, e germinação final.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

DAN, E.L.; MELLO, V.D.C.; WETZEL, C.T.; POPINIGIS, F.; ZONTA, E.P. Transferência de matéria seca como modo de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.45-55, 1987.

ISLAM, A.J.A.; DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Comparison of methods for evaluation deterioration in rice seed. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, v.63, p.155-160, 1973.

LABOURIAU, L. G. On the physiology of seed germination in *Vicia gramínea* Sm. I. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.42, n.2, p.235-262, 1970.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 320 p.

MARCOS FILHO, J. **Testes de Vigor**: Importância e Utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D. e FRANÇA NETO, J.B. Vigor Sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, Comitê de Vigor de Sementes, 218 p. 1999.

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon Press, 1989. 270p.

VILLAS BOAS, R.L.; GODOY, L.J.G. **Produção de grama no Brasil e as pesquisas sobre nutrição e adubação de gramados na Faculdade de Ciências Agrônomicas**.Jornal FCA. disponível em: <[www.fca.unesp.br](http://www.fca.unesp.br)> acesso em 31 de maio de 2007.

Palavras-Chave

Germinação, Vigor, Teor de umidade

## **Produção de mudas arbóreas no estado de Minas Gerais**

Landgraf, Paulo Roberto Correa<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, Alfenas, Fone (35) 3299-3282, e-mail: paulo.landgraf@unifenas.br, <sup>2</sup>Professor do Departamento de Agricultura da UFLA, Fone (35) 3829-1855 email: pdolivei@ufla.br.

As árvores fornecem inúmeros benefícios ao meio ambiente, refletindo na qualidade de vida e humanização das cidades. As árvores amenizam a temperatura através da sombra de suas copas e umidificam o ar por meio da transpiração das folhas; retêm partículas de poeira e de poluição na sua copa; purificam o ar produzindo o oxigênio; reduzem os ruídos e servem de barreira contra os ventos; evitam a erosão, diminuindo o impacto da água da chuva na superfície do solo e fixando a terra através de suas raízes; ordenam a paisagem urbana; fornecem abrigo e alimento à avifauna; transmitem bem estar e equilíbrio psicológico ao homem através das cores de suas folhas, flores e frutos. Com o objetivo de identificar a área de produção de mudas arbóreas no Estado de Minas Gerais foi realizado um estudo nas 10 macrorregiões de planejamento administrativo do Estado: Alto do Paranaíba, Central, Centro-Oeste, Jequitinhonha/Mucuri, Norte, Noroeste, Vale do Rio Doce, Sul, Triângulo e Zona da Mata. Como não foi encontrado nenhum cadastro ou registro dos produtores de mudas arbóreas, a identificação desses foi feita de maneira exploratória, por meio de visitas às áreas produtivas. A produção foi diagnosticada por meio de um questionário, aplicado aos produtores das diferentes regiões do Estado de Minas Gerais, no período de 2003 a 2005. As visitas foram feitas *in loco* nos 853 municípios. Os questionários foram respondidos pelos próprios produtores. As análises foram realizadas levando-se em consideração as respostas contidas nos questionários. Para análise dos resultados utilizou-se estatística descritiva por meio de tabelas de frequência, além de análise estratificada, de acordo com as diferentes macrorregiões de planejamento do Estado de Minas Gerais. Foram encontrados 165 produtores de mudas arbóreas no Estado de Minas Gerais distribuídos nas 10 macrorregiões e ocupando uma área total de produção de 222,09 ha. As mudas são produzidas em saquinhos, no torrão, bandejas e em tubetes, tanto em áreas coberta como em céu aberto.

### **PALAVRAS-CHAVES**

mudas de árvores; mudas arbóreas; produção de mudas.

## Remodelação do jardim do entorno do Edifício Sívio Starling Brandão na Universidade Federal de Viçosa - UFV, MG.

Stringheta, Ângela Cristina Oliveira<sup>1</sup>; Carvalho, Rodrigo Carneiro<sup>2</sup>; Stringheta, Bruno Oliveira<sup>3</sup>; Costa, Alexandre Dourado<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV) Departamento de Fitotecnia. Av. PH Holfs, s/n, Campus Universitário, CEP: 36571-000 [angelaco@ufv.br](mailto:angelaco@ufv.br). <sup>2</sup> Arquitetos. <sup>3</sup> Estudante de Arquitetura PUC- Belo Horizonte. MG.

O Edifício Sívio Starling Brandão abriga hoje os Departamentos de Fitotecnia; Solos; Fitopatologia, e parte do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa-MG.

O desgaste natural e a falta de cuidado com o espaço público em torno do prédio, ao longo dos anos, aliado à expansão do número de cursos e de alunos na UFV resultaram em degradação profunda da área. Estes sinais podiam ser percebidos pelas bicicletas e motos estacionadas ao redor das duas palmeiras arecas (*Dypsis lutescens*) no jardim frontal (em cima do gramado), presença de lixo próximo à rampa principal de acesso, além da manutenção deficiente das diversas plantas arbustivas dispostas em canteiros em formato redondo distribuídos de forma aleatória, semelhante a outros espaços existentes na área central do *campus*.

Ao mesmo tempo, havia uma grande dificuldade dos usuários, em diferenciar os espaços de circulação dos espaços dos canteiros. Solo exposto, concreto, plantas degradadas se confundiam próximo à rampa de acesso ao Prédio.

Durante três semestres consecutivos o edifício foi palco para estudos dos alunos da disciplina de Plantas Ornamentais e Paisagismo do curso de Agronomia. Foram feitos levantamentos florísticos do prédio e de toda a área central do *campus* da UFV.

Através da análise do local e da avaliação dos questionários aplicados ao público, feitas pelos próprios alunos, foram identificados os principais problemas e necessidades dos usuários do prédio. Desta forma, definiu-se a proposta mais adequada e elaborou-se um projeto visando a melhoria estética e funcional da área.

Levando-se em consideração a arquitetura com predomínio de linhas retas e angulosas do prédio e os problemas com a manutenção das áreas ajardinadas, optou-se por: desenhos de canteiros com linhas sinuosas e espécies bem adaptadas à região como a érica e bromélias e outras espécies resistentes como palmeiras e cicas, entre outras.

A vegetação existente foi removida permanecendo apenas o gramado (*Paspalum notatum*) e as palmeiras laterais do gênero *Dypsis* e *Phoenix*.

A nova proposta teve ainda a preocupação de enriquecer a flora do *campus* com a introdução de várias espécies de palmeiras com preferência àquelas ainda não existentes na área. As espécies foram selecionadas segundo critérios de resistência e baixa manutenção o que resultará na sustentabilidade do projeto, com o cuidado de manter uma linguagem coerente com a arquitetura do prédio e com o tratamento paisagístico do *campus*. Como a grande parte do jardim frontal possui topografia regular plana, torna possível o reconhecimento de toda a sua área sem barreiras visuais. A nova proposta objetivou preservar essa liberdade visual uma vez que já é característica do local.

### PALAVRAS-CHAVES

Paisagismo, plantas ornamentais, áreas verdes.

## **A Praça Dr. Augusto Silva, Lavras-MG: uma visão de usos, costumes e regulamentos nas décadas de 1910 e 1920.**

Silva, Alessandra Teixeira<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira Paiva<sup>2</sup>; Tavares, Thaísa Silva <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Professora Substituta da Universidade Federal de Lavras, UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, Lavras Minas Gerais, fone (35) 3829-1781, [alepaisagismo@gmail.com](mailto:alepaisagismo@gmail.com); <sup>2</sup>Professora Associada de Floricultura e Paisagismo, bolsista CNPq, Departamento de Agricultura - UFLA, Caixa Postal 3037, CEP- 37 200 000. Tel : 3829 1786. E-mail : [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br) <sup>3</sup>Eng.º Agrônoma, [thaisastavares@yahoo.com.br](mailto:thaisastavares@yahoo.com.br) ; fone: (35) 3822-4599.

### **INTRODUÇÃO**

Os jardins e parques tiveram suas características ligadas ao pensamento estético nos diversos períodos ao longo da história humana, principalmente no que se refere ao seu planejamento e estrutura para uso público.

Uma dimensão cognitiva do jardim passa ao largo de considerações racionais ou míticas, supondo apenas o reconhecimento de regras criadas e aceitas pela sociedade. Adentrar em um jardim implicava o aceite de regras de um jogo social imposto por uma norma de comportamento refinado. O jardim público era o local de encontros das elites ou dos segmentos derivados, passarela da demonstração, das vaidades expostas das trocas sociais legitimando pelos valores aceitos pelas sociedades que constituíram tais recantos (Segawa, 1996).

Segundo Segawa (1996), para os parques e jardins da cidade de Belém, a administração local editou, em setembro de 1903, um “Regulamento para o serviço no Bosque, Horto e Parques Municipais” no qual pode-se relatar alguns deles: *nos recintos públicos, não se permitia entrada às “pessoas que estiverem ébrias ou disso tenham hábito; os que trajarem indecentemente ou de modo ofensivo ao decoro; cães e outros animais”; estragar as plantas e flores; atirar pedras ou quaisquer outros projéteis; pisar e andar sobre a grama ou penetrar nos grupos de vegetação; permanecer nas sentinas e mictórios mais do tempo preciso para satisfazer as necessidades naturais; fazer algazarras; conduzir-se por palavras e atos de modo ofensivo ao decoro e à moral”. A penalidade por esses vários delitos era multa em dinheiro, expulsão imediata para fora do jardim e pagamento do dano que causar.* Estas regras citadas acima podem ser comparadas ao regulamento da Praça Dr. Augusto Silva, no qual relata também a preocupação por parte do poder municipal em conservar e preservar o espaço público. Na época, alguns segmentos da população reconheceram o valor da praça, pois existia um movimento no sentido da necessidade de uma área verde útil à população.

Os séculos XIX e XX foram decisivos na história da evolução das praças, considerando que a antiga praça passou a ser ajardinada, equipada, pavimentada e tratada com esmero, de modo a abrigar todas as novas modalidades de vida urbana que são então estruturadas (Robba & Macedo, 2003).

A praça, juntamente com as ruas, consiste em um dos mais importantes espaços públicos urbanos da história no país, tendo, desde os primeiros tempos da Colônia, desempenhando um papel fundamental no contexto das relações sociais em desenvolvimento. De simples terreiro a sofisticado jardim, de campo de jogos a centro esportivo complexo, a praça é, portanto, um centro, um ponto de convergência da população que a ela acorre para o ócio, para comerciar, trocar idéias, e ainda, para encontros românticos ou políticos (Adams, 2002; Robba & Macedo, 2003).

As praças são unidades urbanísticas fundamentais para a vida urbana e o seu modo de tratamento e uso indicam o nível de civilidade de seus usuários e o exercício dos direitos e deveres de cidadania nela vivenciados. É pelo uso que as pessoas fazem de uma praça um espaço importante para o seu dia-a-dia e convívio social (Sousa, 2005).

Nesse contexto, objetivou-se resgatar parte da memória e história da Praça Dr. Augusto Silva, que tem uma ligação bastante íntima com o município, visto que este espaço



público além de marco inicial da civilização foi também um local muito freqüentado com grandes celebrações e encontros políticos.

## METODOLOGIA

A cidade de Lavras, MG, está situada na região Sul de Minas Gerais, segundo coordenadas geográficas de 21° 14' 30" de latitude Sul, e de 45°0'10" de longitude Oeste.

A praça Dr. Augusto Silva, situada no município de Lavras, MG, também já foi chamada de Largo da Matriz, Praça Central e Jardim Municipal, tendo sido inaugurada oficialmente em 29 de novembro de 1908, na administração do senhor agente executivo (denominação da época para o cargo de prefeito), coronel Pedro Salles, passando então a ser denominada de Praça Dr. Augusto Silva em homenagem ao ilustre médico lavrense. Visando o embelezamento do Jardim Municipal, o idealizador do jardim, Sr. Bernardino Maceira, elaborou um projeto propondo calçadas cimentadas, que foi apresentado à câmara municipal no dia 15 de julho de 1905, na administração do agente executivo Dr. Álvaro Augusto Andrade Botelho.

Com a finalidade de reunir e elaborar um texto sobre o funcionamento da praça bem como seus costumes e usos, foi realizado um levantamento de documentos históricos, que foram pesquisados na Secretaria Municipal de Obras da Prefeitura Municipal de Lavras, em arquivos do museu Bi-Moreira, localizado no campus histórico da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em acervos particulares e também entrevistas com historiadores, que assim puderam transmitir informações que tiveram como objetivo dar suporte aos documentos estudados nesta pesquisa.

## RESULTADOS

Praça era um lugar para passeio e não apresentava grandes atrações culturais até meados de 1908. Foi a partir daí que surgiu a iniciativa do lavrense e maestro Riciotti Volpe que revolucionou os usos da praça e trouxe grande alegria e diversão ao povo, inaugurando assim um barzinho dentro da praça com comidas típicas e música aos domingos e feriados.

As apresentações eram, em princípio, ambulantes, ou seja, ao som de pianolas tocadas pelo capitão Evaristo Alves de Azevedo ou pelos irmãos, Atilio e Riciotti. Para a exibição dos filmes, o Sr. Riciotti Volpe construiu um pavilhão próximo à praça em comum acordo com a Câmara Municipal. Este cinema foi inaugurado em 12 de junho de 1910. Assim, desde o início do século XX, Lavras já apresentava exibições cinematográficas.

Em relação aos regulamentos, instalou-se na praça uma cerca, com a finalidade de isolar a área e regulamentar o seu uso.

Observa-se na Figura 1, a presença de uma cerca de arame farpado, vista em umas das laterais da praça, e outra no centro da praça, o que foi alvo de muitas críticas da população da época. Este fato foi registrado em artigo do jornal local, que relata profunda consideração ao "jardim público" da cidade, mas, ressaltando a presença da cerca, com os seguintes dizeres:

*... e ali está o jardim com todas as suas utilidades incontestáveis, e, deveras agrada a vista a simetria dos seus canteiros e o trato que elles têm, apesar da cerca de arame farpado que o circunda e que deve ser provisória...*

(O Jardim Público, 1909).



Figura 1: Vista parcial da Praça Dr. Augusto Silva, 1913.

Fonte: arquivos do museu Bi Moreira

A praça era um local ajardinado no qual era constituído por um recinto fechado, cercado com arame e possuía quatro portões, um em cada lateral da praça, sendo estes trancados com cadeado à noite. Além disso, possuía normas de funcionamento, pois se têm relatos de que a praça era fechada às 20 horas, quando tocava o sino da cadeia. Antes do ano de 1910, quando ainda não havia luz elétrica no município, o funcionário da Prefeitura usava um bastão para apagar os lampiões a gás existentes na praça.

Na administração do Dr. Álvaro Augusto de Andrade Botelho, foi instituído um regulamento no qual foi escrito em 12 de dezembro de 1917 e transcrito a seguir:

#### *Regulamento do Jardim da Praça Dr. Augusto Silva*

*Art. 1º. O jardim da Praça Dr. Augusto Silva, entregue ao gozo publico, será aberto todos os dias às 5 horas da tarde e poderá ser freqüentado por todas as pessoas que nelle quizeram entrar, salvo as manifestamente embriagadas e as que não se acharem decentemente vestidas. Entendem-se que pessoas decentemente vestidas as que trouxerem paletós e calças limpas, não sendo exigido que estejam calçadas.*

*Art. 2º. Nos dias comuns o jardim será fechado às 8 horas da noite e nos domingos, dias santificados da Igreja Catholica e de festa nacional o fechamento dos portões será feito às 10 horas. Nas tardes chuvosas não será freqüentado o jardim e quando aconteça sobrevir mau tempo depois de aberto os portões o encarregado os poderá fechar, convidando previamente os passeiantes a retirarem-se.*

*Art. 3º. É prohibido tocar nas plantas e nas flores. O freqüentador do jardim que transgredir a prohibição será avisado pelo encarregado da fiscalização e na reincidência multado em 5\$000.*

*Art. 4º. São prohibidas as correrias de pessoas a pé pelas ruas do jardim, bem como as pessoas de carros ou de bicycletas, excepção feita dos carrinhos de crianças ainda mesmo puxados por animaes.*

*Art. 5º. Os freqüentadores do jardim que se julgarem maltratados pelo pessoal do serviço da fiscalização ou que presenciarem actos de descortezia para com terceiros poderão communicar o facto ao agente executivo para que este providencie pela punição do empregado que faltou á cortezia para com o queixoso ou terceiro.*

*Art. 6º. No caso de algum passeiante se recusar a sahir do jardim à hora do fechamento dos portões o encarregado da fiscalização communicará o facto à policia para providencias.*

*Art. 7º. O encarregado da fiscalização usará como distinctivo da sua função*

*um bonet escuro com as letras C.M.*

*Art. 8º. São revogadas as disposições em contrário.*

(Regulamento, 1917)

O regulamento registra a preocupação, por parte do poder municipal, em conservar e preservar o espaço público. Na época, alguns segmentos da população reconheceram o valor daquela praça pública, pois se pode considerar como marco inicial de um movimento concreto no sentido da necessidade de uma área verde útil para a população. A beleza das flores e das plantas, de modo geral, não poderia transgredir aos olhos dos vândalos, pois a eles uma multa poderia ser aplicada.

Em função de o logradouro ser de chão batido, a presença dos visitantes em dias de chuva dificultaria os acessos que, por sua vez, se transformavam em pisos barrentos. Com relação ao traje imposto para se frequentar a praça, este era bem formal, visto que a mentalidade da população ainda era provinciana. Em se tratando do uso do calçado, nem todas as pessoas o possuíam, razão pela qual as pessoas poderiam estar com uma indumentária descente e sem calçado. É interessante observar que o documento mencionava a existência de flores na praça.

## CONCLUSÃO

Desde o século XIX, o jardim municipal já era um marco da civilização lavrense, pois o casario e as construções coloniais já faziam parte do seu entorno. Após a inauguração do Jardim Municipal, em 1908, ficou registrada a grande preocupação dos governantes em preservar e manter esta praça, visto que até a década de 1930, foram encontrados documentos que comprovam a adoção de posturas políticas que a deixaram, aparentemente, em um estado de conservação.

A praça era um local ajardinado cercado por arame farpado onde se cultivavam várias espécies de plantas, inclusive floríferas. O início da década de 1910 marcou o desenvolvimento cultural naquele logradouro, com diversas apresentações de bandas e retretas, além de exibições cinematográficas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, B. **Preservação urbana: gestão e resgate de uma história.** Florianópolis, SC: UFSC, 2002. 192p.

O JARDIM Público. **O Incentivo**, Lavras, MG, 15 ago. 1909.

REGULAMENTO da praça Dr. Augusto Silva. Lavras, MG, 1917. 1p. Manuscrito.

ROBBA, F.; MACEDO, S.S. **Praças brasileiras.** 2.ed. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003. 311p. (Coleção Quapá).

SEGAWA, H. **Ao amor do público: jardins no Brasil.** São Paulo: Studio Nobel / FAPESP, 1996. 255p.

SOUSA, B. A. de A. **Análise da utilização pelos usuários de duas praças em Betim-MG.** 2005. 53p. (Monografia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

## PALAVRAS - CHAVES

Praças Públicas; Praças; Jardins Históricos; Paisagismo

## POTENCIAL DA PITAYA-DO-CERRADO COMO PLANTA ORNAMENTAL

Junqueira, Keize Pereira<sub>1</sub>; Junqueira, Nilton Tadeu Vilela<sub>1</sub>; Faleiro, Fábio Gelape<sub>1</sub>; Braga, Marcelo Fideles<sub>1</sub>; Sano, Sueli Matiko<sub>1</sub>; Bellon, Graciele<sub>1</sub>; Fonseca, Kênia Gracielle<sub>1</sub>; Lima, Cristiane Andréa<sub>1</sub>

<sub>1</sub> Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. Endereço eletrônico: junqueir@cpac.embrapa.br. Apoio financeiro: CNPq.

### INTRODUÇÃO

Pertencentes à família das cactáceas, as pitayas vêm se destacando no mercado de frutas exóticas. Há várias espécies denominadas “pitayas”, dentre as quais podem ser citadas *Hylocereus undatus*, *H. costaricensis*, *Selenicereus megalanthus* e *S. setaceus*. Esta última é denominada pitaya-do-cerrado, mas há também outras espécies de ocorrência em áreas de Cerrado, incluindo algumas do gênero *Hylocereus* e outras ainda não identificadas.

As pitayas do Cerrado vegetam naturalmente sobre maciços rochosos de arenito ou quartzito, troncos de árvores e em solos arenosos de campos rupestres dos Cerrados de Minas Gerais, Bahia, Goiás, Distrito Federal e Tocantins. Há relatos de sua ocorrência também em áreas de restinga na Bahia e Rio de Janeiro (Junqueira et al., 2002).

Há fortes evidências de que a região central do Brasil seja o maior centro de dispersão das pitayas, tendo em vista a grande diversidade fenotípica (Junqueira et al., 2002) e genotípica (Junqueira et al., 2007) observada em acessos coletados em Goiás, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso e Tocantins.

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a pitaya-do-cerrado (*Selenicereus setaceus*), considerando seu potencial como planta ornamental.

### METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram observadas características morfológicas e fenológicas de acessos de *Selenicereus setaceus* pertencentes à coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados e de um acesso comercial de *Hylocereus undatus* em fase de melhoramento pela Embrapa Cerrados. Observaram-se disposição de cladódios, tamanho de flores, horário de floração, cor e tamanho de fruto, presença ou ausência de espinhos nos frutos e adaptação ao cultivo no Distrito Federal. Também foi analisada a viabilidade da propagação por sementes e estacas.

As procedências dos acessos analisados e seus respectivos códigos de identificação encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1. Acessos de pitaya analisados.

Espécie	Procedência	Código
<i>Selenicereus setaceus</i>	Barbacena, MG	CPAC PY-02
<i>Selenicereus setaceus</i>	Unaí, MG	CPAC PY-03
<i>Selenicereus setaceus</i>	Itumirim, MG	CPAC PY-06
<i>Selenicereus setaceus</i>	Cruzília, MG	CPAC PY-07
<i>Selenicereus setaceus</i>	Cristalina, GO	CPAC PY-08
<i>Selenicereus setaceus</i>	São Sebastião, DF	CPAC PY-10
<i>Hylocereus undatus</i>	Seleção, Embrapa Cerrados	CPAC PY-01

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie *Selenicereus setaceus* possui cladódios de disposição colunar, articulados, apresentando, em sua maioria, três ângulos. As flores são grandes (15 a 23 cm de altura por até 20 cm em diâmetro), brancas em sua maioria, com tonalidades amareladas

e com elevado potencial ornamental (Figura 1). Os botões florais se abrem logo após o pôr-do-sol e as flores duram uma noite, podendo ser utilizadas para ornamentação de eventos noturnos e ambientes internos, tendo em vista que o desenvolvimento da flor ocorre mesmo após o destaque do cladódio da planta principal. A seqüência de abertura da flor da pitaya-do-cerrado estão ilustradas na figura 2.



Figura 1. Flores de *Selenicereus setaceus* em muda obtida por estaquia.



Figura 2. Seqüência de abertura das flores de *Selenicereus setaceus*.

Os frutos da pitaya-do-cerrado são de cor sufirina ou avermelhada tendendo para roxo e podem ser utilizados também como ornamento (Figura 3). Outro gênero de pitaya também encontrado no Cerrado é o *Hylocereus* (Figura 4), que apresenta características similares ao *Selenicereus*, porém seus frutos são mais arredondados e desprovidos de espinhos. A propagação destas espécies é muito simples e pode ser realizada tanto por meio de sementes como através de enraizamento dos cladódios (estaquia).



Figura 3. Futos de *Selenicereus setaceus*.



Figura 4. Planta de *Hylocereus undatus* frutificada, em vaso.

## CONCLUSÕES

As pitayas possuem grande potencial para utilização em paisagismo, tendo em vista a fácil propagação e a exuberância das flores e frutos. A pitaya-do-cerrado, por ser rústica e resistente à seca, pode também ser utilizada como cerca viva. É importante, portanto, que a diversidade genética de pitayas existente no Cerrado seja mais estudada, selecionando-se acessos com maior produção e qualidade de flores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V.; RAMOS, J.D.; PEREIRA, A.V. 2002. Informações Preliminares sobre uma espécie de pitaya do Cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 18p. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; 62).

JUNQUEIRA, K.P.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; LIMA, C.A.; SANO, S.M. Diversidade genética de pitayas nativas do Cerrado com base em marcadores RAPD. In: 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, São Lourenço, 2007. CD-ROM. 4p. 2007.

PALAVRAS-CHAVE: *Selenicereus setaceus*, *Hylocereus undatus*, cactácea, paisagismo.



## PEQUIZEIRO-ANÃO: ALTERNATIVA PARA O PAISAGISMO

Junqueira, Keize Pereira<sub>1</sub>; Junqueira, Nilton Tadeu Vilela<sub>1</sub>; Faleiro, Fábio Gelape<sub>1</sub>; Braga, Marcelo Fideles<sub>1</sub>; Sano, Sueli Matiko<sub>1</sub>; Silva, Dalvilmar Gomes Pereira<sub>1</sub>; Aquino, Fabiana di Gois<sub>1</sub>

<sub>1</sub> Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. Endereço eletrônico: junqueir@cpac.embrapa.br. Apoio financeiro: CNPq.

### INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro ocupa uma área de 207 milhões de hectares, 24% do território nacional, e possui a segunda maior biodiversidade do Brasil, com cerca de 6.400 espécies de plantas catalogadas até o momento (Mendonça et al., 1998).

O pequizeiro (*Caryocar* spp. - Caryocaraceae) é uma planta nativa do Cerrado e da Amazônia (Silva et al., 2001). Segundo Prance e Silva (1973), quinze espécies e cinco subespécies de pequizeiro foram descritas até 1973.

Distribuídas na faixa tropical do continente americano, apenas quatro dessas espécies não ocorrem no Brasil. A espécie de maior presença na região do Cerrado é *C. brasiliense* Camb., dividida em duas subespécies: *C. brasiliense* subsp. *brasiliense* de porte arbóreo com ampla distribuição e *C. brasiliense* subsp. *intermedium*, de porte arbustivo, com ocorrência restrita a algumas partes deste ecossistema (Figura 1) que tem sido denominado de pequi-anão, pequi rasteiro ou pequi-de-moita (Silva et al. 2001).

O pequizeiro-anão, representado por *C. brasiliense* subsp. *intermedium*, possui folhas planas, não rugosas, com pedicelos e pedúnculos glabros ou pouco pubescentes. A face superior da folha é geralmente glabra, podendo, no entanto, apresentar pêlos longos, duros e grossos, esparsamente distribuídos em sua superfície, à semelhança do que ocorre na face inferior. As plantas apresentam hábito de crescimento arbustivo do tipo sufrutecente com caule aparente ou não (Silva et al., 2001).

Segundo Silva et al. (2001), em plantios realizados no Distrito Federal, foi observado que as plantas de pequizeiro-anão, oriundas de sementes, iniciaram a frutificação com altura de 60 cm, aos 18 a 24 meses após o plantio, evidenciando que são também precoces.

A busca por espécies nativas com potencial ornamental tem sido uma tendência no paisagismo, tendo em vista principalmente a exuberância e a rusticidade destas plantas. O pequizeiro-anão pode ser uma espécie bastante promissora para esta finalidade (Junqueira & Junqueira, 2006). Neste trabalho, objetivou-se caracterizar fenologicamente e morfológicamente o pequizeiro-anão, permitindo incluir esta espécie dentre as plantas nativas do Cerrado com potencial ornamental.

### METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Cerrados, onde se acompanhou o desenvolvimento de mudas enxertadas e obtidas a partir de sementes, em campo, sob irrigação. Foram observadas época de florescimento, características das inflorescências e dos botões florais e comportamento sob condições de cultivo no Distrito Federal, em Latossolo Vermelho Amarelo, pH corrigido artificialmente para 5,6, com e sem irrigação, onde se aplicaram 100 g de superfosfato simples por cova de 40x40x40 cm, espaçamento de 4 m entre fileiras e 2,5 m entre plantas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sob as condições de cultivo no Distrito Federal, o pequizeiro-anão manteve o seu pequeno porte, que variou de 0,50 a 1,5 metros em altura, podendo florescer durante o ano todo no Distrito Federal quando irrigado. Portanto, sob cultivo, é comum observar plantas que apresentam, ao mesmo, tempo, frutos, botões florais e inflorescências (Figura 2).



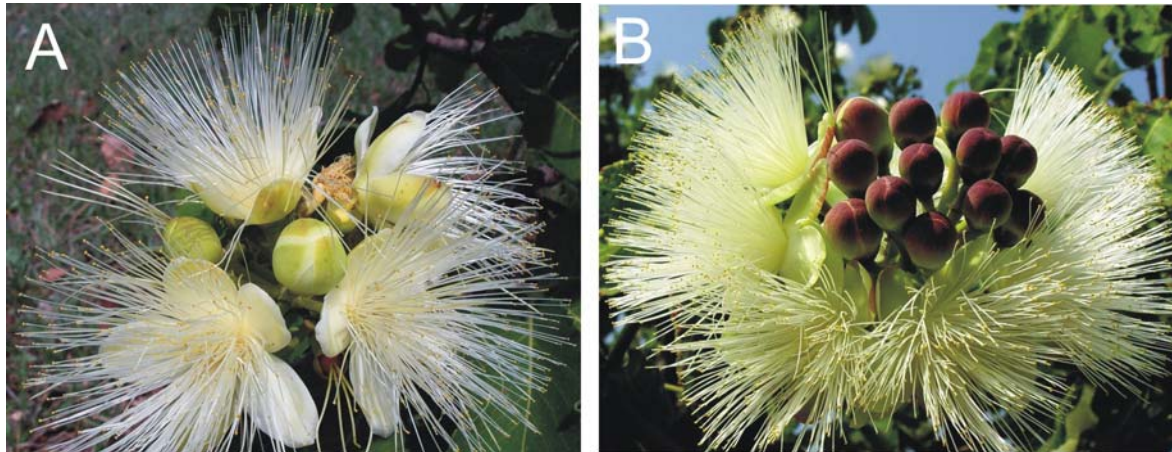


**Figura 1.** Pequi-eiro-anão frutificado em Cerrado (Campo Sujo).



**Figura 2.** Pequizeiro-anão cultivado em jardim.

As inflorescências do pequizeiro-anão contêm de 10 a 20 botões de cor púrpura ou verde (Figura 3a). Suas flores podem variar de amarelada a branca (Figura 3b) em função da procedência da planta.



**Figura 3.** Floração do pequizeiro-anão: Flores brancas e botões florais esverdeados (A) e flores amareladas e botões florais de cor púrpura (B).

A tortuosidade dos ramos confere a impressão de rusticidade típica das plantas nativas do Cerrado. Sob irrigação, as plantas adaptam-se bem ao cultivo em jardins e também em vasos.

Essas características tornam esta subespécie altamente promissora para fins ornamentais. Esta subespécie, assim como as demais espécies de pequizeiros do Cerrado, ainda apresenta algumas limitações quanto à propagação, mas bons resultados têm sido obtidos com a utilização da técnica de enxertia. Plantas enxertadas tendem a ser mais precoces.

## CONCLUSÕES

O pequizeiro-anão apresenta boas características para a utilização com fins ornamentais, adaptando-se bem em condições de cultivo, seja em jardins ou vasos, sendo necessários, portanto, mais estudos com a finalidade de selecionar acessos mais promissores para o paisagismo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V. Espécies nativas do Cerrado com potencial ornamental. In: Simpósio Internacional de Paisagismo, 3, Lavras, MG. Palestras. Lavras: UFLA. 2006. p.49-54.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. Flora vascular do cerrado. In: M.S.& S.P. Almeida (Eds.) Cerrado: ambiente e flora. Embrapa- CPAC. Planaltina, DF.pp.287- 556. 1998.

PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. Caryocaraceae .New York: Hafner, 1973. 75p. (Flora Neotrópica, Monograph n. 12).

SILVA, D.B.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SILVA, J.A.; PEREIRA, A.V.; SALVIANO, A.; JUNQUEIRA, G.D. avaliação do potencial de produção do "pequizeiro-anão" sob condições

naturais na região sul do estado de Minas Gerais. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 23, n. 3, 2001.

PALAVRAS-CHAVE: *Caryocar brasiliense* subsp. *intermedium*, planta ornamental, planta nativa do Cerrado.

## Hibridações interespecíficas em passifloras para utilização como planta ornamental.

Abreu, Priscilla Patrocínio<sup>1</sup>; Souza, Margarete Magalhães<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (UESC), Rod. Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, BA; <sup>2</sup>Professora da Universidade Estadual de Santa Cruz - Deptº de Ciências Biológicas, Pavilhão Jorge Amado, Rod. Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, BA, fone: (73) 3680-5055, email: [souzamagg@yahoo.com.br](mailto:souzamagg@yahoo.com.br).

Incluído em uma família que apresenta uma expressiva diversidade, 18 gêneros e cerca de 630 espécies, o gênero *Passiflora* é constituído por 23 subgêneros, com cerca de 485 espécies descritas, e amplamente distribuídos em regiões tropicais e subtropicais. Dentre os países de maior representatividade está o Brasil, centro de origem de cerca de 200 espécies de *Passiflora* e o maior centro de distribuição geográfica do gênero, com o centro de diversidade localizado na região Centro-Norte do país. Essas plantas essencialmente alógamas, de hábito herbáceo ou lenhoso, despertam o fascínio das pessoas, devido à extrema beleza de suas flores, de coloração exuberante, tamanhos variados e de perfume encantador. Devido aos atributos estéticos de suas flores e folhas, as passifloras vêm sendo utilizadas para ornamentação em jardins europeus e norte-americanos, desde sua introdução no 'Velho Mundo'. Porém, no Brasil é praticamente ignorada como planta ornamental. Desde o aparecimento do primeiro híbrido, diversos deles foram relatados, e até o ano de 2005 foram registrados mais de 400 híbridos com flores vistosas e de coloração ímpar, adaptados aos diversos ambientes e com grande potencial para ornamentação. Deve-se ainda acrescentar a existência de híbridos naturais como um processo ocasionado por diversos fatores, mas principalmente devido a pouca incongruidade entre as espécies. Passifloras híbridas já são utilizadas no mundo como pérgolas e cercas vivas. Hoje, como uma iniciativa pioneira, vem sendo realizado um programa de melhoramento na UESC para obtenção de plantas ornamentais para interiores, utilizando-se como genitoras espécies de pequeno porte e folhagem diferenciada cruzadas com outras de flores coloridas, visando sua exploração comercial sustentável para diversificação de cultivo na região sul da Bahia. Apoio Financeiro: UESC, FAPESB e CNPq.

### PALAVRAS-CHAVES

*Passiflora* spp.; híbrido interespecífico; planta ornamental.



## **Levantamento preliminar das principais espécies de palmeiras e perfil das empresas comercializadoras em Goiânia, Goiás.**

Estevam, Joana Tábata<sup>1</sup>; Evangelista, Talissa de Mello<sup>2</sup>; Machado, Mariana Resende<sup>1</sup>; Sara, Jordana Gabriel<sup>1</sup>; Pires, Larissa Leandro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, emails: [joanatabata@hotmail.com](mailto:joanatabata@hotmail.com); [marirmachado@hotmail.com](mailto:marirmachado@hotmail.com); [jogsara@hotmail.com](mailto:jogsara@hotmail.com); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Av. Armando de Godoy, 370, Cidade Jardim, CEP 74.423-010, Goiânia, GO, Tel: (62) 3272-3200, email: [talissamello@yahoo.com.br](mailto:talissamello@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Docente da Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1549, email: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br).

### **INTRODUÇÃO**

As palmeiras, família Arecaceae (Palmae), além da importância econômica pelos diferentes produtos que delas podem ser obtidos, como palmito, óleo, fibras, etc., apresentam ainda alto valor ornamental. São as plantas mais características da flora tropical e, por isso, muito importantes na composição do paisagismo nacional. Juntamente com as árvores, arbustos, gramados e forrações, são elementos componentes de parques e jardins públicos e particulares.

Contudo, apesar da alta demanda existente por esse tipo de planta ornamental, o mercado atual é altamente competitivo, exigindo produtos diferenciados. Assim, faz-se necessário observar e estudar o público-alvo e a espécie candidata, o que exige conhecimento detalhado de sua cadeia de produção (Clemente et al., 2005).

Este trabalho objetivou realizar um levantamento preliminar das espécies de palmeiras ornamentais comercializadas em Goiânia, Goiás, a fim de caracterizar esse elo da cadeia produtiva, identificar suas deficiências e necessidades. Buscou-se conhecer, ainda, os possíveis nichos de mercado para os produtores da região e caracterizar o perfil dos estabelecimentos de venda dessas espécies.

### **METODOLOGIA**

O presente estudo preliminar foi realizado na cidade de Goiânia, GO, por meio de uma pesquisa de cunho qualitativo e quantitativo. Foram selecionados, ao acaso, 25 viveiros de produção e/ou comercialização de espécies de plantas ornamentais.

O levantamento foi realizado por meio da aplicação de questionários aos proprietários, abordando os seguintes temas: identificação das principais espécies comercializadas e as recomendações de uso no paisagismo; frequência de aquisição de mudas; caracterização das perdas no processo de comercialização e aspectos da qualidade das mudas. Quanto ao perfil da empresa, foram levantados os seguintes pontos: faixa etária do proprietário, sexo e grau de instrução; atividades realizadas pela empresa; capacitação técnica da mão-de-obra da empresa e adequação das suas construções; caracterização da empresa em termos da produção e/ou comercialização das mudas trabalhadas.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De acordo com os dados coletados no estudo preliminar, 60% dos proprietários apresentavam entre 20 e 40 anos de idade, sendo de 50% a relação entre homens e mulheres envolvidos nesse ramo de atividade. Das pessoas entrevistadas, somente 36,4% possuíam terceiro grau completo e 27,3% já realizaram algum tipo de especialização na área de atuação profissional. A atividade também era exercida por profissionais com apenas o primeiro grau, porém, com muitos anos de prática e vivência na área.

Quanto à capacitação técnica dos profissionais atuantes no mercado, 66,7% dos proprietários afirmaram já ter participado de algum treinamento na área; porém, pôde-se notar a grande percentagem de pessoas sem o devido conhecimento técnico, ou com pouco conhecimento específico na área. Percebe-se, assim, a necessidade de cursos de

capacitação visando a complementação e a atualização dos profissionais atuantes nesse mercado de trabalho.

Sabe-se que a floricultura abrange desde a atividade com folhagens e flores de corte e em vaso, até a produção de mudas de plantas ornamentais. Observou-se nesse levantamento que metade das empresas avaliadas, 50,1%, trabalha basicamente com mudas de plantas ornamentais (16,7%), de folhagens em vasos (16,7%) e de palmeiras (16,7%); menor percentagem está envolvida na elaboração de projetos paisagísticos (12,5%); na comercialização de mudas de plantas frutíferas (20,8%) e de flores em vasos (10,4%); além dessas, 12,4% comercializam flores de corte; 6,2% trabalham com produtos afins e 4,2% com arranjos florais. Nota-se que a amplitude característica desse mercado permite maior diversidade de atividades em uma mesma empresa e, conseqüentemente, menor influência da sazonalidade da produção e do consumo.

Todos os viveiros pesquisados apresentaram construções adequadas (telado e/ou estufa) para a manutenção das mudas. O tipo de construção existente está em função da exigência em luminosidade de cada espécie, sendo algumas mudas mantidas também a pleno sol, o que propicia redução de custos.

Cada empreendimento possui uma necessidade, o que se reflete na freqüência de aquisição das mudas de palmeiras comercializadas. Observou-se que 30% dos viveiros as adquirem uma vez por mês; 40% uma vez por semana ou uma vez a cada quinze dias, e nos 30% restantes, as mudas são adquiridas de três em três meses ou de seis em seis meses.

Metade dos viveiros pesquisados afirmou haver apenas pequenas perdas de mudas, que oscilavam entre 2% e 10%. Isso ocorre, basicamente, devido ao volume de compras em excesso e ao armazenamento inadequado das plantas até o momento da efetivação da comercialização. Já, em contrapartida, em todas essas empresas, as mudas e as sementes adquiridas eram de ótima qualidade.

Pela importância e grande uso das palmeiras nos trabalhos de paisagismo em geral, essas plantas foram selecionadas para esse estudo. A Tabela 1 mostra as espécies de palmeiras mais comercializadas nos viveiros pesquisados, ou seja, aquelas que apresentaram maior demanda pelo consumidor, destacando-se a areca-de-locuba (*Dypsis madascariensis* (Becc.) Beentje & J. Dransf.) e a palmeira imperial (*Roystonea oleracea* (Jacq.) O.F. Cook), ambas são comercializadas em 75% das empresas. Esse número pode ser explicado tanto pela beleza dessas duas espécies, quanto pelo preço praticado na comercialização, que não foi objeto de estudo neste trabalho por se tratar de uma variável externa e incontrolável, pois a regulação de mercado depende muito da demanda e da oferta. Além disto, sabe-se a venda de determinada espécie ornamental é uma questão de momento, submetida ao modismo entre as plantas que compõem o jardim.

Tabela 1. Freqüência de comercialização das principais espécies de palmeiras comercializadas em Goiânia, Goiás.

Nome comum	Nome científico	% de viveiros que a comercializa
Areca-de-locuba	<i>Dypsis madascariensis</i> (Becc.) Beentje & J. Dransf.	75
Palmeira imperial	<i>Roystonea oleracea</i> (Jacq.) O.F. Cook	75
Areca bambu	<i>Dypsis lutescens</i> (H. Wendl.) Beentje & J. Dransf.	67
Palmeira triângulo	<i>Dypsis decaryi</i> (Jum.) Beentje & J. Dransf.	58
Washingtonia	<i>Washingtonia robusta</i> H. Wendl.	58
Fênix	<i>Phoenix rupicola</i> T. Anderson	50
Côco da Bahia	<i>Cocos nucifera</i> L.	42
Camedória elegante	<i>Chamaedorea elegans</i> Mart.	33
Palmeira licuala	<i>Licuala amplifrons</i> Miq.	33

Tabela 1. Continuação...

Nome comum	Nome científico	% de viveiros que a comercializa
Ptychosperma elegans	<i>Ptychosperma elegans</i> (R. Br.) Blume	33
Carpentária	<i>Carpentaria acuminata</i> (H. Wendl. & Drude) Becc.	25
Bismarckia	<i>Bismarckia nobilis</i> Hildebrandt & H. Wendl.	25
Ráfis	<i>Rhapis excelsa</i> (Thunb.) A. Henry ex. Rehder	25
Seafórtia	<i>Archontophoenix cunninghamii</i> H. Wendl. & Drude	25
Rabo-de-peixe	<i>Caryota urens</i> L.	17
Cariota-de-touceira	<i>Caryota mitis</i> Lour.	17
Jerivá	<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	17
Latânia	<i>Latania loddigesii</i> Mart.	17
Laca	<i>Cyrtostachys renda</i> Blume	17
Pinanga	<i>Pinanga kuhlii</i> Blume	17
Ptychosperma macarturi	<i>Ptychosperma macarthurii</i> (H. Wendl. ex H.J. Veitch) H. Wendl. ex Hook. f	17
Rabo-de-raposa	<i>Wodyetia bifurcata</i> A. K. Irvine	17
Areca	<i>Areca triandra</i> Roxb.	8
Coco anão	<i>Cocus nucifera nana</i> L.	8
Guariroba	<i>Syagrus oleraceae</i> (Mart.) Becc.	8
Palmeira-beatriz	<i>Archontophoenix alexandrae</i> (F. Muell.) H. Wendl. var. <i>beatrice</i> (F. Muell.) C.T. White ex L.H. Bailey	8
Palmeira-betel	<i>Areca catechu</i> L.	8
Palmeira-da-rainha	<i>Archontophoenix alexandrae</i> F. Muell.) H. Wendl. & Drude	8
Palmeira-de-pescoço-marrom	<i>Dypsis lastelliana</i> (Baill.) Beentje & J. Dransf.	8
Palmeira-garrafa	<i>Hyophorbe lagenicaulis</i> (L.H. Bailey) H.E. Moore	8
Palmeira real	<i>Roystonea regia</i> (Kunth) O.F. Cook	8
Ptychosperma	<i>Ptychosperma salomonense</i> Burret	8
Tamareira-das-canárias	<i>Phoenix canariensis</i> hort. Ex Chabaud	8
Tamareira-de-jardim	<i>Phoenix roebelenii</i> O'Brien	8
Veitia	<i>Veitchia montgomeryana</i> H.E. Moore	8
Washingtonia-de-saia	<i>Washingtonia filifera</i> (Linden) H. Wendl.	8

## CONCLUSÃO

Na cidade de Goiânia, GO, os viveiros estão aptos à comercialização de bons produtos. A mão-de-obra da atividade é carente por conhecimentos técnico-científicos para que haja maior desenvolvimento na aplicação de tecnologia e melhoria na qualidade das plantas oferecidas no mercado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLEMENT, Charles Roland; LLERAS PÉREZ, Eduardo; VAN LEEUWEN, Johannes. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociências**, Montevideu, v. 9, n. 1-2, p. 67-71. 2005. Disponível em: <[http://www.inpa.gov.br/cpca/charles/pdf/agrociencias\\_clementetal\\_2005.pdf](http://www.inpa.gov.br/cpca/charles/pdf/agrociencias_clementetal_2005.pdf)>. Acesso em: 07 jan. 2007.

FERREIRA, Evandro Linhares. **Manual de palmeiras do Acre**. Brasil: Instituto Nacional de Pesquisas/Universidade Federal do Acre, 1998. Disponível em: <[http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual\\_palmeiras.html](http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual_palmeiras.html)>. Acesso em: 02 jan. 2007.

LORENZI, Harri; SOUZA, Hermes Moreira de; COSTA, Judas Tadeu de Medeiros; CERQUEIRA, Luiz Sérgio Coelho de; FERREIRA, Evandro. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2004. 416 p.

PALAVRAS-CHAVE:

Arecaceae; viveiros; caracterização; comercialização.



## **Efeito da luz e diferentes concentrações de sais do meio MS na regeneração *in vitro* de *Catharanthus roseus*.**

José Fausto Guimarães Silva<sup>1</sup>; Murilo Gonçalves Júnior<sup>1</sup>; Cleiton Mateus Sousa<sup>2</sup> e Ricardo Motta Miranda<sup>1</sup>.

1. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Br 465, km 07. Campus da UFRRJ. Seropédica, RJ, 23890-000. 2. Escola Agrotécnica Federal de Ceres. Rod. GO 154, Km 03, Zona Rural. Ceres, GO. 76300-000. [sousacm@yahoo.com.br](mailto:sousacm@yahoo.com.br)

A regeneração *in vitro* de *Catharanthus roseus*, a partir de explantes caulinares, predomina de forma direta, ocorrendo o desenvolvimento de brotos a partir das gemas presentes. No entanto, no caso das plantas medicinais há um grande interesse na obtenção de calos para a extração de princípios ativos, uma vez que na maioria das vezes obtém maior rendimento. O presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito da luz e da concentração de sais na regeneração *in vitro* de explantes caulinares de *Catharanthus roseus*. O experimento foi conduzido no LCTV do DFITO-IA-UFRRJ. Adotou-se o delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4, sendo dois tratamentos com luz (ausência ou fotoperíodo com 16 horas luz e 8 h de escuro), quatro concentrações dos sais do meio MS (25; 50; 75 e 100%) e quatro repetições. Seis semanas após a implantação do experimento, avaliou-se a sobrevivência dos explantes (%), a brotação (%), a formação de calo (%), a diferenciação de raízes (%), o número e comprimento (cm) dos brotos formados, o comprimento e a massas fresca e seca dos calos. Todos os tratamentos apresentaram condições favoráveis para a sobrevivência dos explantes. Na ausência de luz, independente das concentrações dos sais, somente ocorreu regeneração de forma indireta, e a partir dos calos formados surgiram raízes adventícias e algumas brotações. Já na presença de luz, houve a proliferação de brotos a partir das gemas existentes nos explantes e os calos formaram apenas nas bases dos explantes. Enquanto na ausência de luz houve a formação de calos friáveis, com coloração clara (creme), na presença de luz formou calos esverdeados e compactos. A interação da luz com a concentração dos sais foi significativa para a formação de calo, para o comprimento dos brotos e o comprimento e massa dos calos. Na ausência de luz não houve diferença entre as concentrações dos sais para a formação de calo, enquanto no fotoperíodo de 16 horas luz e 8 h de escuro a concentração de 100% dos sais apresentou menor valor.

Palavras-chave: *Catharanthus roseus*; fotoperíodo; estímulo; brotação e enraizamento.

## **Influencia de diferentes concentrações de MS no teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L.**

Reis, Érika Soares<sup>1</sup>; José Eduardo Brasil Pereira Pinto<sup>2</sup>; Luciana Domiciano Silva Rosado<sup>3</sup>; Ricardo Monteiro Corrêa<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Universidade Federal de Lavras (UFLA), Dep<sup>to</sup> de Agricultura, Cx.Postal: 3037. Campus UFLA. CEP: 37200-000. Lavras-MG. e-mail: erikasreis@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Professor – UFLA, e-mail: jeduardo@ufla.br. <sup>3</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, e-mail: lusrosado@yahoo.com.br. <sup>4</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia. e-mail: ricardomonc7@yahoo.com.br.

### **INTRODUÇÃO**

Espécie originária da região que circunda o Mediterrâneo e também a Ásia, *Melissa officinalis* L., conhecida popularmente como erva cidreira, é uma planta arbustiva, da família Lamiaceae, podendo atingir de 20 a 80 cm de altura, apresentando várias propriedades medicinais como calmante, sedativa, contra enxaqueca, tensão nervosa e ansiedade (Launert, 1989).

O óleo essencial encontra-se em toda a planta, mas sua composição e teor específico variam de acordo com a parte da planta selecionada (Silva, 1998), as condições climáticas de desenvolvimento, a época de colheita, a origem das plantas, a preparação das amostras e as técnicas de isolamento.

A cultura de tecidos vem sendo uma técnica amplamente utilizada como ferramenta biotecnológica para o estudo do metabolismo, fisiologia, desenvolvimento e reprodução de plantas com propriedades medicinais, tais como resistência a pragas e acúmulo de substâncias ativas de interesse comercial.

O meio ambiente e os fatores nutricionais, bem como o meio de cultura podem controlar o cultivo *in vitro*. Além de facilitar a propagação das plantas, as técnicas *in vitro* podem auxiliar vantajosamente no estudo da produção, acúmulo e metabolismo de importantes metabólitos secundários (Hypolyte, 2000).

De acordo com as pesquisas levantadas neste trabalho, infere-se que a capacidade de produção e o acúmulo de óleo essencial de brotos *in vitro* de *M. officinalis* não foram ainda suficientemente estudados. Sendo assim, o objetivo neste trabalho foi estudar o teor e a composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L., em diferentes concentrações de meio MS.

### **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras no período de março a agosto de 2006..

O experimento foi constituído de três tratamentos: MS com a concentração completa dos sais, MS com a metade da concentração dos sais (MS/2) e MS com um quarto da concentração dos sais (MS/4), nos quais os explantes (segmentos nodais) foram inoculados para obtenção das plantas e posterior extração do óleo essencial.

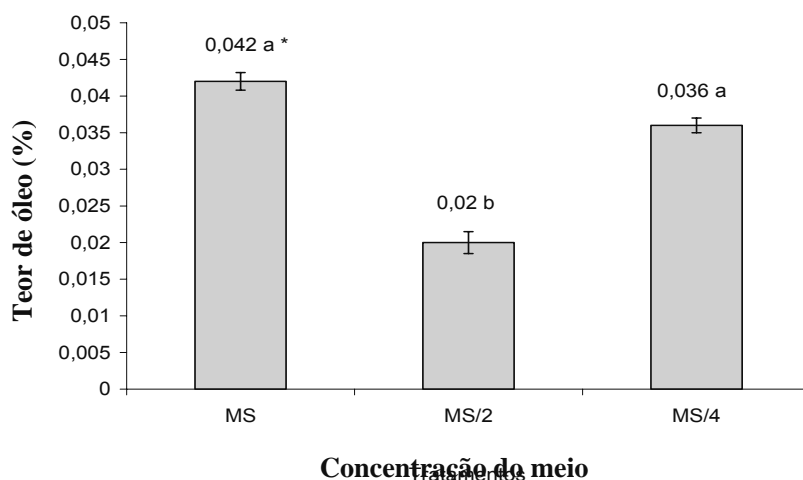
A hidrodestilação do óleo essencial foi realizada em aparelho de Clevenger Modificado por 1 hora e 30 minutos de duração e as análises químicas foram realizadas em um aparelho de cromatografia gasosa acoplado a um espectrômetro quadrupolar de massas (CG-EM), Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão). A identificação dos constituintes foi realizada por comparação automática e manual, dos espectros de massas com os das bibliotecas NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os da literatura (Adams, 2001) e co-injeção com padrões autênticos. Os IR foram calculados por meio da co-injeção, com uma mistura de hidrocarbonetos, C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> (Sigma, EUA) e com aplicação da equação de Van Den Dool & Kratz (1963).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado sendo cada tratamento composto por 7 repetições, em que cada repetição foi representada por uma amostra de 20 g de plantas frescas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que houve diferença significativa no teor de óleo essencial ( $p \leq 0,05$ ), para as diferentes concentrações do meio MS.

De acordo com a Figura 1, pode-se observar que os maiores teores de óleo foram detectados nas plantas presentes nos meios MS e MS/4, tendo no meio MS/2, as plantas produzido menor teor de óleo.



**FIGURA 1:** Teor de óleo essencial de *Melissa officinalis* L., em função das diferentes concentrações do meio MS. \* As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo Teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Por este resultado pode-se observar que, possivelmente, plantas presentes no meio MS produziram um maior teor de óleo essencial, devido à presença de uma concentração ideal de nutrientes para o seu metabolismo; o teor de óleo diminuiu no meio MS/2 devido à redução da concentração de nutrientes no meio. Já para o meio MS/4, provavelmente, devido à deficiência de nutrientes, a planta, para promover a sua defesa em uma situação de estresse, produziu maior teor de óleo essencial.

Mann (1987) afirma que as rotas dos metabólitos secundários das plantas só são ativadas durante alguns estágios particulares de crescimento e desenvolvimento ou em períodos de estresse causados por limitações nutricionais.

Andrade & Casali (1999) também afirmam que o efeito do estresse sobre os produtos do metabolismo secundário das plantas medicinais parece variar bastante com o tipo, a intensidade e a duração do estresse, podendo aumentar ou diminuir o teor de óleos essenciais.

Com relação à composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* observou-se que os componentes majoritários do óleo essencial obtido de plantas presentes no meio MS e MS/4 foram o geranial e o neral. Já o componente majoritário presente no óleo de plantas de melissa cultivadas em meio MS/2 foi o acetato de nerila (18,69%), mostrando que também o meio influenciou na composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (Tabela 1).

**TABELA 1:** Composição química do óleo essencial de plantas *Melissa officinalis* cultivadas em diferentes concentrações do meio MS.

Componente	IR	% do componente no óleo essencial		
		MS	MS/2	MS/4
Citronelal	1152	3,35	0,1	2,00
Angelato de prenila	1193	2,37	2,1	3,72
Neral	1240	<b>24,5</b>	4,3	<b>20,53</b>
Geranial	1270	<b>25,23</b>	5,44	<b>16,21</b>
Acetato de nerila	1363	6,48	<b>18,69</b>	2,60
Trans-6-hidroxi- $\alpha$ -terpineol	1374	0,10	10,19	8,77
Óxido de cariofileno	1585	5,04	3,61	6,59
Não identificados	-	32,93	55,57	39,58

Silva et al. (2005) estudaram a composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. *in vitro*, cultivada em meio MS, sendo a pesquisa voltada para a influência dos reguladores de crescimento ácido indol acético (AIA) e benzilaminopurina (BAP). Os autores observaram que tratamentos com 11,42  $\mu\text{M L}^{-1}$  de AIA e 8,87  $\mu\text{M L}^{-1}$  de BAP resultaram em aumentos de 1,7 e 2,2 vezes na proporção de neral e geranial, respectivamente.

Pesquisas de Guedes et al. (2003), com plantas *in vivo* e *in vitro* de *Hypericum androsaemum* L., mostraram que o conteúdo de óleo essencial obtido a partir de brotos cultivados *in vitro* foi seis vezes menor quando comparado com plantas cultivadas *in vivo*.

Assim, há necessidade de maior estudo sobre o rendimento de óleo essencial das plantas produzidas *in vitro* para as diferentes espécies, devendo-se, também, fazer um estudo comparativo com o rendimento de óleo essencial obtido de plantas *in vivo*.

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir que as diferentes concentrações de sais do meio MS influenciam no teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Illinois: Allured, 2001.456 p.

ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas:** relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia, 1999.

GUEDES, A. P.; AMORIM, L. R.; VICENTE, A. M. S.; RAMOS, G.; FERREIRA, M. F. Essential oils from plants and *in vitro* shoots of *Hypericum androsaemum* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 5, p. 1399-1404, Feb. 2003.

HIPPOLYTE, I. *In vitro* rosmarinic acid production. In: KINTZIOS, S. E. (Ed.). **Sage. The Genus Salvia**. Amsterdam, The Netherlands: Harwood Academic Publishers, 2000.

LAUNERT, E. **The Hamlyn guide to edible medicinal plants of Britain and Northern Europe**. London: Hamlyn, 1989.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1987.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database. Gaithersburg, MD: U. S. Department of Commerce, 1998.

SILVA, M. J. V. **Expressão da síntese e acumulação de compostos de natureza lipófila em plantas *in vivo* e culturas *in vitro* de *Melissa officinalis* e *Cynara cardunculus***. 1998. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Minho, Braga, Portugal.

SILVA, S.; SATO, A.; LAGE, C. L. S.; GIL, R. A. S. S.; AZEVEDO, D. A.; ESQUIBEL, M. A. Essential oil composition of *Melissa officinalis* L. *in vitro* produced under the influence of growth regulators. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 16, n. 6B, p. 1387-1390, Nov./Dec. 2005.

VAN DEN DOOL, D. H.; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, n. 4, p. 463-471, 1963.

**PALAVRAS-CHAVES:** *Melissa officinalis*, planta medicinal, cultura de tecidos.

## Estabelecimento *in vitro* de culturas de raízes de *Capraria biflora* L. a partir de explantes foliares

Medeiros, Camila Dantas<sup>1</sup>; Leão, Gracyella Melissa de Oliveira<sup>2</sup>; Cavalcanti, Fábio Rossi<sup>3</sup>; Carvalho, Cristina Paiva da Silveira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Estudante do curso de graduação em Ciências Biológicas (UFC-DB), Campus do Pici, Av Mister Hull s/n, CEP 60451-970, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3366-9404, e-mail: [nichhaia@hotmail.com](mailto:nichhaia@hotmail.com);

<sup>2</sup>Estudante do curso de graduação em Ciências Biológicas (Universidade Estadual do Ceará-UECE), Campus do Itaperi, Av. Paranjana 1700, CEP 60.740-903, fone (85) 3101-9802, e-mail: [melissaoll@hotmail.com](mailto:melissaoll@hotmail.com); <sup>3</sup>Professor do Dpto. de Engenharia Florestal da Universidade do Piauí (UFPI), Campus Profa. Cinobelina Elvas, CEP 64.900-000, fone (89) 35622373, e-mail: [rossi@ufpi.br](mailto:rossi@ufpi.br), Bom Jesus, Piauí; <sup>4</sup>Professora do Dpto. de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do UFC (UFC-DBBM), Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, CEP 60.451-970 fone: (85) 3366-9404, e-mail: [cpaiva@ufc.br](mailto:cpaiva@ufc.br).

*Capraria biflora* L. é uma espécie de porte arbustivo, bem adaptada ao clima tropical. Essa espécie acumula, em suas raízes, uma naftoquinona denominada de biflorina que apresenta atividade contra bactérias Gram positivas e citotoxicidade contra células tumorais. Como o composto de interesse é acumulado principalmente na raiz, o cultivo *in vitro* desse órgão pode ser uma alternativa ao extrativismo. Com o objetivo de obter culturas *in vitro* de raízes de *C. biflora*, folhas desta espécie foram inoculadas com suspensões de três linhagens selvagens de *Agrobacterium rhizogenes* (A4, 2659 e 8196). Esta bactéria Gram negativa possui a capacidade de transferir, para o genoma da célula vegetal hospedeira, genes envolvidos com a formação de raízes, denominadas de “hairy roots”, que caracterizam-se pela alta taxa de crescimento e ramificação. O experimento consistiu em causar ferimentos em toda a área foliar, na face abaxial, com o auxílio de agulhas previamente imersas em suspensões das três linhagens de *A. rhizogenes*. Como controle positivo e negativo, respectivamente, o ferimento nas folhas foi efetuado com agulhas imersas em meio YMB e em solução de ácido indolbutírico (AIB 1,0 mg.L<sup>-1</sup>). Os explantes foram então mantidos por 48 horas em meio MS. Após este período, os explantes tratados com a bactéria foram transferidos para meio MS contendo cefotaxima (300 mg.L<sup>-1</sup>). Os explantes do tratamento controle foram cultivados em meio MS sem antibiótico. Ao final de três semanas, todos os tratamentos foram favoráveis à formação de raízes. Segmentos apicais foram transferidos para meio MS na presença de carbenicilina (500 mg.L<sup>-1</sup>) ou cefotaxima (300 mg.L<sup>-1</sup>). Após seis dias, uma maior densidade de raízes secundárias (número de raízes secundárias/ cm) foram observadas nos tratamentos onde houve inoculação da bactéria (2,0 a 3,1) ou no tratamento com auxina (3,0), quando comparadas ao controle negativo (1,38). Nesse mesmo período, as raízes obtidas dos tratamentos com as bactérias apresentaram um crescimento médio de 0,5 cm, comparados a 0,23 cm no controle positivo e 0.12 no controle negativo. Os dados obtidos sugerem que a inoculação de tecidos foliares de *C. biflora*, com agrobactéria, resultou em raízes com maior capacidade de crescimento *in vitro*.

Palavras-chave: chá-do-rio, Scrophulariaceae, *Agrobacterium rhizogenes*

## **Influência da sacarose no crescimento de calos e nos teores de fenóis e taninos totais em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville – Fabaceae.\***

Lima, Miller Marani<sup>1</sup>; Castro, Ana Hortência Fonseca<sup>2</sup>; Sóter, Mirelle Oliveira<sup>3</sup>; Paiva, Renato<sup>4</sup>; Alvarenga, Amauri Alves de<sup>5</sup>; Nicioli, Patrícia Matile<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Iniciação Científica (bolsista FAPEMIG), Centro Universitário de Lavras, Curso de Farmácia, R. Padre José Poggel, 506, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3694-8106, e-mail: [millerlima@yahoo.com.br](mailto:millerlima@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Doutora, Centro Universitário de Lavras, Curso de Farmácia, e-mail: [acastro@ufla.br](mailto:acastro@ufla.br); <sup>3</sup>Graduanda, Centro Universitário de Lavras, Curso de Farmácia, e-mail: [mirellesoter@yahoo.com.br](mailto:mirellesoter@yahoo.com.br); <sup>4</sup>PhD, Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal, Cx. Postal 37, Cep 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1341, e-mail: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>5</sup>Doutor, Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal, e-mail: [amauriaa@ufla.br](mailto:amauriaa@ufla.br); <sup>6</sup>Mestre, Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal, e-mail: [pmnicioli@yahoo.com.br](mailto:pmnicioli@yahoo.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

O barbatimão é uma espécie típica do Cerrado brasileiro, com grande distribuição e importância econômica para o Estado de Minas Gerais, sendo empregado popularmente devido às suas propriedades adstringente e cicatrizante, no combate de amidalite, faringite, hemorróidas, leucorréias, erupções cutâneas, diarreias e como agentes antiinflamatórios (Palazzo-de-Mello et al. 1996, Lima et al., 1998). Estas propriedades terapêuticas estão associadas ao tanino, metabólito secundário de natureza fenólica, presente em altas concentrações na casca desta espécie.

Segundo Almeida et al. (1998), a produção nacional de casca de barbatimão vem decrescendo desde 1988, principalmente no sul de Minas Gerais, devido à exploração indiscriminada pelas indústrias de curtimento do couro. Para preservar a exploração irracional desta espécie devem-se melhorar as técnicas de propagação, encorajar seu cultivo e criar vias alternativas para a produção de tanino, em larga escala, a partir de fontes naturais.

As técnicas de cultura *in vitro* são de grande importância ecológica, pois permitem o desenvolvimento de pesquisas que estabeleçam formas alternativas para a produção de mudas, conservação e melhoramento do material genético, possibilitando a recuperação de plantas em extinção, além de contribuir para o aumento na produção dos princípios ativos vegetais. Segundo Torres e Caldas (1990), a utilização da cultura de calos pode resolver alguns problemas relacionados à utilização de plantas para extração de metabólitos secundários vegetais bioativos.

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a influência da sacarose no crescimento de calos e nos teores de fenóis e taninos totais em barbatimão.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos, do Centro Universitário de Lavras. As sementes foram coletadas nos meses de agosto a novembro de 2005, em área de formação campestre com fisionomia de Cerrado *sensu stricto*, localizada no município de Ijaci, situado ao sul do Estado de Minas Gerais. Amostras do material vegetal foram coletadas e herborizadas e após identificação foram registradas e depositadas no Herbário ESAL, da Universidade Federal de Lavras, sob o nº 17.227.

Para a germinação *in vitro*, as sementes foram desinfestadas com NaOCl 2% (hipoclorito de sódio comercial), por 10 minutos, lavadas rapidamente em água destilada esterilizada e incisadas parcialmente. A seguir foram inoculadas em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) completo, suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com agar, na proporção de 7 g L<sup>-1</sup> e o pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da autoclavagem. Após inoculação, as sementes foram transferidas para sala de crescimento com temperatura de

---

\* Projeto financiado e bolsa de iniciação científica concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

$27 \pm 1$  °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de  $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Para a indução de calos, adotou-se a metodologia descrita por Vitor et al. (2005).

Após 45 dias da inoculação, fragmentos de calos frescos, foram inoculados e cultivados por 6 semanas em meio MS completo, suplementado com sacarose nas concentrações: 0, 15, 30, 45 e 60  $\text{g L}^{-1}$ . Cada tratamento foi constituído de 15 repetições, com 4 tubos cada e um explante por tubo. O crescimento dos calos (matéria fresca e seca) e os teores de fenóis e taninos totais foram determinados. Os rendimentos de fenóis totais foram avaliados através do método de Folin-Dennis (AOAC, 1970) e os taninos totais, através do Método de Difusão Radial (Hagerman, 1987). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Para comparação dos contrastes entre médias dos tratamentos foi utilizado o Teste de Scott & Knott (1974), ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da figura 1 verifica-se que calos cultivados em meios suplementados com sacarose apresentaram maiores valores de matéria fresca e seca, quando comparados com aqueles crescidos em meios com ausência de sacarose ( $p < 0,05$ ). Na presença de sacarose, os calos apresentaram os mesmos valores de biomassa fresca e seca, independente dos teores de sacarose no meio de cultivo.

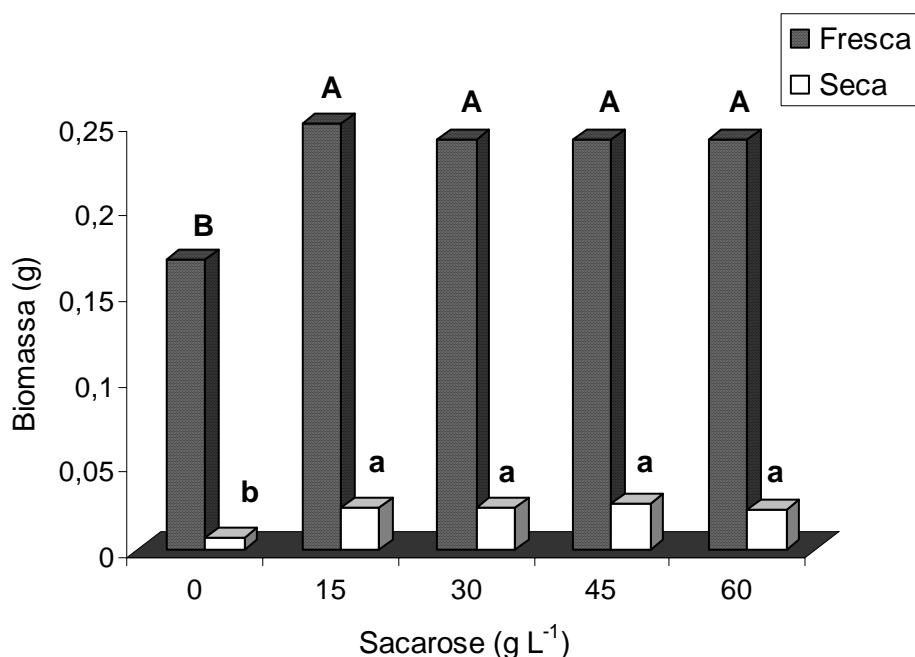


Figura 1: Influência de diferentes concentrações de sacarose na matéria fresca e seca de calos de barbatimão. UNILAVRAS: Lavras, MG. 2007.

Avaliando-se os rendimentos de fenóis totais (figura 2), se verifica que calos cultivados na presença de sacarose, na concentração de  $30 \text{g L}^{-1}$  apresentaram maiores teores de fenóis totais, sendo estes 37% superiores àqueles obtidos para calos cultivados em meios suplementados com maiores concentrações de sacarose ( $p < 0,05$ ). Comparando-se com o explante inicial, percebe-se que os calos cultivados em concentrações intermediárias de sacarose apresentaram teores de fenóis 5 vezes maiores que o explante inicial. Calos crescidos na ausência ou na presença de baixas concentrações de sacarose no meio de cultivo não apresentaram fenóis totais.

Não se detectou a presença de taninos totais nos calos, independente do tratamento empregado.



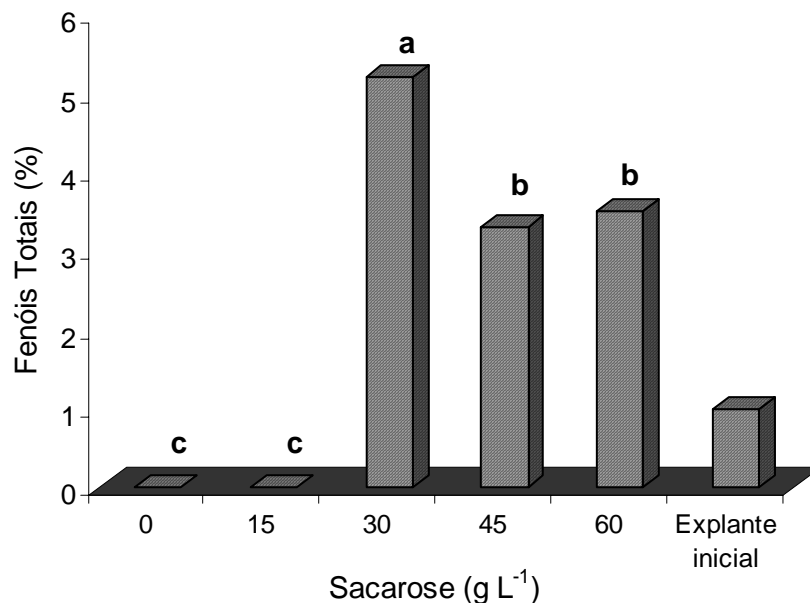


Figura 2: Influência de diferentes concentrações de sacarose nos teores de fenóis totais em calos de barbatimão. UNILAVRAS: Lavras, MG. 2007.

Os resultados obtidos foram importantes do ponto de vista fisiológico e metabólico, pois revelaram que a produção de matéria seca nos calos depende da presença de sacarose no meio de cultivo, em pequenas ou altas concentrações, entretanto, maiores teores de fenóis totais foram produzidos em meios com concentrações intermediárias dessa fonte de carbono. Segundo Koricheva et al. (1998), os compostos fenólicos são considerados metabólitos secundários, originados diretamente do metabolismo do carbono, entretanto, para Lavola et al. (2000), a biossíntese dessas substâncias está diretamente relacionada aos processos de crescimento e diferenciação celular, regulados pela disponibilidade de recursos no meio, que podem competir com a alocação de carbono para o metabolismo secundário.

## CONCLUSÃO

Este estudo indicou que calos cultivados em meios suplementados com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose apresentam maiores valores de matéria seca e maiores teores de fenóis totais.

Nas condições estudadas não se detectou a presença de taninos totais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.P. DE; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS**. Official methods of the association of official analytical chemists. 11.ed. Washington, 1970. 1015 p.

HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, n.3, p.437-449, Mar. 1987.

KORICHEVA, J.; LARSSON, S.; HAUKIOJA, E.; KEINÄNEN, M. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability:hypothesis testing by means of meta-analysis. **Oikos**, Copenhagen, v. 83, n. 2, p. 212-226, Nov. 1998.

LAVOLA, A.; TITTO, R. J.; ROSA, T. M. de la; LETTO, T.; APHALO, P. J. Allocation of carbon to growth and secondary metabolites in birch seedlings under UV-B radiation and CO<sub>2</sub> exposure. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 109, n. 3, p. 260-267, July 2000.

LIMA, J.C.S., MARTINS, D.T.O.; SOUZA JÚNIOR, P.T. Experimental evaluation of stem bark *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for antiinflammatory activity. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 218-220, 1998.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PALAZZO-DE-MELO, J.C.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 3, p. 807-817, 1996.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Editores. Técnicas e aplicações de cultura de tecidos em plantas. Brasília: ABCTP/EMBRAPA\_CNPQ, 1990. P.99-169.

VITOR, S.M.M. et al. **Germinação in vitro e efeito do 2,4-D e BAP na indução de calogênese e nos teores de fenóis e taninos totais em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville**. 2005. Disponível em:<http://www.fevale.edu.br/seminário/cd/files/pdf/1884.pdf>. Acesso em: 16 maio 2006.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Stryphnodendron adstringens*; Barbatimão; Taninos; Calos; Sacarose.

## Introdução *in vitro* de *Lophantera lactescens* Ducke (Malpighiaceae).

Porto, Bruno Henrique Crespo<sup>1</sup>; Abreu, Heber dos Santos<sup>2</sup>; Deus, Desiane Amaral de<sup>3</sup>; Duarte, Mariana Silva<sup>3</sup>, Souza, Kelly Carla Almeida de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [bhcprural@yahoo.com.br](mailto:bhcprural@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Instituto de Florestas (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [abreu@ufrj.br](mailto:abreu@ufrj.br) <sup>3</sup>Graduanda em Engenharia Florestal (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [deiseflora@bol.com.br](mailto:deiseflora@bol.com.br); <sup>4</sup>Mestre em Ciências Florestais e Ambientais (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [almeida\\_kc@yahoo.com.br](mailto:almeida_kc@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais vem crescendo a cada ano e as informações sobre o assunto para fins comerciais ainda são escassas (Newall *et al.*, 2002).

*Lophantera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) é uma espécie endêmica da Amazônia brasileira, ocorrendo tanto no interior de mata primária densa como em formações secundárias (Lorenzi, 1992). É utilizada pelos nativos como agente febrífugo sobre a malária, através da ingestão de casca e folhas sobre a forma de infusão. Interessados encontrar um substituto do quinina, Ribeiro e Machado (1946) pesquisaram a espécie e descreveram o isolamento de um alcalóide denominado Lofanterina. Estudos envolvendo a obtenção de constituintes químicos permitiram o isolamento do *nor*-triterpeno codificado como LLD-3, que apresenta ação antiálgica, antitérmica e bloqueadora dos canais de potássio (Abreu *et al.*, 1990).

Embora muitos compostos derivados de plantas medicinais possam ser sintetizados em laboratório, tal síntese é freqüentemente complexa, com rendimentos abaixo do esperado, corroborando assim uma produção economicamente inviável destes metabólitos de interesse (Holton, 1994; Nicolau, 1994). Quando o cultivo convencional é inviável, o uso de técnicas biotecnológicas se constitui uma ferramenta bastante útil para a obtenção de culturas de células *in vitro* e reprodução de explantes com características desejáveis, tais como: resistência a pragas e outras condições de estresse, alta produtividade e elevado rendimento de substâncias ativas de interesse (Zenck, 1998).

As espécies lenhosas apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente se for utilizado material vegetal proveniente de plantas adultas, pois podem apresentar infestação interna ou externa por microrganismos. Por isso, a utilização de plântulas germinadas *in vitro*, em condições assépticas, torna-se mais vantajosa (Skirvin, 1981). Segundo Corder e Borges Junior (1999), vários fatores podem afetar o vigor germinativo das sementes e promover a formação de plântulas anormais ou sua morte, entre eles a dormência e a presença de microrganismos, sobretudo de fungos e bactérias. Por isso, os métodos de desinfestação devem ser eficazes, para que a plântula sirva de fonte de explante livre de fungos e bactérias.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a germinação *in vitro* das sementes de *Lophantera lactescens* Ducke, determinando o melhor tempo de exposição destas ao agente desinfestante.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Madeira do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As sementes foram coletadas de uma população de plantas do *campus* da UFRRJ.

Para avaliar o efeito dos agentes desinfestantes, as sementes foram submersas ou não em solução de etanol 70% (v/v) por dois minutos. A seguir, foram imersas em solução contendo hipoclorito de sódio a 1,0% (v/v) com três gotas de detergente comercial por 100 mL de solução, durante períodos de tempo de 0, 10, 20, 30 ou 40 minutos. Foram então, em seguida, enxaguadas em água bidesionizada autoclavada.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para condição de emergência de plântulas e desinfestação de sementes.

Tratamentos	Álcool (minutos)	Hipoclorito (minutos)
01	0	0
02	0	10
03	0	20
04	0	30
05	0	40
06	2	0
07	2	10
08	2	20
09	2	30
10	2	40

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4 ( tempo em álcool x tempo em hipoclorito), com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por quinze sementes.

Após a desinfestação as sementes foram inoculadas em meio de cultura composto por sais básicos de MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição de 6,0 g.L<sup>-1</sup> de ágar. Foram vertidos 30 mL do meio em frascos com capacidade de 250 mL, os quais foram posteriormente fechados e autoclavados a 120° e 1,5 atm por 20 minutos. Logo após a semeadura, os frascos foram transferidos para sala de crescimento e mantidos sob fotoperíodo de 16 horas a 25±2°C até os trinta dias após a semeadura.

As avaliações das contaminações por fungos e bactérias e da germinação foram efetuadas aos trinta dias após a semeadura. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos que proporcionaram as menores médias de contaminação foram aqueles onde as sementes foram desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 e 40 minutos de embebição.

Os piores resultados foram obtidos com os tratamentos em que as sementes não receberam a desinfestação com etanol 70%, apresentando as maiores taxas de contaminação.

Os resultados desse estudo estão de acordo com os de Andrade *et al.* (2001), que desinfestaram sementes de *Myracrodouon urundeuva* em álcool 70% por 30 segundos e, seguido de hipoclorito de sódio por 20 minutos, e as lavaram três vezes em água destilada, as quais apresentaram baixos índices de contaminates.

Foi observado, durante o período de germinação, que as sementes contaminadas por fungos e bactérias não foram capazes de germinar. Esse resultado concorda com os de Corder e Borges Júnior (1999) que, ao germinarem sementes de *Acacia mearnsii* em condições in vitro, observaram que a presença de fungos e bactérias nas sementes foi o principal fator da ausência de germinação. Segundo Faiad *et al.* (1997), a maior germinabilidade das sementes desinfestadas comparada a do controle deve-se à eliminação de agentes patogênicos e saprófitos que podem deteriorá-las e ocasionar sua morte.

As maiores porcentagens de germinação das sementes *in vitro* ocorreram no tratamento T8 (59%).

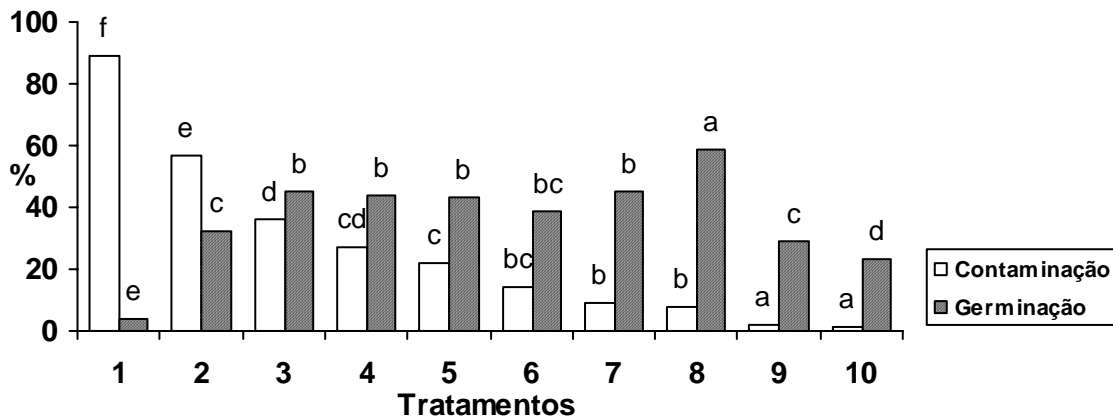


Figura 1. Percentagem de contaminação e germinação de sementes de *Lophanthera lactescens* Ducke em função do agente desinfestante. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Nas condições experimentais adotadas, conclui-se que sementes de *Lophanthera lactescens* Ducke podem ser desinfestadas em álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, durante 2 e 20 minutos, respectivamente, e, posteriormente, inoculadas em meio de cultura MS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, H. S. *et al.* A nor-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2257-2261, 1990.
- ANDRADE, M. V. *et al.* Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.174-180, 2000.
- CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.
- FAIAD, M. G. R.; Salomão, A. N.; Cunha, R. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 14-17, 1997.
- HOLTON, R. *et al.* First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B Ring. **J. Am. Chem. Soc.**, v.116, p.1597-1598, 1994.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. **Fitoterapia – Plantas Mediciniais: Guia para Profissionais da Saúde**. Ed. Premier. São Paulo, 2002.

NICOLAU, K. C. *et al.* Total synthesis of taxol. **Nature**, v.367, p.630-634, 1994.

RIBEIRO, O.; MACHADO, A. Anais da Associação Química do Brasil. v. 9, 1946.

SANTOS, B. R. *et al.* Indução de calos friáveis em explantes foliares de *Salix* (*Salix humboldtiana* Willd). **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.510-514, 2005.

SKIRVIN, R. M. Fruticulture crops. In: CONGER, B. V. **Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1981. p. 51-139.

ZENK, M. H. *et al.* Taxoids from cell cultures of *Taxus Chinensis*. **Phytochemistry.**, v.49, p.113-125, 1998.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Lophantera lactescens* Ducke; germinação *in vitro*; desinfestação de sementes.

## Indução de calos friáveis em segmentos nodais de *Lophantera lactescens* Ducke.

Porto, Bruno Henrique Crespo<sup>1</sup>; Duarte, Mariana Silva<sup>2</sup>, Deus, Desiane Amaral de<sup>2</sup>; Souza, Kelly Carla Almeida de<sup>3</sup>; Abreu, Heber dos Santos<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [porto@ufrj.br](mailto:porto@ufrj.br); <sup>2</sup>Graduanda em Engenharia Florestal (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [deiseflora@bol.com.br](mailto:deiseflora@bol.com.br); <sup>3</sup>Mestre em Ciências Florestais e Ambientais (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [betyka@ufrj.br](mailto:betyka@ufrj.br); <sup>4</sup>Professor do Instituto de Florestas (UFRRJ), CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, fone: (21) 26821128, e-mail: [abreu@ufrj.br](mailto:abreu@ufrj.br).

### INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais vem crescendo a cada ano e as informações sobre o assunto para fins comerciais ainda são escassas (Newall *et al.*, 2002).

*Lophantera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) é uma espécie endêmica da Amazônia brasileira, ocorrendo tanto no interior de mata primária densa como em formações secundárias (Lorenzi, 1992). É utilizada pelos nativos como agente febrífugo sobre a malária, através da ingestão de casca e folhas sobre a forma de infusão. Interessados encontrar um substituto do quinina, Ribeiro e Machado (1946) pesquisaram a espécie e descreveram o isolamento de um alcalóide denominado Lofanterina. Estudos envolvendo a obtenção de constituintes químicos permitiram o isolamento do *nor*-triterpeno codificado como LLD-3, que apresenta ação antiálgica, antitérmica e bloqueadora dos canais de potássio (Abreu *et al.*, 1990).

Embora muitos compostos derivados de plantas medicinais possam ser sintetizados em laboratório, tal síntese é freqüentemente complexa, com rendimentos abaixo do esperado, corroborando assim uma produção economicamente inviável destes metabólitos de interesse (Holton, 1994; Nicolau, 1994). Quando o cultivo convencional é inviável, o uso de técnicas biotecnológicas se constitui uma ferramenta bastante útil para a obtenção de culturas de células *in vitro* e reprodução de explantes com características desejáveis, tais como: resistência a pragas e outras condições de estresse, alta produtividade e elevado rendimento de substâncias ativas de interesse (Zenck, 1998).

Conduziu-se o presente trabalho com o objetivo de estudar o efeito do 2,4-D na indução de calos friáveis, visando estudos posteriores de prospecção de moléculas bioativas através da cultura de células *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Madeira do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde segmentos nodais de *Lophantera lactescens* Ducke provenientes de plântulas estabelecidas *in vitro* foram utilizados como fontes de explantes.

O meio de cultura utilizado foram os sais e vitaminas do MS (Murashige e Skoog, 1962), adicionado de 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e acrescido de diferentes concentrações de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 mg.L<sup>-1</sup>). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição de 7,0 g.L<sup>-1</sup> de ágar. Em seguida, alíquotas de 25 mL do meio foram distribuídas em frascos com capacidade de 250 mL, os quais foram posteriormente fechados e autoclavados a 120° e 1,5 atm por 20 minutos.

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um frasco contendo cinco explantes. Os dados das variáveis do efeito do ácido 2,4-diclorofenoxiacético foram analisados por meio de regressão polinomial.

Após a inoculação foram mantidos no escuro, em câmara de crescimento, a 25±2°C. A avaliação foi realizada 60 dias após a inoculação, sendo avaliado o percentual de explantes com calos friáveis e matéria fresca dos mesmos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se comportamento quadrático para o percentual de explantes com calos (Figura 1), podendo-se verificar que aumentos na concentração de ácido 2,4-diclorofenoxiacético até 4,0 mg.L<sup>-1</sup> promoveram um aumento crescente na porcentagem de explantes que formaram calos friáveis.

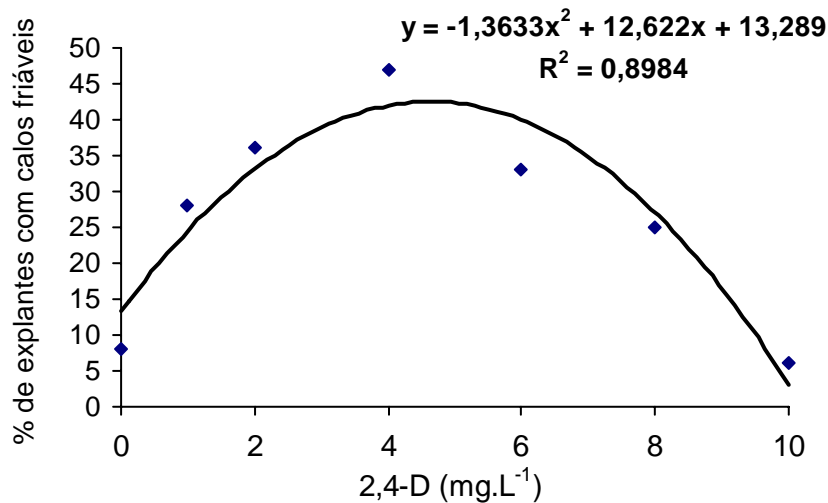


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na formação de calos friáveis de *Lophantera lactescens* Ducke.

Comportamento semelhante ao verificado para o número de explantes com formação de calos foi observado para a matéria fresca de calos. Concentrações crescentes até 4,0 mg.L<sup>-1</sup> foram claramente benéficas, enquanto concentrações superiores a esta reduziram a matéria fresca dos calos. Comparando-se a concentração de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> a 10,0 mg.L<sup>-1</sup> verificou-se uma redução de aproximadamente 80% (0,59g contra 0,12g na massa fresca de calos).

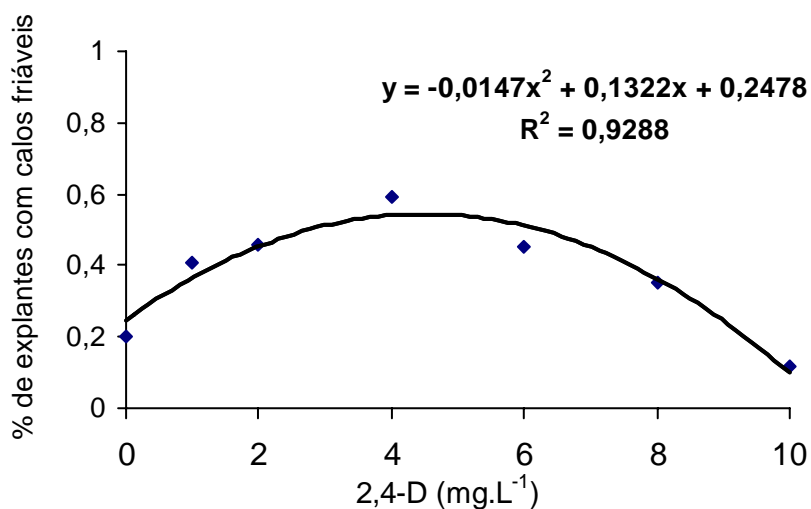


Figura 2. Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na matéria fresca de calos friáveis de *Lophantera lactescens* Ducke.



A redução da matéria fresca dos calos com a utilização de concentrações elevadas do ácido 2,4-diclorofenoxiacético pode estar relacionada à fitotoxidez causada por este regulador de crescimento. Esse comportamento também foi observado por Santos *et al.* (2005) em calos formados em explantes foliares de salix (*Salix humboldtiana* Willd) inoculados na presença de concentrações elevadas de ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais adotadas conclui-se que segmentos nodais extraídos de plântulas germinadas *in vitro* e inoculados em meio MS acrescido de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> ácido 2,4-diclorofenoxiacético podem ser utilizados para indução de calos friáveis de *Lophanthera lactescens* Ducke.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, H. S. et al. A *nor*-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2257-2261, 1990.

HOLTON, R. et al. First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B Ring. **J. Am. Chem. Soc.**, v.116, p.1597-1598, 1994.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.

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

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. **Fitoterapia – Plantas Medicinais: Guia para Profissionais da Saúde**. Ed. Premier. São Paulo, 2002.

NICOLAU, K. C. et al. Total synthesis of taxol. **Nature**, v.367, p.630-634, 1994.

RIBEIRO, O.; MACHADO, A. Anais da Associação Química do Brasil. v. 9, 1946.

SANTOS, B. R. et al. Indução de calos friáveis em explantes foliares de Salix (*Salix humboldtiana* Willd). **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.510-514, 2005.

ZENK, M. H. et al. Taxoids from cell cultures of *Taxus Chinensis*. **Phytochemistry**., v.49, p.113-125, 1998.

## PALAVRAS-CHAVES

*Lophanthera lactescens* Ducke; metabólitos bioativos; calos friáveis; segmentos nodais.

## **Avaliação do uso de ácido salicílico em sementes de calêndula (*Calendula officinalis* L.) sob diferentes estresses.**

Carvalho, Patricia Reiners<sup>1</sup>, Nelson, Barbosa Machado Neto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professora Mestre da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Campus II, Rod. Raposo Tavares Km 572, CEP 19067175, Presidente Prudente, São Paulo, fone:(18) 32292000, e mail: [patricia@unoeste.br](mailto:patricia@unoeste.br), <sup>2</sup>Professor Doutor da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Campus II, Rod. Raposo Tavares Km 572, CEP 19067175, Presidente Prudente, São Paulo, fone:(18) 32292000, e mail: [nbm@unoeste.br](mailto:nbm@unoeste.br) .

A calêndula (*Calendula officinalis* L.) é uma importante planta medicinal e ornamental, e também é usada na culinária, na fabricação de cosméticos e de fitofármacos. As plantas sofrem agressões por agentes bióticos e abióticos e apesar de não apresentarem defesas através de movimentos ágeis, podem ocorrer adaptações e profundas alterações no metabolismo da célula vegetal, entre elas a síntese de proteínas de defesas ativada através de mecanismos complexos. A aplicação exógena ou o estímulo à síntese endógena de ácidos orgânicos como o ácido salicílico pode agir como indutor de proteínas de tolerância aos diferentes estresses, bem como para elevar a atividade de enzimas de desintoxicação celular, especialmente às envolvidas na degradação de radicais ativos oxigenados. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do ácido salicílico (AS) sobre a germinação e o vigor de sementes de calêndula (*Calendula officinalis* L.) em condições ideais e sob estresse térmico e hídrico. As sementes foram colocadas para germinar em papel embebido em soluções crescentes de ácido salicílico (zero, 0,0125, 0,025, 0,05, 0,1 e 0,2mM); medindo-se as variáveis: porcentagem de germinação (G); índice de velocidade de germinação (IVG) e primeira contagem da germinação (PC). Ficou constatado através do teste de Tukey que apenas a (G) foi significativa, sendo que as melhores dosagens detectadas para o percentual de sementes germinadas ficou entre 0,025 e 0,05mM de ácido salicílico. Três outros experimentos foram feitos, um com água acidulada aos pH respectivos às concentrações de ácido salicílico (6,0; 4,8; 4,2; 3,6 e 3,2), um com diferentes potenciais hídricos induzidos por manitol (0; -0,3; -0,6; -0,9 e -1,2MPa), e outro com temperaturas (20, 25, 30 e 35°C). Não houve efeito dos tratamentos ácidos sobre a germinação e o IVG de calêndula. A concentração de 0,025mM de AS

apresentou-se como superior tanto para G como para IVG de sementes de calêndula sob efeito de estresse hídrico. O uso, ou não, de AS não foi eficiente para aliviar o estresse térmico.

**PALAVRAS-CHAVES**

resistência sistêmica adquirida; estresse hídrico; germinação, IVG.

## Germinação de sementes de Ipê-Branco (*Tabebuia roseo-alba*) em diferentes substratos.

Abbate, Letícia Caravita<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG), Campus da UFLA, CEP 37200-000 Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1781, email: [leticiabbade@yahoo.com.br](mailto:leticiabbade@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Associada do Departamento de Agricultura da UFLA; <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia da UFLA

### INTRODUÇÃO

A germinação de sementes é uma das fases críticas para o estabelecimento das plantas em condições naturais. Fisiologicamente, a germinação inicia-se com a embebição de água pela semente, seguida da retomada do crescimento do embrião quiescente e terminando com a protrusão de alguma parte deste por meio do tegumento. Na maioria dos casos, o primeiro órgão a emergir é a raiz primária. O processo de germinação inicia-se com o ressurgimento das atividades metabólicas que foram quase que paralisadas após a maturação da semente (Bewley e Black, 1982).

O gênero *Tabebuia*, pertencente à família Bignoniaceae, compreende cerca de cem espécies com ampla distribuição desde o México e Antilhas até o Norte da Argentina, (Rizzini, 1971), apresentando flores de diferentes colorações. Os ipês-brancos são extremamente ornamentais e, nos últimos anos têm sido utilizados na arborização de ruas, composição de praças e parques e em reflorestamentos destinados à recomposição de vegetação arbórea, e a sua madeira pode ser empregada na construção civil. Embora seja uma espécie de grande valor, existem poucas informações a respeito de suas sementes (Lorenzi, 1992). De acordo com Kageyama e Marques (1981), espécies do gênero *Tabebuia* são pioneiras e como tal desenvolveram mecanismos adaptáveis que favorecem a dispersão e o rápido estabelecimento, possuindo pequena quantidade de reserva o que implica em curto período de viabilidade das sementes.

A germinação de suas sementes é extremamente variável, podendo haver incrementos, seguidos de novos decréscimos e acréscimos ao longo do desenvolvimento, maturação e armazenamento, acarretando perdas durante a germinação. As sementes são produzidas em pequenas quantidades e apresentam baixa germinação, diferentemente da *Tabebuia serratifolia*, produzidas em grande quantidade. Gemaque (1999) observou flutuações na porcentagem de germinação ao longo do armazenamento e Oliveira (2004) verificou que a germinação era afetada pela quantidade de compostos fenólicos produzidos em condições de estresse.

Poucos são os estudos envolvendo o processo de germinação das sementes e não existem estudos de micropropagação para essa espécie. Esses estudos podem elucidar diversos aspectos relacionados à germinação, o estabelecimento in vitro e à conservação das plantas da espécie. O objetivo deste trabalho foi identificar o melhor substrato para germinação de sementes de ipê-branco (*Tabebuia róseo-alba*).

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal Lavras utilizando-se sementes de *Tabebuia roseo-alba* cedidas pelo Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências desta universidade.

As sementes de ipê-branco foram colocadas para germinar em 4 bandejas com diferentes substratos (areia, plantmax, terra de barranco, terra+areia (1:1)), enterradas com aproximadamente 1cm de profundidade. Após a semeadura, as bandejas contendo as sementes foram mantidas em câmara de crescimento programada para 25±2°C sob iluminação artificial com fotoperíodo de 12h. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 20 sementes por tratamento. A avaliação foi feita diariamente com início aos 2 dias e encerramento aos 20 dias após a semeadura, quando as

germinações já se encontravam estabilizadas. Considerou-se como semente germinada a ocorrência da protusão de cerca de 2,0 mm da raiz primária. (Figura 1).

Calculou-se o IVG, segundo Maguire (1962). Os resultados foram analisados estatisticamente através de uma análise de variância e, para os casos em que houve significância, pelo teste de Tukey.

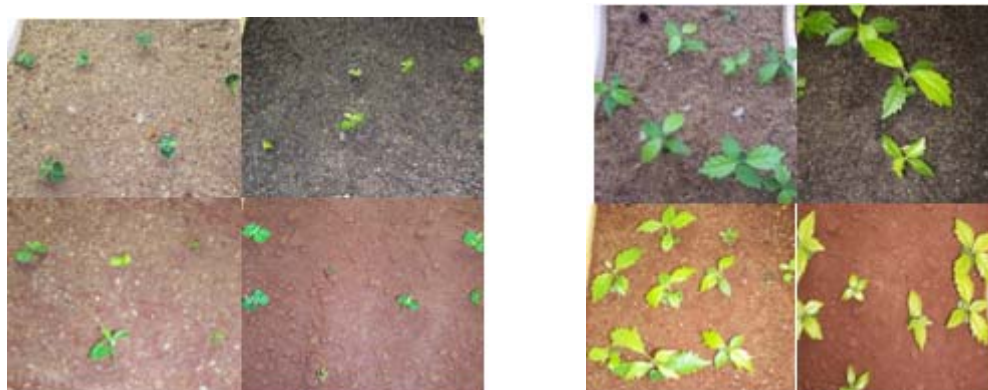


Figura 1. Aspecto da germinação aos 10 (A) e 20 (B) dias nos diferentes substratos (areia, plantmax, terra + areia e terra).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou diferença entre os tipos de substratos testados para a germinação (Tabela 1): a mistura de terra com areia (1:1) e o plantmax proporcionou a maior taxa de germinação (50%), enquanto que em terra e areia a germinação foi de 35 e 40%.

Analisando-se o IVG, o maior valor (0,95) foi observado na terra, seguido de plantmax e areia (0,89 e 0,88, respectivamente) e a mistura de terra com areia (0,81).

Tabela 1. Porcentagem de germinação e IVG de sementes de ipê-branco em diferentes substratos.

Substrato	Germinação(%)	IVG
Terra	35 b	0,95 a*
Plantmax	50 a	0,89 b
Areia	40 b	0,88 b
Areia + Terra	50 a	0,81 c

\*Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 0,05% de significância

O substrato terra foi o que apresentou a germinação mais rápida, tendo a maior parte das sementes germinadas logo no início do experimento e posteriormente uma estabilização. O plantmax, e a areia tiveram a maior taxa de germinação, porém, como nos mostra o IVG, elas ocorreram lentamente. Já mistura de terra com areia (1:1), teve sua germinação distribuída ao longo do período. Sendo assim, a terra é recomendada como melhor opção para a germinação do ipê-branco. Pode-se verificar também a estabilização da germinação após os 15 dias.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas, conclui-se que o substrato terra de barranco, é o mais indicado para a germinação do ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba*).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GEMAQUE, R. C. R. **Maturação, tolerância à dessecação e alterações na qualidade fisiológica em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) envelhecidas artificialmente.** 1999. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

KAGEYAMA, P.Y.; MARQUEZ, F.C.M. Comportamento de sementes de curta longevidade armazenadas com diferentes teores de umidade inicial: gênero *Tabebuia*, **Publicación Especial Instituto Nacional de Investigaciones Forestales**, v. 35, p. 347-352, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

OLIVEIRA, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl. Nich. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A. P. De Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente.** 2004. 160 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PALAVRAS-CHAVES

*Tabebuia roseo-alba*; sementes; terra, plantmax; Bignoniaceae

## Influência das concentrações de MS, GA<sub>3</sub> e carvão ativado na germinação de sementes de Ipê-Branco (*Tabebuia roseo-alba*).

Abbate, Letícia Caravita<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG), Campus da UFLA, CEP 37200-000 Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829-1781, email: [leticiaabade@yahoo.com.br](mailto:leticiaabade@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professora Associada do Departamento de Agricultura da UFLA; <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia da UFLA

### INTRODUÇÃO

O gênero *Tabebuia*, pertencente à família Bignoniaceae, compreende cerca de cem espécies com ampla distribuição desde o México e Antilhas até o Norte da Argentina, (Rizzini, 1971), apresentando flores de diferentes colorações. Os ipês-brancos são extremamente ornamentais, e nos últimos anos têm sido utilizados na arborização de ruas e parques e em reflorestamentos destinados à recomposição de vegetação arbórea, e a sua madeira pode ser empregada na construção civil. Embora seja uma espécie de grande valor, existem poucas informações a respeito de suas sementes (Lorenzi, 1992). De acordo com Kageyama e Marques (1981), espécies do gênero *Tabebuia* são pioneiras e como tal desenvolveram mecanismos adaptáveis que favorecem a dispersão e o rápido estabelecimento, possuindo pequena quantidade de reserva o que implica em curto período de viabilidade das sementes.

A germinação de suas sementes é extremamente variável, podendo haver incrementos, seguidos de novos decréscimos e acréscimos ao longo do desenvolvimento, maturação e armazenamento, acarretando perdas durante a germinação. As sementes são produzidas em pequenas quantidades e apresentam baixa germinação, diferentemente da *Tabebuia serratifolia*, produzidas em grande quantidade (Nery, 2005).

Uma possibilidade para a obtenção de plantas matrizes, para serem usadas como fonte de explantes em experimentos de cultura de tecidos, é a germinação *in vitro*. Quando o estabelecimento da cultura via material oriundo do campo ou de casa de vegetação traz o problema da contaminação endógena severa, esta pode ser a única fonte de material asséptico. Segundo Gricoletto (1997), a obtenção dos explantes a partir de plântulas de sementes germinadas *in vitro* evita a contaminação do material vegetal e a baixa resposta morfo genética dos tecidos arbóreos adultos.

A pouca produção de sementes viáveis de ipê-branco se torna um fator limitante para a propagação sexuada da espécie. Uma ferramenta que vem sendo amplamente utilizada para a propagação de espécies lenhosas que apresentam dificuldade de germinação é a cultura de tecidos, que pode propiciar a produção de mudas de forma efetiva. Assim, a cultura de tecidos se torna uma opção real para se tentar propagar o ipê-branco.

A técnica de cultura de tecidos têm sido bastante eficaz na propagação de várias espécies. Essa técnica permite o crescimento de células, tecidos e órgãos isolados da planta-mãe, em condições assépticas e controladas. Essa abordagem de propagação de plantas se baseia na totipotencialidade das células das plantas, o que significa que qualquer célula, no organismo vegetal, contém toda a informação genética necessária à regeneração de uma planta completa (TORRES & CALDAS, 1990).

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do GA<sub>3</sub> e de diferentes meios de cultura utilizados para a germinação do ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba*).

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal Lavras utilizando-se sementes de plantas de *Tabebuia roseo-alba* cedidas pelo Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências desta universidade.

As sementes, foram levadas à câmara de fluxo laminar, imersas em álcool 70% por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro



ativo por 20 minutos. Ao final deste tempo, as sementes foram lavadas em água destilada autoclavada por três vezes e inoculadas. Foram testados o meio MS em sua composição original, acrescido ou não de 0,2% de carvão ativado e MS 50% de concentração dos sais, ambos suplementados com 30,0 gL<sup>-1</sup> de sacarose e solidificados com 0,6% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Foram testados as concentrações de GA<sub>3</sub> (0, 0,5, 1, 2, 3, 4 mg.L<sup>-1</sup>) aplicadas aos 3 meios de cultura. Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de 36 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos casualizados, com 4 repetições e 5 sementes por parcela. A avaliação foi feita diariamente com início aos quatro dias e encerramento aos 20 dias após a semeadura. Considerou-se como semente germinada a ocorrência da protusão de cerca de 2,0 mm da raiz primária. Calculou-se o IVG, segundo Maguire (1962).

Os resultados foram analisados estatisticamente através de uma análise de variância e, para os casos em que houve significância, pela análise de regressão, ajustando-se os modelos para as equações obtidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou diferença estatística entre as concentrações de GA<sub>3</sub> para a percentagem de germinação ( $P \leq 0,05$ ) para a equação  $y = 2,828x^2 - 9,070x + 52,44$  ( $R^2 = 0,716$ ) do meio MS;  $y = -3,970x^2 + 8,082x + 72,29$  ( $R^2 = 0,759$ ) do meio MS 50% e do meio MS com carvão ativado 0,2%  $y = -10,50x^2 + 43,33x + 29,58$  ( $R^2 = 0,728$ ) (Figura 1).

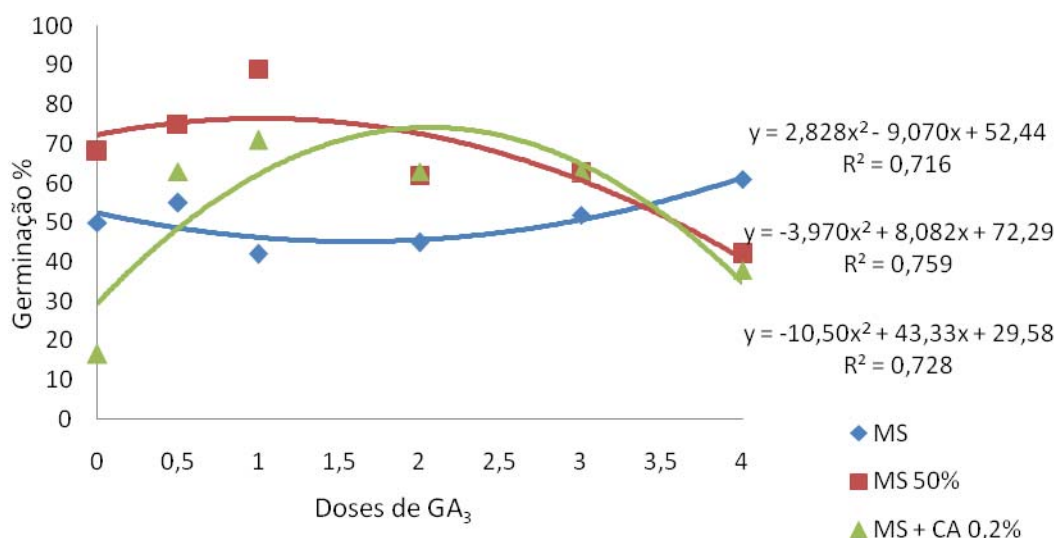


Figura 1. Germinação de sementes de ipê-branco em função das concentrações de GA<sub>3</sub> e dos diferentes meios de cultura.





Figura 2. Aspecto da germinação *in vitro* após 10 dias de inoculação.

Pelo gráfico, ajuste das curvas de regressão demonstrou a adequação de modelos polinomiais de segundo grau, e podemos visualizar que os meio MS 50% acrescido de  $1\text{mg.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  proporcionou a maior taxa de germinação e também maior IVG (Tabela 1).

#### CONCLUSÃO

O meio MS 50% acrescido de  $1\text{mg.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  proporcionou a maior taxa de germinação do Ipê-Branco (*Tabebuia roseo-alba*).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRIGOLETTO, E. R. **Micropropagação de *Hancornia speciosa* Gomez (Mangabeira)**. 1997. 76p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Brasília, Brasília, 1997.

KAGEYAMA, P.Y.; MARQUEZ, F.C.M. Comportamento de sementes de curta longevidade armazenadas com diferentes teores de umidade inicial: gênero *Tabebuia*, **Publicación Especial Instituto Nacional de Investigaciones Forestales**, v. 35, p. 347-352, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

NERY, M. C. **Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich.** 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 298p.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990. 433 p.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Tabebuia roseo-alba*; MS; ácido giberélico; sementes; Bignoniaceae

## EFEITO DO ARMAZENAMENTO TEMPORÁRIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ptychosperma macarthurii* (H. Wendl. ex. H.J. Veitch) H. Wendl. ex Hook.f.

Luz, Petterson Baptista da<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Castro, Amanda de<sup>3</sup>; Pimenta, Ricardo Soares<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando em Produção e Tecnologia de Sementes – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP, fone(16) 3209-2668, E-mail: petterbaptista@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora Dra. – Departamento de Produção Vegetal – UNESP/FCAV, E-mail: kathia@fcav.unesp.br; <sup>3</sup>Estagiária – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: amandinha-castro@hotmail.com; <sup>4</sup>Doutorando em Produção e Tecnologia de Sementes – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: pimenta@fcav.unesp.br.

### INTRODUÇÃO

As palmeiras, juntamente com as árvores, arbustos, gramados e plantas rasteiras, constituem elementos componentes de muitos parques e jardins. São mais de 3500 espécies reunidas em mais de 240 gêneros, espalhadas por todo o mundo, principalmente nas regiões da Ásia, da Indonésia, das Ilhas do Pacífico e das Américas. A espécie *Ptychosperma macarthurii* (H. Wendl. ex. H.J. Veitch) H. Wendl. ex Hook.f, de origem na Nova Guiné e nordeste da Austrália, conhecida popularmente como palmeira-de-macarthur. Apresenta múltiplos caules, ocasionalmente simples, lisos, verdes, superficialmente anelados; atinge entre 05 a 08 m de altura e 07 cm de DAP (diâmetro na altura do peito), suas folhas são pinadas, arqueadas, em número de 8 a 14 para cada haste. É uma espécie de valor ornamental, tendo seu uso freqüente na composição de vasos e na arborização de parques e jardins (Lorenzi et al., 2004).

A conservação de sementes de palmeiras é problemática; essas sementes podem ser armazenadas com sucesso por períodos variáveis, de acordo com a espécie, desde que sejam limpas e secas ao ar, polvilhadas com fungicida, embaladas hermeticamente em recipientes de plástico e armazenadas à temperatura de 18 a 23°C (Broschat, 1994).

Vários estudos foram feitos avaliando diferentes condições de armazenamento de sementes, por períodos prolongados, ou seja, acima de 30 dias, de várias palmeiras como *Euterpe edulis* (Bovi & Cardoso, 1978; Figliolia et al., 1987; Andrade et al., 1996; Nodari et al., 1998) *Euterpe oleraceae* (Araújo et al., 1994) e *Phoenix loureirii* (Araújo & Barbosa, 1992).

Não há muitas informações na literatura sobre o armazenamento temporário, ou seja, por quanto tempo as sementes se mantêm viáveis após a colheita. Graziano (1982), verificou que as sementes das palmeiras *Euterpe edulis* e *Ptychosperma macarthurii*, secas à sombra e acondicionadas em sacos de papel em condições ambientais, perderam a viabilidade 21 dias após a colheita. Pivetta et al. (2003) relataram que a porcentagem de germinação foi mais alta e rápida em sementes de *D. album* semeadas imediatamente após a colheita, diminuindo ao longo do período de 10 dias. Já para *Thrinax parviflora*, Pivetta et al. (2005) verificaram que as sementes germinaram mais lentamente quando semeadas logo após a colheita e mais rapidamente quando colocadas para germinar 6 e 7 dias após; as sementes armazenadas durante dez dias apresentaram 92% de germinação com valores máximos de germinação (94% para ambos) 4 e 5 dias após a colheita. A porcentagem de germinação por ocasião da colheita (68%) foi inferior à obtida após o armazenamento, mostrando que as sementes, quando colhidas, provavelmente ainda não tinham atingido o ponto de maturidade fisiológica.

Visando elucidar alguns aspectos referentes à produção de mudas de *Ptychosperma macarthurii*, este trabalho teve como objetivo, estudar o efeito do armazenamento temporário na germinação de sementes.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Ptychosperma macarthurii* foram coletados de exemplares existentes na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, em setembro de

2006. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal.

Os cachos foram colhidos no dia 19 de setembro de 2006, quando se observou que os frutos começaram a se desprender.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições de 25 sementes cada.

Estudou-se o efeito do armazenamento temporário durante 6 semanas, ou seja, 7 tratamentos: semeadura logo após a colheita e de 1 a 6 semanas após.

Após a colheita, o pericarpo e o mesocarpo dos frutos foram removidos por meio de atrito manual contra uma peneira e os diásporos constituídos de endocarpo e semente, enxaguados em água corrente e secos a sombra. Após este processo, foram retiradas 2 amostras com 20 sementes cada uma, para determinar o teor de água das sementes. Empregou-se o método da estufa a 105°C por 24 horas (Brasil, 1992).

Para instalação do experimento os diásporos foram acondicionados em caixas de plástico (tipo gerbox), contendo vermiculita fina, previamente umedecida, mantendo o substrato em sua capacidade de campo, utilizando água destilada com 0,2% de nistatina para evitar a contaminação por fungos, sendo, posteriormente, colocados em câmaras de germinação a uma temperatura de 25°C.

Para o armazenamento os diásporos foram acondicionados em sacos plásticos em condições de ambiente de laboratório. A cada semana, 140 diásporos eram separados, sendo 40 utilizados para determinar o teor de água das sementes, pelo método da estufa a 105°C (+-3°C) por 24 horas Brasil (1992), e o restante para realização do teste de germinação.

A contagem da germinação foi realizada diariamente, a partir da data de instalação do experimento até estabilização, utilizando como critério de germinação o aparecimento do botão germinativo.

Para determinação da porcentagem de germinação utilizou-se a fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil,1992) e o IVG foi calculado utilizando-se a fórmula proposta por (Maguire, 1962).

Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em  $\arcsin(x/100)^{1/2}$ . Para o estudo do efeito do armazenamento temporário foi realizada a análise de regressão polinomial a fim de verificar o comportamento das variáveis ao longo das 6 semanas.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à porcentagem de germinação e ao Índice de Velocidade de Germinação de sementes de *Ptychosperma macarthurii* armazenadas durante 6 semanas após a colheita são apresentados na Tabela 1.

Observa-se que não houve ajuste de regressão para porcentagem de germinação, ou seja, a porcentagem de germinação das sementes logo após a colheita, uma, duas, três, quatro, cinco e seis semanas após foram semelhantes.

Houve ajuste de regressão quadrática positiva para o índice de velocidade de germinação (Tabela 1 e Figura 1), ou seja, as sementes germinaram mais rápido após armazenamento, tendo uma diminuição desta velocidade depois de determinado tempo.

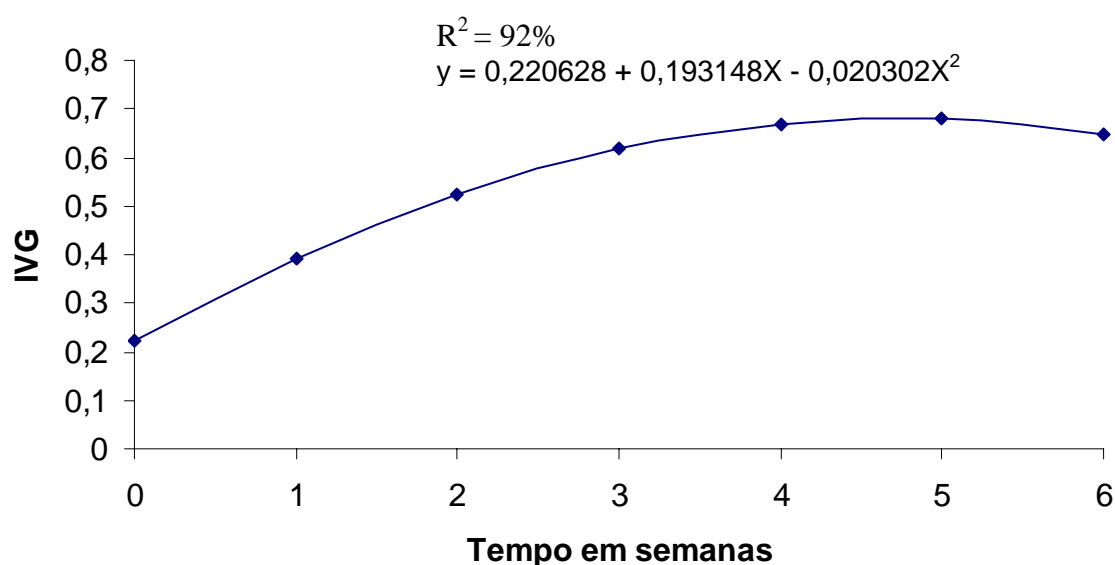
**Tabela 1.** Porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Ptychosperma macarthurii*, submetidos ao armazenamento após a colheita.

Causa de Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Período de armazenamento	6	97,8127 NS	0,1282 *
Resíduo	18	69,6995	0,0256
CV(%)		15,86	29,87

<b>Média Geral</b>		52,64	0,5361
<b>Regressão Linear</b>	1	85,9426 NS	0,5699 **
<b>Regressão Quadrática</b>	1	257,6176 NS	0,1384 **
<b>Regressão Cúbica</b>	1	17,3060 NS	0,0042 NS

NS não significativo  
 \*\* significativo a 1% de probabilidade  
 \* significativo a 5% de probabilidade  
<sup>1</sup> Dados transformados em arc sen (x/100)<sup>1/2</sup>  
<sup>2</sup> Dados não transformados

**Figura 1.** Curva de regressão entre os períodos de armazenamento e os Índices de Velocidade de Germinação de sementes de *Ptychosperma macarthurii*.



Dessa forma, o armazenamento durante 35 dias foi benéfico para as sementes de *P. macarthurii* que mantiveram altas porcentagens e germinaram mais rapidamente.

#### CONCLUSÕES

Concluiu-se que a porcentagem de germinação de sementes recém-colhidas foi semelhante àquelas armazenadas durante 1, 2, 3, 4 5 ou 6 semanas, porém, a velocidade de germinação aumentou durante o armazenamento até a quinta semana.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A.C.S., MALAVASI, M.M., COSTA, F.A. Conservação de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.): efeito das temperatura de armazenamento e do grau de umidade das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, n.2, p.149-155, 1996.

ARAÚJO, E.F., BARBOSA, J.G. Influência da embalagem e do ambiente de armazenamento na conservação de sementes de palmeira (*Phoenix loureiri* Kunth). **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.1, p.61-64, 1992.

ARAÚJO, E.F., SILVA, R.F., ARAÚJO, R.F. Avaliação da qualidade de sementes de açaí armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.16, n.1, p.76-79, 1994.

BOVI, M.L.A, CARDOSO, M. Conservação de sementes de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.). **Bragantia**, Campinas, v.37, p.65-71, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária/ Departamento Nacional de Defesa Vegetal/ Coordenadoria de Laboratórios de Análise Vegetal. 1992.365p.

BROSCHAT, T. K. Palm seed propagation. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.360, p.141-147, 1994.

FIGLIOLIA, M.B., YAMAZOE, G., SILVA, A. Germinação de sementes de *Euterpe edulis* Mart. em condições de laboratório e viveiro após tratamentos pré-germinativos. **Boletim do Instituto Florestal**, São Paulo, v.41, n.2, p.343-353, 1987.

GRAZIANO, T.T. Viabilidade de sementes de palmeiras: I. *Euterpe edulis* Mart. e *Ptychosperma macarthurii* (H. WENDL.) NICH. **Científica**, São Paulo, v.10, n. 2, p. 273-276, 1982.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, 2004. 416p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

NODARI, R.O., FANTINI, A.C., GUERRA, M.P., REIS, M.S., SCHUCH, O. Conservação de frutose sementes de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.) sob diferentes condições de armazenamento. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.22, n.1, p.1-10, 1998.

PIVETTA, K.F.L., CINTRA, G.S., PEDRINHO, D.R., PIZETTA, P.U.C., CASALI, L.P., PAULA, R.C. Efeito do armazenamento em temperatura ambiente na germinação de sementes de *Dictyosperma álbum* (Bory) H. Wendl. & Drude ex Scheffer (Arecaceae).In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14, 2003, Lavras-MG. **Resumos...** Lavras: SBFPO/UFLA, 2003. p.95.

PIVETTA, K. F. L.; CASALI, L. P.; CINTRA, G. S.; PEDRINHO, D. R.; PIZETTA, P. U. C.; PIMENTA, R. S.; PENARIOL, A. P.; MATTIUZ, C. F. M. Efeito da temperatura e do armazenamento na germinação de sementes de *Thrinax parviflora* swartz. (Arecaceae). **Científica**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.178-184, 2005.

PALAVRAS-CHAVES  
Palmeira, propagação, sementes.

---

<sup>i</sup> Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa.

## Diferentes substratos para germinação de sementes de palmeira real australiana (*Archontophoenix cunninghamii* H. Wendl. & Drude).

Luz, Petterson Baptista da<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Fernandez, Thaís Gomes<sup>3</sup>; Pimenta, Ricardo Soares<sup>4</sup>; Castro, Amanda de<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando em Produção e Tecnologia de Sementes – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP, fone(16) 3209-2668, E-mail: petterbaptista@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora Dra. – Departamento de Produção Vegetal – UNESP/FCAV, E-mail: kathia@fcav.unesp.br; <sup>3</sup>Estagiária, Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: tgfbio@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Doutorando em Produção e Tecnologia de Sementes – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: pimenta@fcav.unesp.br; <sup>5</sup>Estagiária – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: amandinha-castro@hotmail.com.

### INTRODUÇÃO

A palmeira real australiana (*Archontophoenix cunninghamii*), conhecida como seafórtia devido ao antigo nome do gênero, produz um palmito nobre, com qualidade superior quando comparado a *Euterpe oleracea* Mart. (açai ou açazeiro) que, até 1998 era responsável por mais de 80% do palmito comercializado no mercado internacional (Bovi, 1998). O gênero *Archontophoenix*, originário do leste da Austrália, é amplamente utilizado em praças e jardins ao redor do mundo como planta ornamental (Lorenzi *et al.*, 2004).

Embora seja uma palmeira de grande interesse ornamental e comercial, ainda pairam muitas dúvidas relacionadas à produção de mudas. Há poucas informações na literatura sobre os processos relacionados à germinação de sementes desta palmeira.

Como a propagação da maioria das espécies de palmeiras é feita de forma sexuada, conhecimentos sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de palmeiras são de extrema importância. Sabendo-se que, com poucas exceções, essas plantas só podem ser propagadas por meio de sementes, além de apresentarem germinação lenta e desigual (Meerow, 1991).

Entre os fatores que afetam a germinação de sementes, o substrato empregado é de grande importância.

O substrato utilizado nos testes de germinação também apresenta grande influência no processo germinativo, pois fatores como estrutura, aeração, capacidade de retenção de água e grau de infestação de patógenos podem variar de acordo com o tipo de material usado (Popinigis, 1977).

Embora não esteja descrita ou prescrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), a vermiculita vem sendo recomendada como um excelente substrato para sementes de grandes dimensões e de formato arredondado, permitindo o desenvolvimento mais adequado de plântulas durante o teste de germinação, em função do maior contato entre as sementes e o substrato (Figliolia *et al.*, 1993).

Para um substrato ser utilizado em um teste de germinação deve preencher certos requisitos: ser atóxico à semente ser isento de microorganismos e manter uma proporção adequada entre a disponibilidades de água e a aeração, (Copeland & McDonald, 1985). A escolha do substrato, conforme relata Brasil (1992) tem que ser feita em função da espécie e considerando algumas das características, tais como tamanho das sementes, a necessidade de água e luz e a facilidade da contagem e avaliação das plântulas.

Yocum (1964), referiu-se à vermiculita como um substrato adequado para a germinação de palmeiras, por ser livre de pragas e doenças, ter boa drenagem e capacidade de retenção de umidade. Segundo observação do autor, a maneira conveniente de inserção das sementes no meio dependerá da forma dessas sementes. Aquelas com formatos elipsóides ou ovóides devem ser dispostas horizontalmente, enquanto que as arredondadas não dispensam maiores cuidados. É importante o conhecimento da região da micrópila, segundo o autor, ao fazer a sementeira, as sementes devem ficar com a metade exposta acima da superfície do meio de germinação.

Com relação ao substrato utilizado num teste de germinação é importante mantê-lo uniformemente úmido, a fim de suprir as sementes com a quantidade de água necessária para sua germinação e desenvolvimento. O excesso de umidade provoca um decréscimo da germinação, pois impede a penetração de oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante, além de aumentar a incidência de fungos, levando à redução da viabilidade (Figliolia *et al.*, 1993).

Potenciais hídricos muito negativos, especialmente no início da embebição, influenciam a absorção de água e podem inviabilizar a seqüência de eventos que culminam com a emergência das plântulas (Bansal *et al.*, 1980), retardando ou reduzindo a velocidade de germinação em muitas espécies vegetais por interferir na hidratação da semente (Tambelini & Perez, 1998).

O esfagno e a vermiculita são substratos considerados adequados para condições de viveiro (Meerow, 1991), sendo o esfagno recomendado para sementes de palmeiras de difícil germinação, enquanto, para outras espécies com maior facilidade, o substrato pode ser constituído por esfagno misturado com a mesma quantidade de vermiculita, perlita, areia, serragem, rochas ou cinzas vulcânicas (Markus & Banks, 1999).

Estudos visando encontrar um substrato que seja mais adequado para a germinação de sementes de palmeiras têm sido feitos em outros países, como os de Villalobos e Herrera (1991) e Clement e Dudley (1995); porém, os resultados, freqüentemente, não são aplicáveis nas condições brasileiras, pois os substratos testados nem sempre são encontrados com facilidade, como é o caso de perlita, cinzas vulcânicas e outros.

Frazão & Pinheiro, trabalhando com sementes de babaçu (*Orbignya phareolata*), notaram que o uso vermiculita, na temperatura de 30°C, resultou na metade do período de germinação, quando comparada com areia lavada.

Já Marcus & Banks (1999), recomendam o uso de esfagno como substrato para sementes de palmeiras que apresentam difícil germinação, enquanto que aquelas espécies com facilidade para germinarem podem ser semeadas em um substrato constituído por esfagno somente ou misturado com a mesma quantidade de vermiculita, perlita, areia, serragem, rochas ou cinzas vulcânicas com no máximo 9 mm de diâmetro.

Para germinação de sementes de tamareira-anã, lossi *et al.*, (2003), não observou diferenças entre os substratos esfagno, areia, vermiculita e serragem, mas observou o melhor desenvolvimento de plantas no esfagno.

Aguiar *et al.*, (2005) estudaram a germinação de sementes de *Rhapis excelsa* colhendo frutos em três estádios de maturação (amarelos, intermediários e pretos), em três temperaturas (25°C e 35°C constantes e alternadas de 25-35°C) sob luz ou escuro contínuo e em três substratos diferentes (areia, vermiculita e turfa). Os melhores resultados obtidos foram com frutos amarelos, com a temperatura constante de 25°C, escuro contínuo e uso da areia.

Bovi (1998) relatou que o período de germinação para sementes de *A. cunninghamii* varia entre 30 e 90 dias. Mas faltam informações conclusivas sobre as condições adequadas para a germinação de *A. cunninghamii*. Neste sentido, o presente trabalho buscou avaliar o comportamento germinativo de *A. cunninghamii*, quanto ao fator tipo de substrato, visando subsidiar a condução do teste de germinação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Archontophoenix cunninghamii* foram coletados de 10 exemplares existentes na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, em julho de 2005. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal.

Após a colheita, o pericarpo e o mesocarpo dos frutos de *Archontophoenix cunninghamii* foram removidos por meio de atrito manual contra uma peneira e os diásporos constituídos de endocarpo e semente, enxaguados em água corrente e secos a sombra durante um dia. Após este processo foram retiradas 5 amostras com 20 sementes cada uma para determinar o teor de água das sementes. Empregou-se o método da estufa a 105°C por 24 horas (Brasil, 1992).

Determinou-se a porcentagem de germinação e o Índice de Velocidade de Germinação. A porcentagem de germinação foi calculada pela fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) e o índice de velocidade de germinação das plântulas foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962).

Foram avaliados três substratos (areia, vermiculita e esfagno) em regime de temperatura alternada de 25°C-35°C. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 7 repetições de 25 sementes.

Para o teste de germinação fez-se o uso de germinadores com fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, em caixas plásticas transparentes com tampa (gerbox), nas dimensões de 11 x 11 x 3 cm. O teste foi conduzido durante um período de 55 dias, sendo interrompido quando se contaram 14 dias sem que houvesse um evento de germinação em nenhuma amostra.

As regas foram realizadas sempre que necessário, sendo que a primeira irrigação foi realizada com solução de nistatina em água destilada com 0,2%, para se evitar a contaminação por fungos.

Para o cálculo do IVG, bem como, da porcentagem de germinação, o critério de germinação utilizado será o da protrusão da radícula através do tegumento.

Os resultados observados foram submetidos à análise de variância com auxílio do programa SISVAR<sup>®</sup> (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os dados de porcentagem de germinação foram normalizados por meio da transformação em arco seno da raiz quadrada da porcentagem de germinação, e analisados estatisticamente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por ocasião da instalação do experimento, as sementes apresentavam teor de água de 36,33%.

Houve efeito significativo dos substratos na germinação de sementes de *A. cunninghamii* (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância para a porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de *Archontophoenix cunninghamii* em diferentes substratos.

Porcentagem de germinação (%)				
Causas de Variação	GL	S.Q	Q.M	F
Tratamento	2	642,8184	321,4092	7,89**
Resíduo	18	732,7354	407075	
Índice de velocidade de germinação (IVG)				
Causas de Variação	GL	S.Q	Q.M	F
Tratamento	2	0,7471	0,3735	2,98 <sup>NS</sup>
Resíduo	18	2,2543	0,1252	

NS não significativo

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

Os melhores resultados foram obtidos com o substrato vermiculita. O substrato esfagno e areia proporcionaram uma menor porcentagem de germinação de sementes *A. cunninghamii* como podemos observar na (Tabela 2).



Tabela 2. Porcentagem de germinação de sementes de *A. cunninghamii* submetidas a diferentes substratos.

Substratos	Porcentagem de germinação
Areia	86,28 ± 6,03 B
Vermiculita	93,14 ± 7,63 A
Esfagno	78,85 ± 5,23 B
<b>Coefficiente de Variação (%)</b>	9,19

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Pode-se observar que não houve diferença nos índices de velocidade de germinação (IVG), nos diferentes substratos, para sementes de *Archontophoenix cunninghamii* (Tabela 3).

Tabela 3. Índice de Velocidade de Germinação de sementes de *Archontophoenix cunninghamii* submetidas a diferentes substratos.

Substratos	Índice de Velocidade de Emergência (IVG) Sementes/dia
Areia	1,56 ± 0,28 A
Vermiculita	1,93 ± 0,47 A
Esfagno	1,51 ± 0,26 A
<b>Coefficiente de Variação (%)</b>	21,16

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Esses resultados vão de acordo com os obtidos por Yocum (1961), que considerou, genericamente, a vermiculita como um substrato adequado para a germinação de sementes de palmeiras. De fato, a vermiculita é um substrato muito utilizado por pesquisadores na condução de experimentos com germinação de sementes de palmeiras em geral.

## CONCLUSÃO

O melhor substrato para a germinação de sementes de *Archontophoenix cunninghamii* foi a vermiculita.

Não podemos descartar o fato de que na areia (substrato mais barato) a germinação apesar de inferior a vermiculita (mais caro) foi superior a 80%.

Nenhum dos substratos promoveu aumento na velocidade de germinação das sementes.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, F.F.A.; BILIA, D.A.C.; KANASHIRO, S.; TAVARES, A.R.; BARBEDO, C.J. Germinação de sementes de *Rhapis excelsa* (Thunb.) Henry ex Rehder: efeitos da temperatura, luz e substrato. **Hoehnea**, São Paulo, v.32(1): p.119-126, 2005.

BANSAL, R. P.; BHATI, P. R.; SEN, D. N. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biologia Plantarum**, Praha, v.22, p.327-331, 1980.

BOVI, M.L.A. **Cultivo da palmeira real australiana visando à produção de palmito**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1998. 26 p. (Boletim Técnico 172).

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária, 1992. 365p.

CLEMENT, C. R.; DUDLEY, N. S. Effect of bottom heat and substrate on seed germination of peijibaye (*Bactris gasipaes*) in Hawaii. **Principes**, Lawrence, v.39, n.1, p.21-24, 1995.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 2nd ed. Burgess Publ. Co., Minneapolis, Minn. 1985.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: I.B. Aguiar, F.C.M. Piña-Rodrigues & M.B. Figliolia (eds). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993, p. 137-174.

FRAZÃO, F. M. F.; PINHEIRO, C. U. B. Experimentos com germinação de amêndoas de babaçu (*Orbignya spp.*) II. São Luiz: Inst. Est. Babaçu, 1981. Manuscrito.

IOSSI, E.; SADER, R.; PIVETTA, K.F.L.; BARBOSA, J.C. Efeitos de substratos e temperaturas na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien). **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, p.63-69. 2003.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras exóticas e cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2004. 416 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARCUS, J.; BANKS, K. A practical guide to germination palm seeds. **Principes**, Lawrence, v.43, n.2, p.56-59, 1999.

MEEROW, A. W. **Palm Seed Germination**. Flórida: Cooperative Extension Service, 1991. 10p. (Bulletin 274).

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1977. 209p.

TAMBELINI, M.; PEREZ, S. C. J. G. Efeitos de estresse hídrico simulado com peg (6000) ou manitol na germinação de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.226-232, 1998.

VILLALOBOS, R., HERRERA, J. Seed germination in pegibaye (*Bactris gasipae*). I. Effect of temperature and substrate. **Agronomia-Costarricense**, San Jose, v. 15, n. 1-2, p.57-62, 1991.

YOCUM, H.G. Factores affecting the germination of palm seeds. **American Horticultural Magazine**, Washington, v.43, n.2, p.200-201, 1964.

PALAVRAS-CHAVES

Palmeira, substrato, germinação, sementes.

---

<sup>i</sup> Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa.

## **Germinação de sementes de *Archontophoenix cunninghamii* H. Wendl. & Drude em diferentes períodos de imersão em água destilada.**

Luz, Petterson Baptista da<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Castro, Amanda de<sup>3</sup>; Pimenta, Ricardo Soares<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando em Produção e Tecnologia de Sementes – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP, fone(16) 3209-2668, E-mail: petterbaptista@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professora Dra. – Departamento de Produção Vegetal – UNESP/FCAV, E-mail: kathia@fcav.unesp.br; <sup>3</sup>Estagiária – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: amandinha-castro@hotmail.com; <sup>4</sup>Doutorando em Produção e Tecnologia de Sementes – Departamento de Produção Vegetal - UNESP/FCAV, E-mail: pimenta@fcav.unesp.br.

### **INTRODUÇÃO**

A palmeira real australiana (*Archontophoenix cunninghamii*) é uma palmeira elegante de 8-10 m de altura, caule cilíndrico, levemente anelado e folhas pinadas. Espécie muito utilizada no paisagismo na arborização de parque e jardins, sendo disposta, isoladamente, em grupos ou fileiras (Lorenzi *et al.*, 2004). Conhecida como seafórtia devido ao antigo nome do gênero, produz um palmito nobre, com qualidade superior quando comparado a *Euterpe oleracea* Mart. (açai ou açazeiro) que, até 1998 era responsável por mais de 80% do palmito comercializado no mercado internacional (Bovi, 1998). O gênero *Archontophoenix*, originário do leste da Austrália, é amplamente utilizado em praças e jardins ao redor do mundo como planta ornamental (Lorenzi *et al.*, 2004). Embora seja uma palmeira de grande interesse ornamental e comercial, ainda pairam muitas dúvidas relacionadas à produção de mudas. Há poucas informações na literatura sobre os processos relacionados à germinação de sementes desta palmeira.

Como a propagação da maioria das espécies de palmeiras, é feita de forma sexuada, conhecimentos sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de palmeiras são de extrema importância (Meerow, 1991).

Segundo Carvalho *et al.* (2005), o mecanismo de controle da germinação de sementes de palmeiras é pouco conhecido. Para esses autores uma das características da germinação de sementes de palmeiras é apresentar uma variação quanto ao número de dias requeridos para germinarem. É comum que sementes de palmeira não dêem respostas favoráveis, mesmo em condições adequadas de germinação, podendo este fato estar relacionado a obstáculos mecânicos como espessura da testa e endocarpo (Tomlinson, 1990). Broschat & Donselman (1988), afirmam que por ser a germinação de sementes de palmeiras bastante lenta, torna-se necessário adotar mecanismos que acelerem esse processo. Diversos autores realizaram trabalhos em que o despulpamento do fruto e a embebição possibilitam aumentar a porcentagem de germinação das sementes de palmeiras (Bovi, 1990; Bovi *et al.*, 1987).

Na produção de mudas de palmeiras, visando acelerar e uniformizar o processo germinativo de algumas espécies tem sido recomendada a imersão em água, que é indicado para as sementes de *Copernicia* spp. (Kitzke, 1958), *Aiphanes erosa*, *Archontophoenix alexandrae*, *Areca lynn*, *Chrysalidocarpus lutescens*, *Dictyosperma aureum*, *Thrinax parviflora* e *Verschaffeltia splendida* (Odetola, 1987). O período de imersão é variável entre as espécies, como três dias para *Ptychosperma macarthurii*, *P. sanderianus* (Odetola, 1987) e *Hyphaene thebaica* (Moussa *et al.*, 1998), cinco dias para *Arenga microcarpa*, *Phoenix acaulis* e *P. dactylifera* (Odetola, 1987) e sete dias para *Copernicia alba* e *Elaeis oleifera* (Lorenzi *et al.*, 2004). A troca diária da água é fundamental para evitar o aparecimento de limo, o apodrecimento das sementes e, ou, o desenvolvimento de microrganismos (Kitzke, 1958).

Com isso o presente trabalho objetivou avaliar a capacidade e a velocidade de germinação, sementes de *A. cunninghamii* submetidas a processo pré-germinativo constituídos de diferentes períodos de imersão em água destilada.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Archontophoenix cunninghamii* foram coletados de exemplares existentes na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal em outubro de 2006. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Estudou-se o efeito da embebição das sementes durante 7 dias, ou seja, 8 tratamentos: semeadura logo após a colheita e de 1 a 7 dias após. Para ambos, utilizou-se 4 repetições de 25 sementes cada.

Após a colheita, o pericarpo e o mesocarpo dos frutos foram removidos por meio de atrito manual contra uma peneira e os diásporos constituídos de endocarpo e semente, enxaguados em água corrente e secos a sombra. Depois deste processo, foram retiradas 2 amostras com 20 sementes cada uma, para determinar o teor de água das sementes, após cada dia de embebição essa operação era repetida. Empregou-se o método da estufa a 105°C por 24 horas (Brasil, 1992).

Foram anotados os dados biométricos dos diásporos (sementes com o endocarpo aderido) em uma amostra de 100 unidades e tomadas medidas de comprimento e largura, com o auxílio de um paquímetro digital, anotados o peso de mil diásporos e número de diásporos por Kg.

Para instalação do experimento os diásporos foram acondicionados em caixas de plástico (tipo gerbox), contendo vermiculita fina, previamente umedecida, mantendo o substrato em sua capacidade de campo, utilizando água destilada com 0,2% de nistatina para evitar a contaminação por fungos, sendo, posteriormente, colocados em câmaras de germinação em temperatura alternada de 25-35°C, o período luminoso correspondeu à temperatura mais elevada, utilizando-se fotoperíodo de 12 horas.

Para a embebição os diásporos foram acondicionados em caixas gerbox em condições de ambiente de laboratório. Cada gerbox continha 140 diásporos totalmente submersos em água destilada, sendo 40 utilizados para determinar o teor de água das sementes.

A contagem da germinação foi realizada diariamente, a partir da data de instalação do experimento até estabilização, utilizando como critério de germinação o aparecimento do botão germinativo. Para determinação da porcentagem de germinação utilizou-se a fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). O IVG foi calculado utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962). Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em  $\arcsin(x/100)^{1/2}$ . Foi realizado a análise de regressão polinomial a fim de verificar o comportamento das variáveis ao longo dos 7 dias.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Observou-se que o tempo de embebição proporcionou menores taxas de germinação e não afetou o IVG de modo significativo (Tabela 1). A exposição das sementes em água destilada não contribuiu para uma maior número de sementes germinadas.

**Tabela 1.** Porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Archontophoenix cunninghamii*, submetidos a embebição após a colheita.

Causa de Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Período de embebição	7	130,95*	0,6480 NS
Resíduo	21	45,74	0,4259
CV(%)		8,88	19,40

<b>Média Geral</b>		76,18	3,3649
<b>Regressão Linear</b>	1	707,52**	1,1592 NS
<b>Regressão Quadrática</b>	1	32,14 NS	0,0196 NS
<b>Regressão Cúbica</b>	1	10,54 NS	0,5839 NS

NS não significativo

\*\* significativo a 1% de probabilidade

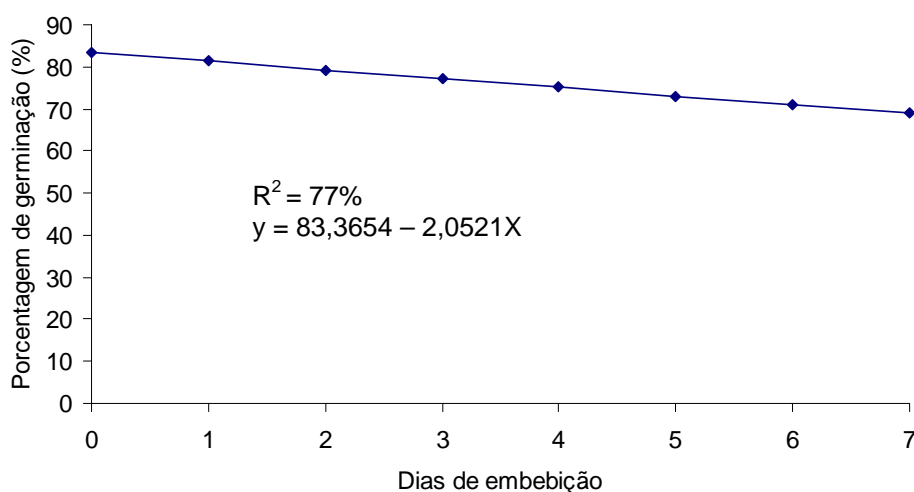
\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>1</sup> Dados transformados em arc sen (x/100)<sup>1/2</sup>

<sup>2</sup> Dados não transformados

Observa-se que não houve ajuste de regressão para o índice de velocidade de germinação, ou seja, o índice de velocidade de germinação das sementes logo após a colheita, um, dois, três, quatro, cinco, seis e sete dias de embebição foi semelhante. O maior índice de velocidade de germinação foi obtido após 6 horas de embebição em água destilada 4,1864 e o menor índice foi após 2 horas de embebição 2,9579.

Houve ajuste de regressão linear negativa para porcentagem de germinação (Figura 1), ou seja, as sementes germinaram menos após embebição.



**Figura 1.** Curva de regressão entre os períodos de embebição e a porcentagem de germinação de sementes de *Archontophoenix cunninghamii* (dados transformados em arc sen (x/100)<sup>1/2</sup>).

Observou-se ainda que a taxa de germinação das sementes de *A. cunninghamii* foi inversamente proporcional ao tempo de embebição, alcançando aproximadamente 98% nas sementes não embebidas e 85% de germinação após 8 dias de embebição.

A embebição pode favorecer a velocidade de germinação de sementes, visto que a absorção de água representa o passo inicial do processo germinativo. Em *A. cunninghamii*, este efeito benéfico não foi observado, nem na velocidade de germinação como na porcentagem de sementes germinadas.

## CONCLUSÃO

E imersão de sementes de *A. cunninghamii* em água destilada não foi eficiente no tratamento germinativo para esta espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOVI, M.L.A. Pré-embebição em água e porcentagem e velocidade de emergência de sementes de palmito. **Bragantia**. v.49, n.1, p.11-22, 1990.

BOVI, M.L.A. **Cultivo da palmeira real australiana visando à produção de palmito**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. 26 p. (Boletim Técnico 172).

BOVI, M.L.A.; GODOY-JÚNIOR, A.G.; SÁEZ, L.A. Pesquisas com os gêneros *Euterpe* e *Bactris* no Instituto Agrônomo de Campinas. **O Agrônomo** v.39, n.2, p.129-174, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária, 1992. 365p.

BROSCHAT, T.; DONSELMAN, H. Palm seed storage and germination studies. **Principes** v.32, n.1, p.3-12, 1988.

CARVALHO, N.O.S.; PELACANI, C.R.; RODRIGUES, M.O. de. S.; CREPALDI, I.C. Uso de substâncias reguladoras e não-específicas na germinação de sementes de licuri (*Syagrus coronata* (MART.) BECC). **Sitientibus Série Ciências Biológicas** v.5, n.1, 28-32. 2005.

KITZKE, E.D. A method for germinating *Copernicia* palm seeds. **Principes**, v.2, n.1, p.5-8, 1958.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras exóticas e cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2004. 416 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p. 176-177, 1962.

MEEROW, A. W. **Palm Seed Germination**. Florida: Cooperative Extension Service, 1991. (- Bulletin 274), 10p.

MOUSSA, H.; MARGOLIS, H.A.; DUBÉ, P.A.; ODONGO, J. Factors affecting the germination of doum palm (*Hyphaene thebaica* Mart.) seeds from the semi-arid zone of Niger, West Africa. **Forest Ecology and Management**, v.104, n.1, p.27-34, 1998.

ODETOLA, J.A. Studies on seed dormancy, viability, and germination in ornamental palms. **Principes**, v.31, n.1, p.24-30, 1987.

TOMLINSON, P.B. **The structural biology of palms**. Oxford, Clarendon Press, 1990. 477 p.

PALAVRAS-CHAVES

*Archontophoenix cunninghamii*, propagação, germinação, sementes.

---

<sup>i</sup> Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa.

## Produção de mudas de vinca em substratos com resíduos da casca de coco verde

Fred Carvalho Bezerra<sup>1</sup>; Daniel Barbosa Araújo<sup>2</sup>; Antônio Valdônio dos Reis Lima<sup>2</sup>; Mosyleide de Freitas Rosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pesquisador Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto Pici, CEP 60.511-110, Fortaleza/CE, Fone (85) 3299.1828, [fred@cnpat.embrapa.br](mailto:fred@cnpat.embrapa.br)

<sup>2</sup> Aluno de Graduação do Curso de Agronomia da UFC.

O consumo de água de coco verde produz uma elevada quantidade de resíduos orgânicos, tornando-se um problema ambiental, principalmente com relação à sua disposição final. Uma alternativa para minimizar o impacto ambiental provocado pelos mesmos é a reciclagem, como por exemplo na forma de substrato agrícola, como já vem sendo feito com outros tipos de resíduos, como lixo urbano, lodo de esgoto, bagaço de cana, entre outros.

Uma etapa importante na produção de flores e plantas ornamentais é a utilização de mudas de qualidade e o substrato usado é de suma importância para o desempenho da futura planta. O substrato deve permitir um bom desenvolvimento do sistema radicular da muda durante a sua permanência no viveiro e na sua escolha deve ser considerado o custo, tipo de material, facilidade de manuseio, peso e disponibilidade. O trabalho teve como objetivo utilizar substratos à base de resíduos da indústria do coco verde (casca), compostada ou não, na produção de mudas de vinca.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e constou de cinco tratamentos (substratos): T1: Comercial Hortimix (controle), T2: Composto de poedeira + Pó de coco verde (1:3), T3: Composto de poedeira + Pó de coco verde + Solo (1:2:1), T4: Composto de cama de frango + Pó de coco verde + solo (1:2:1), T5: Composto Bovino + Pó de coco verde + solo (1:1:1). A semeadura foi feita em bandeja plástica com 288 células (5ml/célula) usada normalmente por uma empresa de produção de "plugs", colocando-se três sementes/célula de vinca (*Catharanthus roseus*), variedade Heat Wave, deixando-se apenas uma plântula/célula após o raleio aos 7 dias. Nos cinco primeiros dias as plântulas foram sombreadas a 50% e após este período permaneceram a sol pleno sob cobertura plástica até o final do experimento. A percentagem de germinação foi avaliada no sétimo dia após a semeadura e no final do experimento, aos 30 dias após a semeadura, foram determinados a percentagem de sobrevivência, altura e número de folhas totalmente expandidas das plântulas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, com 10 plântulas por repetição.

Não foram observadas diferenças significativas para a percentagem de germinação entre os substratos testados, à exceção para o substrato T5 que apresentou os menores valores. Para a percentagem de sobrevivência de plântulas não foram observadas diferenças significativas entre os substratos testados. Os melhores resultados para as variáveis altura e número de folhas foram observados no substrato comercial e no substrato composto de cama de frango + Pó de coco verde + solo (1:2:1). Os tratamentos 2, 3 e 5 apresentaram valores bastante inferiores aos tratamentos 1 e 4 com relação à altura das plantas, mas valores próximos para a variável número de folhas, apesar das mesmas apresentarem tamanhos menores do que aquelas observadas nos tratamentos 1 e 4, ressaltando-se que essa observação foi feita visualmente. Todas as plântulas onde foi usado o substrato 2 (Composto de poedeira + Pó de coco verde: 1:3), apresentaram folhas amareladas. Todos os substratos proporcionaram boa formação de torrão por ocasião da retirada das mudas do recipiente. Os materiais usados no presente trabalho apresentam potencial para serem usados como substratos.

Palavras-chaves: propagação, muda, substrato, vinca

## Uso de indutores de enraizamento na produção de mudas por estaquia de cróton (*Codiaeum variegatum* Blume).

Ribeiro, Ana Paula<sup>1</sup>; Kabbach, Luiz Gustavo Ares<sup>2</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Avenida Brasil nº56, CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (18) 3743-1000, e-mail: [ana\\_righetto@yahoo.com.br](mailto:ana_righetto@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, e-mail: [lgkabbach@yahoo.com.br](mailto:lgkabbach@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – Unesp / Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br).

### INTRODUÇÃO

O Cróton é uma planta arbustiva de folhagem muito exuberante originária da Ásia. Ele apresenta caule de textura semi-lenhosa a lenhosa e látex tóxico. Suas folhas são coriáceas e brilhantes e podem ser afiladas, lobadas, ovaladas ou retorcidas, de tamanhos variados. No entanto o que mais chama a atenção nesta planta é o colorido de suas folhas, que se mostram mescladas de vermelho, roxo, rosa, branco, amarelo, verde ou laranja, nas mais variadas combinações. O porte do cróton pode alcançar 2-3 metros de altura (JARDINEIRO.net).

Devem ser cultivados sob sol pleno ou sombra-parcial em solo fértil, leve e enriquecido com matéria orgânica, com regas regulares. Tipicamente tropical, o cróton não é tolerante ao frio e às geadas. Multiplica-se por estaquia e alporquia.

De acordo com Paiva e Gomes (1993), dentre os métodos de propagação vegetativa, a estaquia é ainda a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, pois permite, a um custo menor, a multiplicação de genótipos selecionados em um curto período de tempo.

Algumas técnicas são utilizadas para tentar maximizar percentual de enraizamento de estacas, entre as mais utilizadas destaca-se a aplicação exógena de reguladores de crescimento sintéticos de crescimento da planta. O ácido indolbutírico (AIB) é um dos mais empregados e mais eficientes por ser fotoestável e ser imune à ação biológica.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o uso de indutores de enraizamento na produção de mudas de cróton (*Codiaeum variegatum* Blume), em ambiente protegido.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” UNESP – Ilha Solteira / SP, no período de 26 de fevereiro a 13 de abril, utilizando-se estacas lenhosas de *Codiaeum variegatum* Blume (cróton, louro-variegado, folha-imperial), obtidas no mesmo local, providas da planta mãe com cinco anos de idade.

Utilizou-se estacas com nove centímetros de comprimento, sem folhas, que ficaram com 6 cm submersa em água até o momento do tratamento. Foram utilizados os seguintes tratamentos: 1 - testemunha; 2 - Clone Gel a 1000 ppm de AIB; 3 - ácido indolbutírico a 1000 ppm pó e 4 - Max Vigor pó.

Max Vigor é um fertilizante farelado de Ferro (4%) e Zinco (4%) indicado como enraizador de violetas, mudas pequenas e estacas, fabricado pela Ouro Flora.

Clone Gel é um composto completo de micronutrientes, vitaminas anti-stress e hormônio AIB. Clone Gel vem pronto para uso e foi especialmente formulado para promover a clonagem de mudas por estaquia. Sua forma em gel evita a embolia das mudas.

Conduziu-se o experimento em casa de vegetação, modelo Poly Vento (duas águas), numa área climatizada de 139,52 m<sup>2</sup>, com estrutura metálica, coberta em placas de policarbonato alveolar transparente, de espessura de 10 mm, com tratamento contra raios ultravioleta, fixadas com perfis de alumínio, com sistema automático de resfriamento e ventilação/exaustão. A irrigação foi realizada manualmente todos os dias, por 45 dias, quando então se realizou a avaliação do experimento.



O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos e três repetições, utilizando-se oito estacas por repetição, avaliando-se as brotações diariamente e as demais avaliações após 45 dias.

As estacas foram avaliadas quanto à porcentagem de estacas enraizadas, massa seca das raízes, porcentagem de estacas com brotações, número de brotos por estaca, peso fresco e seco dos brotos e peso fresco das estacas.

As brotações, estacas e raízes foram pesadas em uma balança analítica e colocadas na estufa a 60°C, por 48 horas e pesadas novamente.

Os resultados foram avaliados através do programa ESTAT – Sistema para Análises Estatísticas. Obteve-se a análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, para comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, verifica-se a porcentagem de estacas enraizadas e porcentagem de estacas com brotos. A porcentagem de enraizamento das estacas foi de 100% para a testemunha, Clone Gel e AIB, mostrando que a aplicação do indutor de enraizamento não mostrou resultados significativos quanto a porcentagem de estacas enraizadas, como nos trabalhos de Ferrani et al.(2006) onde a aplicação do ácido indolbutírico não favoreceu a indução radicial de azaléia nas concentrações utilizadas; e no trabalho de Bastos et al. (2004) que também não obteve efeitos significativos na aplicação do AIB. Já no trabalho de Tofanelli et al. (2002) a utilização de AIB nas concentrações de 2000 e 3000 mg.L<sup>-1</sup> foi eficiente na promoção do enraizamento de estacas semilenhosas dos cultivares de pessegueiro.

TABELA 1: Porcentagem de estacas enraizadas e porcentagem de estacas com brotos para os diferentes tratamentos.

Tratamento	% Estacas Enraizadas	% Estacas c/ Brotos
Testemunha	100%	100%
Clone Gel	100%	100%
AIB	100%	100%
Max Vigor	70,8%	75%

A aplicação do enraizador Max Vigor apresentou porcentagem de enraizamento inferior aos demais tratamentos, com 70,8% de estacas enraizadas, assim como na porcentagem de brotação que foi de 75%. Nos demais tratamentos obteve-se 100% de estacas com brotação.

Na Tabela 2 verificam-se os valores médios de peso seco de raiz, número de brotos, massa fresca e massa seca das brotações e massa fresca das estacas, referentes aos diferentes tratamentos.

Na avaliação do peso seco das raízes, a testemunha e o tratamento com AIB não diferiram estatisticamente, sendo que a testemunha apresentou maiores valores absolutos. O tratamento com Max Vigor apresentou resultados inferiores aos demais.

Com relação ao parâmetro número de brotos por estacas, observou-se que a testemunha, o AIB e Clone Gel não diferiram estatisticamente. O tratamento com Max Vigor apresentou os menores resultados e não diferiu estatisticamente do tratamento com AIB. O tratamento com Clone Gel apresentou os melhores resultados para esta avaliação.

A testemunha foi a que apresentou os melhores resultados quanto a massa seca e fresca de brotos e massa seca de estacas.

Pela avaliação massa fresca e massa seca de brotos, a testemunha, o Clone Gel e o AIB não diferiram estatisticamente entre si, sendo que o tratamento que apresentou os menores resultados foi o Max Vigor.

Para massa fresca das estacas, os tratamentos não se diferiram estatisticamente entre si, mostrando que as estacas não influenciaram nos resultados obtidos.

TABELA 2: Efeito de indutores de enraizamento na produção de mudas de *Codiaeum variegatum*.

Tratamento	Peso Raiz (g)	Nº Brotos	MF Brotos (g)	MS Brotos (g)	MF Estaca (g)
Testemunha	1,72 A	3,21 A	3,61 A	0,46 A	12,21 A
Clone Gel	0,96 B	3,37 A	3,22 A	0,42 A	10,38 A
AIB	1,60 A	3,16 AB	2,94 A	0,39 A	10,33 A
Max Vigor	0,52 C	2,33 B	1,54 B	0,19 B	11,76 A
CV%	13,69%	13,66%	16,63%	16,21%	8,73%

MF: Massa Fresca

MS: Massa Seca

Na Figura 1 observam-se os dias em que surgiram as brotações nas estacas com os diferentes tratamentos utilizados.

As estacas tratadas com AIB apresentaram uma maior uniformidade de brotação e 20 dias após a implantação do experimento, 100% das estacas já se mostravam com brotos, juntamente com a testemunha.

O tratamento com Max Vigor não se mostrou eficiente, apresentando brotações tardias em relação aos demais tratamentos utilizados. As estacas tratadas com Clone Gel atingiram 100% de brotação nove dias após a testemunha e o AIB.

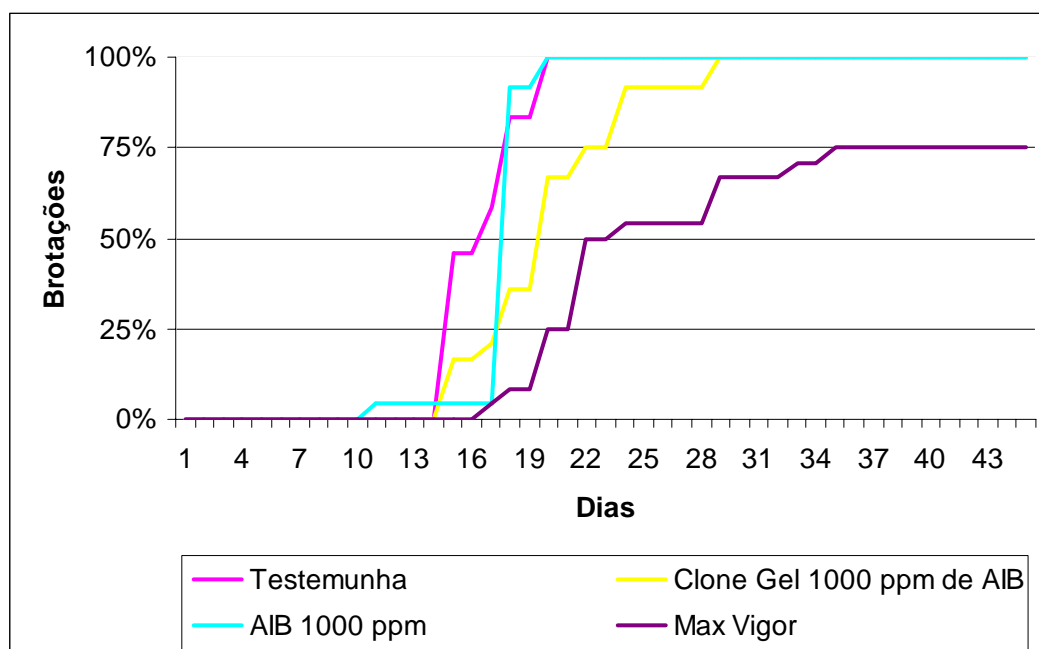


FIGURA 1: Percentagem de estacas com brotos em relação ao número de dias.

## CONCLUSÃO

Para a propagação vegetativa por estaquia da espécie *Codiaeum variegatum* Blume (cróton), a utilização de indutores é desnecessária para enraizamento e brotação das estacas devido a espécie possuir grande facilidade de formação de raízes adventícias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASTOS, D. C. et al. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas apicais e basais de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) sob condições de nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 284-286, 2004.

FERRIANI, A. P. et al. Propagação vegetativa de estaquia de azaléia arbórea (*Rhododendron Thomsonii* HOOK. f.). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 35-42, 2006.

JARDINEIRO. NET. Cróton. Disponível em:

**<<http://www.jardineiro.net/botanica/banco/4croton.php>>**. Acesso em: 23 abr. 2007.

PAIVA, H.N.; GOMES, J.M. Propagação vegetativa de espécies florestais. **Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa, p. 40, 1993.

TOFANELLI, M. B. D. et al. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ramos semilenhosos de pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 7, p. 939-944, 2002

## PALAVRAS-CHAVES

*Codiaeum variegatum*; estacas; indutores de enraizamento.

## Garfagem de mesa de roseira em diferentes substratos.

Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>1</sup>; Pizetta, Patrícia Unger César<sup>2</sup>, Casali, Lavínia Pereira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, email: [patpizetta@yahoo.com.br](mailto:patpizetta@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Engenheira Agrônoma, email: [lasali@yahoo.com.br](mailto:lasali@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

No contexto da floricultura, a rosa é considerada a principal flor de corte (Landgraf & Paiva, 2005), destacando-se como uma das principais culturas para os mercados interno e externo (Barbosa, 2003).

A produtividade das roseiras depende de uma série de fatores, sendo um dos mais importantes, a escolha de uma boa muda (Pivetta, 1994), que no Brasil, são obtidas comercialmente por meio de estaquia herbácea, borbulhia em porta-enxertos previamente enraizados e, o processo mais novo, garfagem de mesa (Pivetta, 1999).

Pizetta (2006) avaliou o sucesso do pegamento da garfagem de mesa da roseira de corte 'Ambiance' sobre dois porta-enxertos, *Rosa sp.* 'Natal Brier' e *R. manetti*, colocados para enraizarem em substrato à base de casca de arroz carbonizada e verificou que a combinação que resultou em maior porcentagem de mudas formadas foi com o porta-enxerto *R. manetti*. Pizetta (2006) avaliou, ainda, o sucesso do pegamento da garfagem de mesa das roseiras de corte 'Tineke' e 'Versilia' sobre nove porta-enxertos (*Rosa multiflora* 'Paulista', *R. multiflora* 'Japones', *R. multiflora* 'Iowa', *R. multiflora* 'Kopman's', *R. indica x multiflora*, *R. indica* 'Mayor', *Rosa sp.* 'Natal Brier', *R. manetti* e *R. canina* 'Inermis'), também colocados em casca de arroz carbonizada e observou que as combinações que resultaram em maior porcentagem de mudas formadas foram, 'Tineke' sobre *Rosa sp.* 'Natal Brier', seguido de *R. multiflora* 'Paulista', *R. multiflora* 'Japones', *R. multiflora* 'Iowa', e *R. indica* 'Mayor'; e 'Versilia' sobre *R. multiflora* 'Japones'.

Os cultivares Ambiance, Tineke e Versilia são amplamente cultivados no Brasil para mercado interno, constando do Catálogo de Flores e Plantas Ornamentais do Veiling Holambra (Catalogo, 2007). Já relacionado aos porta-enxertos, os mais utilizados no mundo, atualmente, são *Rosa sp.* 'Natal Brier' e *R. manetti*.

A garfagem de mesa, processo mais atual de produção de rosas no mundo, tem sido feita utilizando o método de garfagem à inglesa simples, com garfos herbáceos (uma gema e uma folha apical) que são colocados sobre estacas de porta-enxertos (sem raiz) e então amarrados com elástico ou prendedores tipo "prendedor de roupa". As bases dos enxertos são tratadas com auxina sintética, sendo então colocados em leitos contendo substrato bem úmido, cobertos com plástico tipo "túnel" (Pivetta, 1999).

O processo de enraizamento /pegamento da garfagem de mesa é muito semelhante ao do enraizamento da estaquia herbácea, que utilizam tratamento com auxina sintética e cobertura tipo "túnel". Nesses processos, vários substratos podem ser utilizados, sendo mais comuns, casca de arroz carbonizada, cuja matéria-prima pode não ser encontrada com facilidade nas diferentes regiões produtoras e cujo processo de carbonização, em larga escala, pode ser complicado e, também, vermiculita, muita vezes inacessível pelo custo.

Segundo Barbosa et al. (2005), como meio de enraizamento de estacas herbáceas de roseira, pode-se utilizar casca de arroz carbonizada, areia, turfa e vermiculita entre outros, no entanto, sugere-se a casca de arroz por possuir boa aeração, drenagem, ser estéril e de baixo custo.

Pivetta et al. (1999) estudaram o efeito dos substratos vermiculita, casca de arroz carbonizada, espuma fenólica e areia no enraizamento de estacas de roseira 'Dalas' e verificaram que as maiores porcentagens de enraizamento ocorreram quando as estacas foram colocadas para enraizar em areia (98%), seguida de vermiculita (90%) e espuma fenólica (87%).

Desta forma, visando aprimorar o processo de produção de mudas de variedades de roseiras cultivadas no Brasil pelo processo de garfagem de mesa, esse trabalho teve como objetivo avaliar o enraizamento e pegamento de garfos de mesa colocados para enraizar em diferentes substratos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi instalado no Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, SP.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 3, apresentando 12 tratamentos e quatro repetições, num total de 48 parcelas. Cada parcela foi constituída por cinco enxertos.

Os tratamentos utilizados foram quatro substratos (vermiculita, casca de arroz carbonizada, espuma fenólica e areia) combinados com 3 cultivares (Ambiance, Tineke e Versilia).

Ramos dos cultivares de corte (Ambiance, Tineke e Versilia) e do porta-enxerto (*Rosa manetti*) foram obtidos de propriedades do grupo Reijers, em Holambra, SP.

Realizou-se a enxertia do tipo garfagem simples de mesa, sobre o porta-enxerto *Rosa manetti*. Os garfos foram obtidos a partir de ramos herbáceos, com aproximadamente 4cm de comprimento, com uma gema apical e uma folha. As estacas dos porta-enxertos foram retiradas de ramos semi-herbáceos, preparadas com duas gemas, apresentando aproximadamente 8cm.

Após o preparo, foi feito o tratamento com ácido indolbutírico (AIB) via pó, na concentração de 1000 mg.kg<sup>-1</sup>. A parte basal dos enxertos de mesa foi passada na mistura de AIB e talco industrial. Em seguida, os enxertos foram colocados para enraizar em bandejas plásticas (uma bandeja/parcela) contendo os diferentes substratos de acordo com o tratamento. As bandejas foram cobertas com filme plástico transparente, dentro de um telado com sombreamento de 50%.

As avaliações foram realizadas 40 dias após a estaquia, anotando-se o número de mudas formadas, considerando o enraizamento do porta-enxerto e o pegamento da enxertia.

Os dados coletados foram analisados estatisticamente. Foi realizada a análise de variância e posteriormente, na comparação das médias dos tratamentos, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se (Tabela 1) que a interação entre os fatores estudados, ou seja, substrato e cultivares, não foi significativa.

Não houve diferença entre os substratos testados, ao contrário do enraizamento de estacas herbáceas de 'Dalas', cujo processo é semelhante, como foi observado por Pivetta et al. (1999), onde areia seguido de vermiculita e espuma fenólica foram superiores.

Houve diferença entre os cultivares, sendo que a porcentagem de mudas formadas pelo processo de garfagem de mesa, sobre o porta-enxerto *Rosa manetti*, foi superior para 'Ambiance' e 'Versilia'.

No trabalho realizado por Pizetta (2002), utilizando casca de arroz carbonizada como substrato, 'Ambiance' apresentou maior porcentagem de pegamento sobre *Rosa manetti* (78%) quando comparado com *Rosa* sp. 'Natural Brier', 'Versilia' apresentou 68% de pegamento enxertado sobre *Rosa manetti*, porém, chegou a 93% de pegamento quando enxertada sobre *Rosa multiflora* 'Japones'.

Já 'Tineke', que apresentou menor porcentagem de formação de mudas neste estudo, no trabalho feito por Pizetta (2002) também apresentou baixa porcentagem de pegamento sobre *Rosa manetti* (30%) ao passo que, enxertada sobre *Rosa* sp. 'Natural Brier', obteve 76% de pegamento.

Tabela 1. Quadrados médios e médias de porcentagem de mudas formadas (enraizamento do porta-enxerto e pegamento da enxertia) de roseiras 'Ambiance', 'Tineke' e 'Versilia', enxertadas sobre *Rosa manetti*, em diferentes substratos.

Causa da Variação	GL	Mudas formadas (%)
Substrato (S)	3	9,5927 <sup>NS</sup>
Cultivar (C)	2	3471,4519**
Interação S x C	6	50,0460 <sup>NS</sup>
Resíduo	48	220,8255
CV (%)		26,70
Médias - Substratos		
Vermiculita		56,38 <sup>1</sup> () <sup>2</sup> a
Casca de arroz carbonizada		56,23 () a
Espuma fenólica		54,69 () a
Areia		55,30 () a
Médias - Cultivares		
Ambiance		67,54 () a
Tineke		41,49 () b
Versilia		57,91 () a

<sup>1</sup> Dados transformados em arc sen (x/100)<sup>1/2</sup>; <sup>2</sup> Dados não transformados

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

O enraizamento e pegamento da enxertia, de enxertos de mesa, feitos por meio de garfagem à inglesa simples, com garfo e porta-enxerto herbáceos, dos cultivares Ambiance, Tineke e Versilia sobre *Rosa manetti*, foi semelhante nos substratos testados (vermiculita, casca de arroz carbonizada, espuma fenólica e areia). A porcentagem de mudas formadas foi superior para os cultivares Ambiance e Versilia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, J.G. **Produção comercial de rosas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003, 199p.

BARBOSA, J.G., GROSSI, J.A.S., PIVETTA, K.F.L., FINGER, F.L., SANTOS, J.M.S. Cultivo de rosas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.227, p.20-29, 2005.

**CATÁLOGO de Flores e Plantas ornamentais**. Holambra: Veiling Holambra, 2007, 192p.

LANDGRAF, P.R.C, PAIVA, P.D.O. Produção e comercialização de flores em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.227, p.7-11, 2005.

PIVETTA, K.F.L. **Estudos sobre o enraizamento de estacas enfolhadas de roseira (Rosa sp.) 'Red Success'**. 1994. 151f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

PIVETTA, K.F.L. Propagação de roseiras. In: WORKSHOP SOBRE AVANÇOS NA PROPAGAÇÃO DE PLANTAS, 2, 1999, Lavras. **Palestras...** Lavras: UFLA, p.41-49, 1999.

PIVETTA, K.F.L., MARTINS, A.B.G., RUFFINI, F.K., LEDRA, L.R. Effects of rooting media, indolbutyric acid and fertilization on the rooting of rose (*Rosa sp.* 'Dalas') leafy cuttings. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.482, p. 339-342. 1999.

PIZETTA, P.U.C. **Porta-enxertos de roseira (*Rosa* spp.): produção de rosas 'Tineke' e 'Versilia' e resistência ao nematóide *Meloidogyne hapla***. 2006. 63f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

PALAVRAS-CHAVE: *Rosa* spp., enxertia, garfagem

## Efeito da temperatura e da escarificação mecânica na germinação de sementes de *Copernicia prunifera* (Arecaceae).

Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>1</sup>; D'Andrea, Fernanda<sup>2</sup>; Luz, Petterson Baptista da<sup>3</sup>; Penariol, Ana Paula<sup>4</sup>; Castro, Amanda de<sup>5</sup>; Gonzalez, Manuela<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, email: [fer\\_dandrea2001@yahoo.com.br](mailto:fer_dandrea2001@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [petterbaptista@yahoo.com.br](mailto:petterbaptista@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Mestranda do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [appenariol@yahoo.com.br](mailto:appenariol@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Engenheira Agrônoma; email: [amandinha-castro@hotmail.com](mailto:amandinha-castro@hotmail.com); <sup>6</sup>Engenheira Agrônoma, email: [groselhaafro@yahoo.com.br](mailto:groselhaafro@yahoo.com.br);

### INTRODUÇÃO

Conhecida como carnaúba, a palmeira *Copernicia prunifera* (Mill) H. E. Moore, é originária do nordeste brasileiro, sendo mais comumente encontrada no Estado do Ceará, onde é conhecida como “árvore da vida”, pela grande quantidade de produtos de subsistência que fornecem. Embora apresente grande importância, ainda há poucas informações na literatura sobre produção de mudas dessa espécie, que é feita por meio da germinação de sementes.

De modo geral, a germinação das sementes de palmeiras é considerada lenta e desuniforme (Meerow, 1991) sendo influenciada por fatores como temperatura e dormência física, que dificulta a embebição, afetando negativamente o processo. Generalizando, para várias espécies de palmeiras, os melhores resultados podem ser obtidos entre temperaturas que variam desde 24 até 35°C (Meerow, 1991; Broschat, 1994; Lorenzi et al.; 2004).

Segundo Odetola (1987), várias espécies de palmeira apresentam dormência física em graus variados, demandando tratamentos de quebra de dormência, entre os quais, a escarificação mecânica, que foi testada com sucesso para algumas espécies como *Livistona rotundifolia* (Viana, 2003) e *Syagrus schizophylla* (Pivetta et al., 2005b)

Desta forma, devido à grande importância e à falta de informações científicas sobre a produção de mudas da espécie, esse trabalho teve como objetivo estudar o efeito da temperatura e da escarificação mecânica na germinação de sementes de *Copernicia prunifera*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido utilizando-se frutos colhidos de 10 exemplares existentes na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV – Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus da Jaboticabal, no dia 23 de agosto de 2006.

Após a colheita, os frutos foram despulpados (retirada do epicarpo e mesocarpo) por meio de atrito manual contra peneira. Os diásporos (sementes com o endocarpo aderido) foram enxaguados em água corrente, secos à sombra e levados ao Laboratório de Sementes de Plantas Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, para instalação dos experimentos que ocorreu no dia 24 de agosto de 2006.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 2 (6 condições de temperaturas: controladas de 25°C, 30°C, 35°C e alternadas de 20-30°C e 25-35°C e condição de ambiente e diásporos escarificados ou não) sendo 4 repetições de 25 sementes.

De acordo com o tratamento, foi feita escarificação lateral dos diásporos, com auxílio de lixas, até aparecimento do endosperma. Diásporos escarificados ou não foram parcialmente enterrados em caixas plásticas (tipo gerbox), contendo vermiculita fina previamente umedecida, mantendo-se a capacidade de campo de 100%, sendo, posteriormente, colocados em câmara de germinação, cuja temperatura foi regulada de acordo com o tratamento. Na condição de ambiente os diásporos foram colocados sobre



bancadas do laboratório, cujas temperaturas máximas e mínimas foram monitoradas diariamente, sendo a temperatura máxima média de 27,5°C e mínima média de 24,5°C.

Diariamente foi anotado o número de sementes germinadas, observadas pelo aparecimento do botão germinativo. Após estabilização da germinação foi calculada a porcentagem de germinação utilizando-se a fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) e o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), calculado utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

Os dados de porcentagem total de germinação foram transformados em arc sen  $(x/100)^{1/2}$ . Foi realizada análise estatística (Estat) e as médias foram comparadas pelo Teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *Copernicia prunifera* em diferentes temperaturas, com e sem escarificação dos diásporos, são apresentados na Tabela 1.

Observa-se que a interação entre as temperaturas e a escarificação não foi significativa tanto para porcentagem quanto para Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Para porcentagem de germinação não houve diferença significativa entre diásporos escarificados ou não, porém, se observam diferenças significativas entre as temperaturas com maiores porcentagens obtidas nas temperaturas de 25°C e 25-35°C.

Para IVG, houve diferença significativa entre os tratamentos para as duas características estudadas; se observa maior índice nos diásporos escarificados, na temperatura de 25-35°C.

Tabela 1. Porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Copernicia prunifera*, escarificadas ou não, submetidas a seis temperaturas. Jaboticabal, SP, 2006.

Causa da Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG
Escarificação (E)	1	0,3637 <sup>NS</sup>	0,1036*
Temperatura (T)	5	541,62**	0,7837**
Interação T x E	5	14,43 <sup>NS</sup>	0,0170 <sup>NS</sup>
Resíduo	36	54,04	0,0234
CV (%)		11,77	13,73
Médias		% de germinação	IVG <sup>2</sup>
Escarificação			
Sem escarificação		62,36 <sup>1</sup> (78,48) <sup>2</sup> a	1,07 b
Escarificadas		62,53 (78,72) a	1,16 a
Temperaturas			
25°C		68,61 (86,70) a	1,28 b
30°C		62,04 (78,02) b	1,16 b
35°C		54,84 (66,84) c	1,12 b
20-30°C		51,46 (61,18) c	0,61 d
25-35°C		73,29 (91,73) a	1,54 a
ambiente		64,45 (82,74) b	0,97 c

<sup>1</sup> Dados transformados em arc sen  $(x/100)^{1/2}$ ; <sup>2</sup> Dados não transformados

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade.

A temperatura alternada de 25-35°C, que proporcionou maior porcentagem de sementes germinadas, ou seja, 91,73% (juntamente com a constante de 25°C que apresentou 86,70%), também foi a que apresentou maior IVG. Já a temperatura de 20-30°C

foi a que apresentou menor porcentagem de germinação (juntamente com 35°C) e menor IVG.

Muitas espécies de palmeiras têm apresentado maior porcentagem de germinação em temperaturas mais elevadas como 35°C para *Acoelorrhapha wrightii*, *Coccothrinax argentata*, *Sabal etonia*, *Thrinax morrisii*, *Thrinax parviflora* e *Roystonea regia* (Carpenter, 1988; Pivetta et al., 2005a; Penariol, 2005) ou temperaturas alternadas de 30-35°C para *Chrysalidocarpus lutescens* (Broschat & Donselman, 1986), no entanto a carnaúba, embora seja nativa de regiões cujas temperaturas são normalmente mais elevadas, apresentaram maiores porcentagens na temperatura constante de 25°C e alternada de 25-35°C, essa última semelhante ao encontrado para *Livistona rotundifolia* (Viana, 2003).

No entanto estes resultados não podem ser considerados definitivos, pois, podem variar com alguns fatores como o ano, cujas condições climáticas são distintas ou o local de origem como foi verificado por Castro (2006) para a palmeira *Phoenix roebelenii*.

## CONCLUSÕES

As maiores porcentagens de germinação de sementes de *Copernicia prunifera* (Mill) H. E. Moore, foram obtidas nas temperaturas de 25-35°C (92%) e 25°C (87%); na temperatura de 25-35°C as sementes germinaram mais rápido; a porcentagem de germinação de sementes foi semelhante para os diásporos que foram escarificados ou não, porém, os escarificados germinaram mais rápido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1992. 365p.

BROSCHAT, T. K. Palm seed propagation. **Acta Horticulture**, Wageningen, n. 360p. 141-147, 1994.

BROSCHAT, T. K.; DONSELMAN, H. Factors affecting storage and germination of *Chrysalidocarpus lutescens* seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.111, p. 872-877, 1986.

CARPENTER, W. J. Temperature affects seed germination of four Florida palm species. **HortScience**, Alexandria, v.23, p.336-337, 1988.

CASTRO, A. **Influência do local de origem e da temperatura na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O' Brien)**. 2006. 30f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, p. 390. 2004.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MEEROW, A. W. **Palm Seed Germination**. Flórida: Cooperative Extension Service, 1991. 10p. ( Bulletin 274).

ODETOLA, J. A. Studies on seed dormancy, viability, and germination in ornamental palms. **Principes**, Lawrence, v.31, p.24-30, 1987.

PENARIOL, A.P. **Efeito da temperatura e do estágio de maturação dos frutos na germinação de sementes de *Roystonea regia* (Kunth) O.F. Cook (Arecaceae)**. 2005. 32f. (Trabalho de graduação) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PIVETTA, K. F. L.; CASALI, L. P.; CINTRA, G. S.; PEDRINHO, D. R.; PIZETTA, P. U. C.; PIMENTA, R. S.; PENARIOL, A. P.; MATTIUZ, C. F. M. Efeito da temperatura e do armazenamento na germinação de sementes de *Thrinax parviflora swartz.* (Arecaceae). **Revista Científica**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.178-184, 2005a.

PIVETTA, K.F.L., SARZI, I., CINTRA, G.S., PEDRINHO, D.R., CASALI, L.P., PIZETTA, P.U.C., PAULA, R.C. Effects of maturation and scarification on seed germination of *Syagrus schizophylla* (Mart.) Glass. (Arecaceae). **Acta Horticulturae**, Leuven, v.683, p.375-378, 2005b.

VIANA, F. A. P. **Estudos sobre germinação e morfo-anatomia do diásporo e da plântula de *Livistona rotundifolia* (Lam.) Mart. (Arecaceae)**. 2003. 76f. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

PALAVRAS-CHAVE: *Copernicia prunifera*, palmeira, germinação de sementes

AGRADECIMENTO: FAPESP, pelo auxílio pesquisa.

## Efeito da temperatura e do armazenamento temporário na germinação de sementes de *Archontophoenix alexandrae* (Arecaceae).

Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>1</sup>; Gonzalez, Manuela<sup>2</sup>; Penariol, Ana Paula<sup>3</sup>; Luz, Petterson Baptista da<sup>4</sup>; D'Andrea, Fernanda<sup>5</sup>; Castro, Amanda de<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, email: [groselhaafro@yahoo.com.br](mailto:groselhaafro@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [appenariol@yahoo.com.br](mailto:appenariol@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [petterbaptista@yahoo.com.br](mailto:petterbaptista@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Engenheira Agrônoma, email: [fer\\_dandrea2001@yahoo.com.br](mailto:fer_dandrea2001@yahoo.com.br); <sup>6</sup>Engenheira Agrônoma, email: amandinha-castroo@hotmail.com

### INTRODUÇÃO

A palmeira *Archontophoenix alexandrae* (F. Muell) H. Wendl. & Drude, originária da Austrália, é comumente conhecida como seafórcia e palmeira-real-australiana. Além do efeito ornamental e ampla utilização no paisagismo brasileiro, tem sido plantada em várias regiões visando produção de palmito doce.

A propagação dessa espécie é por meio de sementes, porém, embora seja uma palmeira de indiscutível importância, ainda há poucos estudos sobre o processo germinativo que é influenciado por vários fatores, entre esses, temperatura do ambiente e período entre a colheita e o armazenamento.

Segundo Lorenzi et al. (2004), para a germinação de sementes de várias espécies de palmeiras, são consideradas favoráveis temperaturas entre 24° a 28°C, com umidade relativa do ar de aproximadamente 70%. Já Meerow (1991) considera temperaturas entre 20° e 40°C aceitáveis, ocorrendo melhores resultados entre 30° e 35°C, para a maior parte das espécies.

A conservação de sementes de palmeiras é problemática. Há um indicativo de que sejam recalcitrantes e esse comportamento já foi definido para *Archontophoenix alexandrae* (Martins et al., 2003; Stringheta et al., 2004). Analisando o armazenamento de *A. alexandrae* até 180 dias após a colheita, Stringheta et al. (2004) verificaram acentuada redução na germinação aos 90 dias de armazenamento. Estudando, também, a conservação de sementes de *A. alexandrae*, com teor de água inicial de 33%, armazenadas em condições não controladas e em câmara a 20°C (UR = 70 a 82%), Castellani et al. (2001) verificaram que o armazenamento em câmara a 20°C foi mais eficiente, mantendo em torno de 40% de germinação após 240 dias de armazenamento. No entanto, não há informações na literatura sobre o armazenamento temporário dessa espécie, ou seja, por quanto tempo as sementes se mantêm viáveis após a colheita.

Graziano (1982) verificou que as sementes das palmeiras *Euterpe edulis* e *Ptychosperma macarthurii*, secas à sombra e acondicionadas em sacos de papel em condições ambientais, perderam viabilidade 21 dias após a colheita. Para *Dictyosperma album*, Pivetta et al. (2003) relataram que a porcentagem de germinação foi mais alta e a germinação foi mais rápida quando semeadas imediatamente após a colheita, diminuindo ao longo do período de 10 dias. Já para *Thrinax parviflora*, Pivetta et al. (2005) verificaram que as sementes germinaram mais lentamente quando semeadas logo após a colheita e mais rapidamente quando colocadas para germinar 6 e 7 dias após; as sementes armazenadas durante dez dias apresentaram 92% de germinação com valores máximos de germinação (94% para ambos) 4 e 5 dias após a colheita. A porcentagem de germinação por ocasião da colheita (68%) foi inferior à obtida após o armazenamento, mostrando que as sementes, quando colhidas, provavelmente ainda não tinham atingido o ponto de maturidade fisiológica.

Baseado no exposto, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da temperatura e do armazenamento temporário na germinação de sementes de *A. alexandrae*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *A. alexandrae* foram coletados de exemplares existentes na UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, SP, no dia 30 de agosto de 2006, quando se observou que os frutos começaram a se desprender. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Estudou-se o efeito de 6 condições de temperatura (temperaturas constantes de 25°, 30°, 35° e alternadas de 20-30° e 25-35° e condição de ambiente de laboratório). Estudou-se também o efeito do armazenamento temporário durante 4 semanas, ou seja, 5 tratamentos: semeadura logo após a colheita e de 1 a 4 semanas após. Para ambos, utilizou-se 4 repetições de 25 sementes cada.

Após a colheita, o pericarpo e o mesocarpo dos frutos foram removidos por meio de atrito manual contra peneira e os diásporos, constituídos de endocarpo e semente, enxaguados em água corrente e secos a sombra. Após este processo, foram retiradas 2 amostras com 20 sementes cada uma, para determinar o teor de água das sementes. Empregou-se o método da estufa a 105°C por 24 horas (Brasil, 1992).

Os diásporos foram acondicionados em caixas de plástico (tipo gerbox), contendo vermiculita fina, previamente umedecida, mantendo o substrato em sua capacidade de campo, utilizando água destilada com 0,2% de nistatina para se evitar a contaminação por fungos, sendo posteriormente colocadas no ambiente de germinação, ou seja, câmaras reguladas de acordo com o tratamento ou ambiente de laboratório, onde anotou-se, diariamente, as temperaturas máximas e mínimas cujas médias no período foram: máxima de 27,5°C e mínima de 24,5°C.

No regime de temperaturas alternadas, o período luminoso correspondeu à temperatura mais elevada, utilizando-se fotoperíodo de 12 horas, sob luz branca fornecida por oito lâmpadas fluorescentes de 20W.

Para o armazenamento os diásporos foram acondicionados em sacos plásticos em condições de ambiente de laboratório. A cada semana, 140 diásporos eram separados, sendo 40 utilizados para determinar o teor de água das sementes (Brasil, 1992).

A contagem da germinação foi realizada diariamente, a partir da data de instalação do experimento até estabilização da germinação, utilizando como critério de germinação o aparecimento do botão germinativo.

Para determinação da porcentagem de germinação utilizou-se a fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi calculado utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em  $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ . Foi realizada análise estatística e as médias do estudo do efeito da temperatura foram comparadas pelo teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade. Para o estudo do efeito do armazenamento temporário foi realizada a análise de regressão polinomial a fim de verificar o comportamento das variáveis ao longo das 4 semanas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maiores porcentagens de germinação ocorreram nas temperaturas de 25°C, 20-30°C e em condições de ambiente de laboratório e a germinação das sementes foi mais rápida nas temperaturas de 30°C, 35°C, 20-30°C e 25-35°C; já em condições de ambiente de laboratório e 25°C, as sementes germinaram mais lentamente (Tabela 1). Fazendo uma análise geral, a temperatura que proporcionou maior porcentagem e velocidade de germinação foi a alternada de 20-30°C.

Relacionado à germinação de sementes armazenadas durante 4 semanas após a colheita, observa-se (Tabela 2) que não houve ajuste de regressão para porcentagem de germinação, ou seja, a porcentagem de germinação das sementes logo após a colheita, uma, duas, três e quatro semanas após foi semelhante.

Houve ajuste de regressão linear positiva para o índice de velocidade de germinação (Tabela 2 e Figura 1), ou seja, as sementes germinaram mais rápido após armazenamento.

Tabela 1. Porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *A. alexandrae* submetidas a seis temperaturas.

Causa da Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Temperatura	5	163,03**	0,33**
Resíduo	18	15,5	0,07
CV (%)		5,76	14,10
Médias			
25°C		73,83 <sup>1</sup> (92,24) <sup>2</sup> a	1,67 b
30°C		64,98 (82,11) b	1,84 a
35°C		58,30 (72,39) c	1,86 a
20-30°C		76,02 (94,16) a	2,09 a
25-35°C		67,54 (85,40) b	2,21 a
ambiente		69,73 (88,00) a	1,41 b

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ ; <sup>2</sup> Dados não transformados

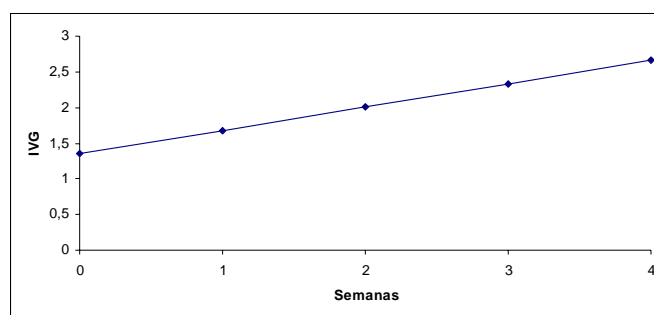
Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade.

Tabela 2. Porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *A. alexandrae*, submetidos ao armazenamento após a colheita.

Causa de Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Período de armazenamento	4	33,0442 NS	1,3063 **
Resíduo	15	19,1374	0,0655
CV(%)		6,71	12,76
Média Geral		65,20	2,0170
Regressão Linear	1	34,3566 NS	4,3310 **
Regressão Quadrática	1	22,0943 NS	0,0026 NS
Regressão Cúbica	1	50,1873 NS	0,1972NS

NS não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade; \*significativo a 5% de probabilidade

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ ; <sup>2</sup> Dados não transformados



$$IVG = 1,348900 + 0,3290500X$$

Figura 2. Curva de regressão entre os períodos de armazenamento e os Índices de Velocidade de Germinação de sementes de *Archontophoenix alexandrae*.

Dessa forma, o armazenamento durante 30 dias foi benéfico para as sementes de *A. alexandrae* que mantiveram altas porcentagens e germinaram mais rapidamente; esse comportamento pode ser explicado pelo alto teor de água nas sementes durante o armazenamento, que foi de 38,72%, 35,31%, 35,00%, 34,07%, 33,80% (respectivamente por ocasião da colheita, 1, 2, 3 e 4 semanas após o armazenamento), valores sempre acima

do considerado crítico por Martins et al. (2003), ou seja, inferiores a 31,5% reduziram significativamente a taxa de germinação em sementes de *A. alexandrae* e a perda total da capacidade germinativa foi verificada em sementes com 15,1% de umidade.

## CONCLUSÕES

Concluiu-se que, para as várias temperaturas estudadas, as que proporcionaram maiores porcentagens de germinação foram 20-30°C (94%), 25°C (92%) e ambiente (88%) e a germinação foi mais rápida nas temperaturas de 30°C, 35°C, 20-30°C e 25-35°C. As porcentagem de germinação de sementes recém-colhidas foi semelhante àquelas armazenadas durante 1, 2, 3 ou 4 semanas, porém, a velocidade de germinação aumentou durante o armazenamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária/ Departamento Nacional de Defesa Vegetal/ Coordenadoria de Laboratórios de Análise Vegetal. 1992.365p.
- CASTELLANI, E.D., SILVA, A., DEMATTÊ, M.E.S.P. Conservação de sementes de palmeira-seafórtia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.7, n.2, p.135-141, 2001.
- GRAZIANO, T.T. Viabilidade de sementes de palmeiras: I. *Euterpe edulis* Mart. e *Ptychosperma macarthurii* (H. WENDL.) NICH. **Científica**, São Paulo, v.10, n. 2, p. 273-276, 1982.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, 2004. 416p.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARTINS, C.C., BOVI, M.L.A., NAKAGAWA, J. Desiccation effects on germination and vigor of King palm seeds. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.1, p. 88-92, 2003.
- MEEROW, A. W. **Palm seed germination**. Florida: Cooperative Extension Service, 1991. 10p. (Bulletin, 274).
- PIVETTA, K.F.L., CINTRA, G.S., PEDRINHO, D.R., PIZETTA, P.U.C., CASALI, L.P., PAULA, R.C. Efeito do armazenamento em temperatura ambiente na germinação de sementes de *Dictyosperma álbum* (Bory) H. Wendl. & Drude ex Scheffer (Arecaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14, 2003, Lavras-MG. **Resumos...** Lavras: SBFPO/UFLA, 2003. p.95.
- PIVETTA, K. F. L.; CASALI, L. P.; CINTRA, G. S.; PEDRINHO, D. R.; PIZETTA, P. U. C.; PIMENTA, R. S.; PENARIOL, A. P.; MATTIUZ, C. F. M. Efeito da temperatura e do armazenamento na germinação de sementes de *Thrinax parviflora* Swartz. (Arecaceae). **Científica**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.178-184, 2005a.
- STRINGHETA, A.C.O., ALVES, E.A., ARAÚJO, E.F., CARDOSO, A.A. Secagem e armazenamento de sementes de palmeira real australiana (*Archontophoenix alexandrae*). **Revista Brasileira de Armazenamento, Viçosa**, v.29, n.1, p.51-57, 2004.

PALAVRAS-CHAVE: *Archontophoenix alexandrae*, palmeira, germinação de sementes

AGRADECIMENTO: FAPESP, pelo auxílio pesquisa.

## **Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Myrtaceae) pelos testes de germinação e tetrazólio.**

Tathiana Elisa Masetto<sup>1</sup>; José Marcio Rocha Faria<sup>2</sup>; Antonio Cláudio Davide<sup>2</sup>; Edvaldo Amaral da Silva<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Doutoranda em Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, Campus da UFLA, CEP 37200-000, Lavras - MG, fone (35) 3829-1429, e mail: [tmasetto@gmail.com](mailto:tmasetto@gmail.com). <sup>2</sup> Professores do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, Campus da UFLA, CEP 37200-000, Lavras - MG, fone (35) 3829-1429, e mail: [jmfaria@ufla.br](mailto:jmfaria@ufla.br) e [acdavide@ufla.br](mailto:acdavide@ufla.br). <sup>3</sup> Pesquisador do Departamentos de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, Campus da UFLA, CEP 37200-000, Lavras - MG, fone (35) 3829-1429, e mail: [amaral@ufla.br](mailto:amaral@ufla.br).

*Eugenia pleurantha* é uma árvore pertencente à família Myrtaceae, conhecida popularmente pelos nomes de cafezinho e pitanga-do-mato, e que tem ocorrência no sudeste e no sul do Brasil. É uma espécie propagada por sementes e o conhecimento sobre métodos de avaliação da qualidade de sementes é de fundamental importância para a utilização desta espécie em plantios de reposição e demais programas florestais em que pode ser empregada. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar procedimentos para condução dos testes de germinação e tetrazólio na avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha*. Para o teste de germinação, as sementes foram mantidas em BODs sobre areia e rolo de papel, sob as temperaturas de 20°, 25°, 30° e 35° C com luz branca constante e temperatura alternada de 20/30° com 10 horas de escuro para a temperatura mais baixa e 14 horas de claro para a temperatura mais elevada. Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes para cada tratamento. Para o teste de tetrazólio, as sementes foram embebidas em água destilada por 12 horas a 30° C; em seguida, os tegumentos foram removidos e as sementes foram seccionadas longitudinalmente. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes submetidas às seguintes concentrações do sal de tetrazólio: 0,075%, 0,1% e 0,5%, durante 4, 8 e 12 horas, em BOD no escuro a 30° C. A germinação das sementes foi favorecida pelo substrato areia sob temperatura de 30° C e, para o teste de tetrazólio, os resultados mostraram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Porém, com o uso da concentração de 0,1% de sal de tetrazólio durante 4 horas a 30° C, obteve-se uma coloração uniforme que permitiu a diferenciação entre tecidos saudáveis, em deterioração e tecidos mortos. Assim, este pode ser um procedimento eficiente para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de *Eugenia pleurantha*.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Eugenia pleurantha*, Myrtaceae, sementes, propagação.



## Uso de indutores de enraizamento em estacas semilenhosas de Hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)

Eberlin, Christian Buscher Von Teschenhausen<sup>1</sup>; Ribeiro, Ana Paula<sup>2</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Avenida Brasil nº56, CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (18) 3743-1000, e-mail: [christian@eberlin.pro.br](mailto:christian@eberlin.pro.br); <sup>2</sup> Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, e-mail: [ana\\_righetto@yahoo.com.br](mailto:ana_righetto@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – Unesp / Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br).

*Hibiscus rosa-sinensis* L., pertence à família Malvaceae, originário da Ásia tropical, é um arbusto fibroso e lenhoso, de 3-5 m de altura, que não tolera geadas. Possui formas de folhas estreitas, variegadas ou não, sendo suas flores pequenas, solitárias, com cores principais, vermelha, rosa e branca, formadas no decorrer de quase todo o ano. É cultivado como planta isolada e para a formação de renques como cerca viva ou simplesmente em conjuntos. Visando avaliar diferentes promotores de enraizamento em estacas semilenhosas de *Hibiscus rosa-sinensis* L. (hibisco) realizou-se este trabalho. O experimento foi conduzido no período de 26 de fevereiro a 6 de abril de 2007, em casa de vegetação, modelo Poly Venlo (duas águas), pertencente a Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho” UNESP – Ilha Solteira / SP. Utilizaram-se cinco tratamentos: T1 – sem indutor (testemunha); T2 - Max Vigor pó; T3 - AIB pó 1000 ppm; T4 - Clone Gel 1000 ppm de AIB e T5 - Radimax (0,3g de pó/L de água) por 24 hs. As estacas medianas foram coletadas com 20 cm de comprimento e colocadas para enraizar em jardineiras pretas, preenchidas com Plantimax. Após 40 dias realizou-se as avaliações de porcentagem de enraizamento, porcentagem de brotação e número médio de brotos por estaca. O tratamento com Radimax foi o que apresentou maior porcentagem de enraizamento (100%) e maior média de número de brotos por estacas (4,11). A maior porcentagem de brotação foi observada no tratamento com Clone Gel (95%), porém não se mostrou muito superior aos demais. Concluiu-se neste trabalho que o tratamento com Radimax foi eficiente no enraizamento de estacas semilenhosas de hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), auxiliando na produção de mudas por estaquia.

### PALAVRAS-CHAVES

*Hibiscus rosa-sinensis* L.; estacas; indutores de enraizamento.

# Influência de diferentes métodos de desinfestação, concentrações de sacarose e BAP na propagação do Jerivá (*Syagrus romanzoffiana* cham. glassm.) através do cultivo “in vitro” de embriões.

FAVERO, Janaína Martins<sup>1</sup>; BERNINI, Cristiani Santos<sup>1</sup>; PAIVA, Renato<sup>2</sup>; COSTA-NETTO, Antônio Paulino da<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estudante do curso de Agronomia da UEMG – Campus de Passos (FESP – UEMG), CEP 37906-106, Passos – MG, Telefone: (035) 3529-8000, email: [janainamf@passosuemg.br](mailto:janainamf@passosuemg.br); <sup>2</sup>Professor Doutor – Universidade Federal de Lavras – UFLA, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Telefone: (035) 3829-1359, email: [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup> Professor Doutor – Coordenador do projeto de pesquisa (FESP – UEMG), CEP 37906-106, Passos – MG, Telefone: (035) 3529-8000, e mail: [apcnetto@passosuemg.br](mailto:apcnetto@passosuemg.br).

## INTRODUÇÃO:

O Jerivá (*Syagrus romanzoffiana* Cham. Glassm.) apresenta potencial de utilização quase integral. Seu valor econômico é muito grande, fornecendo diversos produtos, tais como: palmito, óleos, amêndoas, fibras, além de material para construção de habitações rústicas, como folhas e estipes, bem como palmeiras ornamentais para zonas urbana e rural (Alves e Demattê, 1987; Diniz e Sá, 1995; Noblick, 1996).

Porém esta espécie apresenta problemas na propagação em larga escala, pois geralmente a germinação é lenta e, quando ocorre, muito baixa (Kageyama e Guion, 1996). Segundo Davide (2001), a taxa média de germinação do Jerivá é baixa, chegando a 11%, enquanto que Almeida e Voltolini (2001) mencionam que a taxa de germinação varia entre 17% e 31%, onde a alta incidência de fungos e a presença de insetos nas sementes são alguns fatores prejudiciais a sua viabilidade (Muniz et. al., 2003).

As dificuldades de multiplicação podem ser minimizadas por intermédio da propagação “in vitro”, pois permite a multiplicação rápida, seleção de material superior precocemente, produção em larga escala e pequeno espaço físico, por isso, é uma tecnologia adequada para culturas de ciclo longo, assim como as palmeiras, visando a produção de mudas para matrizes e plantios comerciais (Siqueira et al., 1997).

Dentre os vários fatores a serem analisados na propagação “in vitro”, as soluções desinfestantes mais comuns como o etanol e os compostos a base de cloro (tais como hipoclorito de sódio e de cálcio), são freqüentemente utilizadas. As concentrações dessas soluções, assim como as combinações dos princípios ativos desinfestantes e os tempos de exposição podem variar muito de acordo com o explante a ser desinfestado (Whitehead & Giles, 1977).

Outro importante fator a ser analisado, são os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas que fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento “in vitro”, atendendo as necessidades específicas de cada espécie (White, 1951 e Murashige e Skoog, 1962). Os carboidratos, substâncias geralmente utilizadas nos meios nutritivos, desempenham um importante papel na manutenção de uma osmolaridade das células que compõe o explante, sendo a sacarose o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos, por suportar as mais altas taxas de crescimento na maioria das espécies, na qual sua concentração varia de acordo com o explante utilizado (Wang e Janick, 1986; Xu et. al., 1990; Tremblay e Tremblay, 1991).

Alguns fatores podem ainda afetar o processo de germinação, como o regulador de crescimento ABA, que está normalmente presente no saco embrionário, atuando como barreira fisiológica da germinação dos embriões (King, 1976; Hsu, 1979) e descritos em sementes de Jerivá (Davide, 2001). Dependendo da espécie, o embrião jovem pode ser estimulado a crescer por citocininas, por auxinas ou por giberelinas.

O objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito de diferentes métodos de desinfestação de embriões, de diferentes concentrações de sacarose e BAP no desenvolvimento inicial de embriões de Jerivá no cultivo “in vitro”.

## **METODOLOGIA:**

### **Seleção e coleta dos embriões:**

A colheita das sementes foi realizada quando os frutos encontravam - se maduros, sendo logo após secas a sombra e despulpadas manualmente para evitar danos mecânicos.

Para iniciar o cultivo "in vitro" foram utilizados embriões obtidos pela remoção do endocarpo e do tegumento, realizados também manualmente.

### **Desinfestação:**

Foram utilizados dois processos de desinfestação. O primeiro processo foi o mesmo adotado por Castro (2003) na propagação "in vitro" de Murici, onde foi utilizado hipoclorito de sódio a 2% por 10 minutos, seguido de etanol 70% por 2 minutos.

No segundo processo ou método de desinfestação adotado, os embriões foram imersos em hipoclorito de sódio a 6% por 10 minutos, seguido de etanol 70% por 4 minutos.

Após a desinfestação os embriões foram enxaguados em água destilada autoclavada (3 lavagens) para se retirar possíveis excessos dos agentes desinfestantes.

### **Meios de cultura e condições de cultivo:**

Os embriões, depois de isolados e desinfestados foram inoculados em frascos contendo o meio de cultura Murashige e Skoog (1962), meia força contendo vitaminas em duas condições experimentais:

Os embriões submetidos a primeira condição experimental, na qual aplicou-se o método de desinfestação utilizado por Castro (2003) em embriões de Murici, foram inoculados no meio MS acrescido de cinco concentrações de sacarose (0, 10, 20, 40 e 80 g.L<sup>-1</sup>), e na segunda condição experimental, os embriões desinfestados pelo método proposto, foram inoculados em meio MS meia força acrescido de seis concentrações de citocininas (BAP): 0; 0,5; 2,5; 4,5; 8,5; 13 ppm.

Os meios de cultura foram solidificados com ágar na proporção de 7 g.L<sup>-1</sup>, e o pH ajustado para 6,0 antes da autoclavagem.

Após a inoculação os embriões foram mantidos em sala de crescimento a 27°C (+-5 graus), e fotoperíodo de 24 horas.

Após 7 e 15 dias de inoculação, foram avaliadas a percentagem de germinação dos embriões e a percentagem de contaminação dos meios.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

### **Efeitos de diferentes níveis de descontaminação na propagação do Jerivá:**

Pela observação dos resultados obtidos, notamos um alto nível de contaminação por fungos e bactérias endógenas, quando inoculamos o meio de cultura com os embriões de Jerivá previamente desinfestados com hipoclorito de sódio 2% por 10 minutos e álcool 70% por 2 minutos, da mesma forma que Castro e colaboradores (2003) utilizaram para o cultivo de embriões de Murici. Estes resultados são apresentados na Tabela 1. Porém, os níveis de contaminação são nulos quando os embriões de Jerivá foram desinfestados com hipoclorito de sódio 6% por 10 minutos seguido de álcool 70% por 4 minutos, como mostra a tabela 2.

<b>MEIO DE CULTURA MS MEIA FORÇA</b>	<b>Qtde frascos</b>	<b>%Contaminação por fungos</b>	<b>%Contaminação por bactérias</b>	<b>%Não contaminadas</b>
	75	5	54	16

Tabela 1) Índices de contaminação do meio de cultura inoculados com embriões de Jerivá desinfestados de acordo Castro e colaboradores (2003).

<b>MEIO DE CULTURA MS MEIA FORÇA</b>	<b>Qtde frascos</b>	<b>%Contaminação por fungos</b>	<b>%Contaminação por bactérias</b>	<b>%Não contaminadas</b>
	75	0	0	100

Tabela 2) Índices de contaminação do meio de cultura inoculados com embriões de Jerivá desinfestados de acordo com o método proposto.

Após 15 dias de inoculação, foi observado que o método de desinfestação padrão para o cultivo de Murici, citado por Castro e colaboradores em 2003, não é suficiente para realizar de forma eficiente a desinfestação de embriões de Jerivá, devido presença de fungos e bactérias endógenas que contaminaram o meio de cultura, o que não foi observado pelo uso do método proposto.

#### **Efeito da sacarose na propagação do Jerivá:**

De acordo com a figura 1, podemos observar que a sacarose é uma fonte de energia que não induziu o desenvolvimento dos embriões de Jerivá. Pois ao contrário de Castro e colaboradores (2003), que utilizaram diferentes concentrações de sacarose na propagação “in vitro” do Murici, onde essa fonte de energia resultou em um aumento em ganho de massa fresca e massa seca dos embriões de Murici, não surtiu efeito em embriões de Jerivá, ou seja, esses embriões não se desenvolvem a partir do aumento da disponibilidade de carbono no meio de cultura.

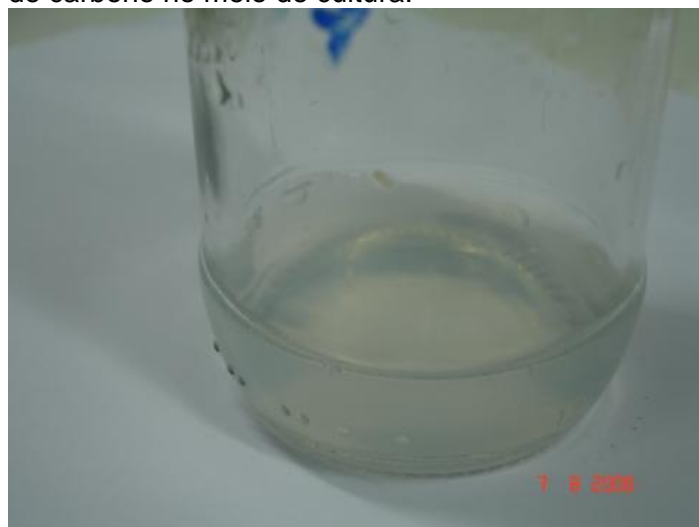


Figura 1) Embrião de Jerivá, inoculado em meio de cultura contendo sacarose.

Isso indica que o Jerivá pode possuir outros empecilhos fisiológicos que não permitem a utilização da sacarose como fonte de energia para o desenvolvimento embrionário. Corroborando com os resultados apresentados por Davide (2001) que constatou a presença de ABA em sementes de Jerivá.

#### **Efeito da Citocinina – BAP:**

Os resultados dispostos na tabela 3 mostram que as concentrações utilizadas de BAP não foram suficientes na promoção da germinação dos embriões de Jerivá, corroborando com as informações descritas por Grattapaglia & Machado (1990) de que as quantidades necessárias destas substâncias variam de acordo com o tecido utilizado e com seus níveis endógenos.

CONCENTRAÇÕES	NºFRASCOS	INDICE DE GERMINAÇÃO
0ppm	10	0
0,5ppm	10	0
2,5ppm	10	0
4,5ppm	10	0
4,5ppm	10	0
8,5ppm	10	0
13ppm	10	0

TABELA 3) Índice de germinação de embriões de Jerivá.

## **CONCLUSÕES:**

O método de desinfestação proposto foi mais eficiente que o método utilizado por Castro e colaboradores (2003) na propagação do Murici.

Pelos resultados obtidos, podemos concluir que as diferentes concentrações de sacarose e BAP empregadas não são suficientes para promover a germinação dos embriões de Jerivá.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

ALMEIDA, M. C. E VOLTOLINI, J. C. Efeito da endozoocoria do lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) sobre a germinação de jerivá *Syagrus romanzoffiana* e da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum*). V Congresso de Ecologia do Brasil. Porto Alegre. 2001. p. 199 - 769.

ALVES, M. R. P; DEMATTÊ, M. E. S. P. Palmeiras: Características botânicas e evolução. Campinas: Fundação Cargill. 1987. 129p.

CASTRO, A. H. F.; ALVARENGA, A. A. de.; PAIVA, R.; GOMES, G. A. C.; ALCÂNTARA, E. Propagação do murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss) através do cultivo "in vitro" de embriões. Anais do XIV Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais e I Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos. 2003. Lavras. UFLA/FAEPE. p. 462. p. 190.

DAVIDE, A. C. Detecção de ácido abscísico em sementes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassm). ABRATES. 2001. v. 11. n. 2. Set. p. 284. 474.

DINIZ, J. H; SÁ, L. F. de. A Cultura da guariroba. Goiânia: EMATER-GO. 1995. 16p. (EMATER. Boletim Técnico, 003).

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. (1990) Micropropagação. In: Torres, A.C. & Caldas, L.S. (eds.). Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas., Brasília, ABCTP/EMBRAPA-CNPQ.

HSU, F. C. Abscisic acid accumulation in developing seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology*. 1979. v. 63. p.552-556.

KAGEYAMA, P. Y E GUION, D. C. Teste de germinação de *Syagrus romanzoffiana* (Chamisso) Glassman. XLVII Congresso de Botânica. Rio de Janeiro. 1996. p.467.

KING, R. W. Abscisic acid in developing wheat and its relationship to grain growth and maturation. *Planta*. 1976. v. 132. p. 43-51.

MUNIZ, M. F. B.; KAUFFMANN, M.; DISARZ, R.; SIGNOR, P.; NETTO, C. C. Estudo de fatores que afetam a qualidade de sementes de jerivá – *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassm. Informativo Abrates. 2003. v.13. n. 3. p. 364-602.

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

NOBLICK, L.R. *Syagrus*. *The Palm Journal*. 1996. n. 126. p.12-45.

SIQUEIRA, E. R.; RIBEIRO, F. E.; ARAGÃO, W. M.; TUPINAMBÁ, E. A. Melhoramento genético do coqueiro. In: Ferreira, J. M .S.; Warwick, D .R. N.; Siqueira, L. A. (eds.). A cultura do coqueiro no Brasil. 2.ed. Brasília: EMBRAPA-CPATC 1997. p.57-64.

TREMBLAY, L; TREMBLAY, F. M. Carbohydrate requirements for the development of black spruce (*Picea Mariana* (Mill) B.S.P.) and red spruce (*P. rubens* Sarg.) somatic embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1991. v.27. p. 95-103.

WANG, Y. C.; JANICK, J. Sucrose concentration and osmolarity as factors affecting in vitro wax accumulation in jojoba embryos. *Hortscience*. 1986. v. 21. n. 4. p.1048-1049.

WHITE P. R. Nutritional requirements of isolated plant tissues and organs. *Annual Review of Plant Physiology*. 1951. v.2. p 231-244.

WHITEHEAD, H. C. M.; GILES, K. L. Rapid propagation of poplars by tissue culture methods. *New Zealand Journal of Forest Science*. 1977. v.7. p.40-43.

XU, N; COULTER, K. M.; DEREK BEWLEY, J. Abscisic acid and osmoticum prevent germination of developing alfalfa embryos, but only osmoticum maintains the synthesis of developmental proteins. *Planta*. 1990. v. 182. p. 382-390.

**PALAVRAS CHAVES:** Jerivá, Embriões, BAP.

## ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE SEMENTES DE PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora* Ducke) VISANDO À OBTENÇÃO DE PLÂNTULAS ASSÉPTICAS

Soami Fernanda Caio Deccetti<sup>1</sup>; Monique Inês Segeren<sup>2</sup>; Paulo de Tarso Barbosa Sampaio<sup>3</sup>; Lauro Euclides Soares Barata<sup>4</sup>, Analú Vicentin<sup>5</sup>; Aline Segeren Fonseca<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Coordenadora Projeto PIPE-FAPESP (FASE I) - ProClone, e-mail: [deccetti@yahoo.com.br](mailto:deccetti@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Coordenadora CNPq-RHAE, <sup>3</sup>Pesquisador/Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), Manaus – AM; <sup>4</sup>Instituto Química - UNICAMP <sup>5</sup>Bolsista Projeto PIPE – FAPESP (FASE I); <sup>6</sup>ProClone Biotecnologia e Produção de Mudanças Matriz de Laboratório [proclone.com.br](http://proclone.com.br).

### INTRODUÇÃO

Diante da dificuldade de produção de mudas de Pau-rosa por métodos convencionais para viabilizar o cultivo racional da espécie e a produção comercial do seu óleo essencial, uma nobre essência aromática cobiçada no mercado internacional, torna-se fundamental investir no desenvolvimento de tecnologias alternativas para a sua propagação (May & Barata, 2004). Em diversas espécies, o uso da micropropagação tem possibilitado a obtenção de grande quantidade de mudas livres de doenças e mais homogêneas, em tempo e espaço físico reduzidos, em comparação aos métodos de propagação convencionais (Grattapaglia & Machado, 1998).

A fase de estabelecimento *in vitro*, que antecede as fases do cultivo *in vitro* propriamente dito, é fundamental para o sucesso no desenvolvimento de um sistema de micropropagação, principalmente para espécies lenhosas nativas. Em função da pressão de doenças nos ambientes tropicais, o estado da planta matriz que fornecerá material vegetal (explante) para o cultivo *in vitro* pode ser um dos fatores limitante no estabelecimento de explantes. Explantes provenientes de matrizes de campo, geralmente apresentam muitos problemas de contaminação e uma das alternativas para diminuir a infestação é cultivar sementes *in vitro*, selecionando daí as plântulas assépticas, de onde serão obtidos os explantes (Braga, Caldas e Habe, 1997).

Em adição, o cultivo *in vitro* de espécies lenhosas, como o Pau-rosa, quando comparado ao de espécies herbáceas, geralmente é mais difícil, e se agrava à medida que se utiliza material menos juvenil, uma vez que a restauração da competência para a regeneração de órgãos diminui ao aproximar-se da fase adulta (Rasai et al., 1995). Dessa maneira, a utilização de material vegetal proveniente de matrizes obtidas por germinação de sementes *in vitro*, ao invés de árvores adultas no campo, também constitui uma estratégia importante para garantir o fornecimento de material vegetal com características mais adequadas para o cultivo *in vitro*, rejuvenescido e com maior potencialidade regenerativa, além de reduzir a ocorrência de oxidação fenólica *in vitro*.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo definir metodologias para o estabelecimento *in vitro* de sementes de Pau-rosa visando, posteriormente, à obtenção de plantas matrizes assépticas, como

primeira etapa no desenvolvimento de um protocolo de micropropagação para a espécie (Fonte Financiadora: FAPESP, processo 05/50912-0).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente estudo foi realizado no Laboratório da empresa ProClone e objetivou-se desenvolver uma metodologia satisfatória para a assepsia de sementes imaturas de Pau-rosa, provenientes de frutos verdes coletados em árvores adultas sob plantio na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM, e acondicionados úmidos em sacos plásticos transparentes, sob temperatura ambiente e no escuro, até a realização dos experimentos (15 dias).

Após a retirada manual da polpa dos frutos, as sementes foram lavadas com detergente e submetidas a um pré-tratamento através da manutenção das mesmas em água corrente por 48 horas. A seguir, em câmara de fluxo laminar, as sementes foram submetidas a diferentes tratamentos de assepsia através da imersão em álcool 70% (v/v) por 5 minutos, seguido pela imersão em solução fungicida 1% (v/v - Derosal 500 CC) por 15 ou 20 minutos em associação à imersão em solução de formaldeído comercial 50% (v/v) por 15 ou 20 minutos.

Após a realização do processo de assepsia e a tríplice lavagem para eliminação do excesso de soluções desinfestantes, as sementes foram inoculadas em recipientes plásticos, contendo apenas água deionizada e autoclavada, e mantidas em sala de crescimento no escuro durante 15 dias. Após esse período foram transferidas para fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $25\pm 1$  °C por mais 15 dias. Em intervalos de 07 dias foi avaliado o número de sementes contaminadas, sendo os resultados expressos em porcentagem de contaminação.

O experimento foi instalado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, sendo que cada recipiente de cultivo continha um explante (semente). O programa SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), da Universidade Federal de Lavras, foi utilizado para a análise de variância dos dados não transformados e dos testes para comparação dos contrastes entre médias. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos durante o período de avaliação estão apresentados na figura 1. No período considerado crítico (até 15 dias após a inoculação), no qual a contaminação geralmente é mais expressiva, pode-se observar em todos os tratamentos, como era esperado, o aumento progressivo na contaminação das sementes. A menor porcentagem de contaminação (28,6%) foi obtida no tratamento 2 (T2).

Entretanto, quando se considera o período todo de avaliação, o T2 não mantém sua eficiência (71,4%) e os melhores resultados (56,2% e 50%) são obtidos utilizando-se solução de fungicida por 15 minutos em associação a solução de formaldeído por 15 minutos (T1) ou 20 minutos (T3), respectivamente. Por outro lado, somente nos tratamentos que utilizam a combinação de tempos diferentes de exposição às duas soluções desinfestantes, a porcentagem de contaminação se mantém estável a partir do



21º dia, em 71,4% (T2) e 50% (T3), indicando o estabelecimento *in vitro* das sementes submetidas a esses tratamentos. Nos demais tratamentos, que utilizam o mesmo tempo de exposição às soluções desinfestantes (T1 e T4), podem ser observados o aumento progressivo na contaminação das sementes.

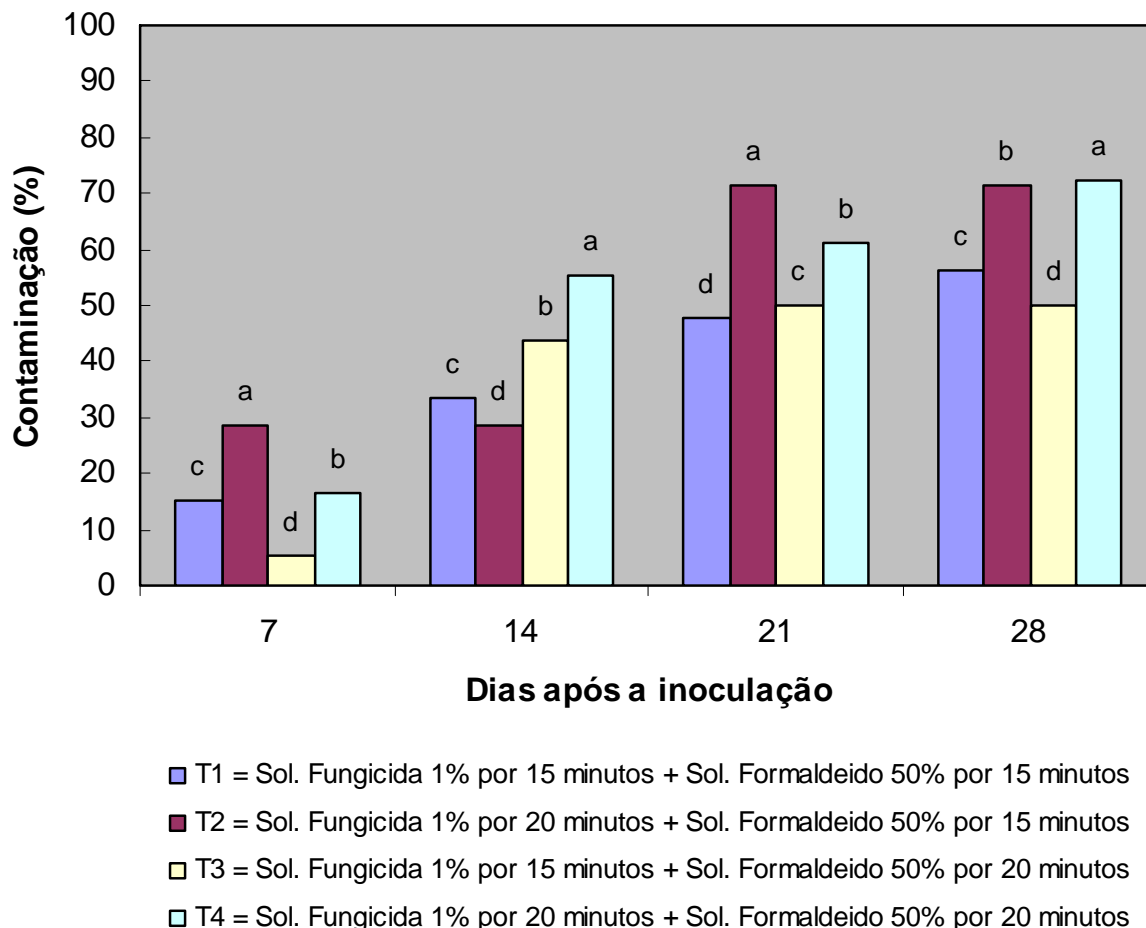


Figura 1. Efeito de diferentes tratamentos de assepsia sobre a contaminação *in vitro* de sementes de Pau-rosa. Os valores representam a média de 20 repetições. Em cada data de avaliação, médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando o efeito dos tratamentos sobre o controle da contaminação ao longo do período de avaliação e o tempo necessário para o estabelecimento *in vitro* das sementes, podemos concluir que a utilização de solução fungicida por 15 minutos associada à solução de formaldeído por 20 minutos (T3) apresenta superioridade em relação aos demais tratamentos, visto que em 21 dias promoveu o estabelecimento de 50% das sementes. A maior eficácia desse tratamento pode estar associada ao seu efeito sobre diferentes estádios de desenvolvimento dos patógenos presentes na superfície das sementes.

Embora tenha sido definida uma metodologia para o controle da contaminação das sementes que permaneceram armazenadas por um período de 15 dias, as altas porcentagens de contaminação observadas de maneira geral nessas sementes (50-72,2%) podem estar associadas à intensa

proliferação de microorganismos (fungos) na superfície das sementes durante o período de armazenamento sob alta umidade, necessário para evitar a perda de viabilidade das mesmas, e podem indicar que esse tipo de material não é adequado para o estabelecimento *in vitro* da espécie.

Em adição, a intensa infestação das sementes por larvas de insetos, muito freqüente na espécie (Spironello et al., 2004), provavelmente influenciou os resultados obtidos, contribuindo para aumentar a contaminação *in vitro*. Neste contexto, a utilização de sementes intactas e recém - coletadas pode reduzir a probabilidade de contaminação, aumentar a eficiência dos tratamentos de assepsia e constituir uma estratégia importante para o estabelecimento *in vitro* do Pau-rosa.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo pode-se concluir que a combinação de tempos diferentes de exposição das sementes às duas soluções desinfestantes testadas exerce influência significativa sobre o estabelecimento *in vitro* do Pau-rosa. Novos estudos deverão ser conduzidos posteriormente para maximizar o controle da contaminação, considerando a influência do uso de sementes atacadas por larvas de insetos e/ou mantidas armazenadas por determinado período sobre o estabelecimento *in vitro* da espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAGA, M.F.; CALDAS, L.S.; HABE, M.H. Estabelecimento de acerola (*Malpighia glabra* L.) *in vitro*: efeito do clone e do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.19, n.3, p.335-346, 1997.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3 – Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. ed. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – CNPH, 1998, p. 331-353.
- MAY, P.H.; BARATA L. E. S. Rosewood Exploitation in the Brazilian Amazon: Options for Sustainable Production. **Economic Botany**, v.58, n.2, p. 257–265, 2004.
- RASAI, S.; GEORGE, A.P.; KANTHARAJAH, A.S. Tissue Culture of *Annona* spp. (Cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): a review. **Scientia Horticulturae**, v.62. p.1-14, 1995.
- SPIRONELLO, W.R.; SAMPAIO, P.T.B.; RONCHI-TELES, B. Produção e predação de frutos em *Aniba rosaeodora* Ducke var. *amazônica* Ducke (Lauraceae) em sistemas de plantio sob floresta de terra firme na Amazônia Central. **Acta Bot. Bras.** v.18, n.4, p. 801-807, 2004.

## Efeito da temperatura na germinação de sementes de espécies de *Merremia* spp. e *Ipomoea* spp.

Santos, Juliana Garcia dos<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Beckmann-Cavalcante, Márkilla Zunete<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP), Campus de Jaboticabal, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone: (16) 3209-2668 email: [jugarciaagro01@yahoo.com.br](mailto:jugarciaagro01@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Professora Assistente Doutor da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone: (16) 3209-2668 email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br);

<sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP), Campus de Jaboticabal, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone: (16) 3209-2668 email: [zunete@yahoo.com.br](mailto:zunete@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

Os gêneros *Ipomoea* e *Merremia*, que apresentam grande potencial como ornamentais, são nativos da América. As plantas são anuais, herbáceas, trepadeiras e volúveis, com flores de coloração variada. As flores das espécies do gênero *Merremia* são de coloração branco-amareladas, em *I. grandifolia* as flores são róseas, *I. hederifolia* e *I. quamoclit* apresentam flores de coloração vermelha e em *I. nil* as flores são branco-azuladas (Lorenzi, 2000; Lorenzi & Souza, 2001).

Algumas espécies de *Ipomoea* já são encontradas nos grandes mercados que comercializam flores e plantas ornamentais como *I. quamoclit*, *I. alba*, *I. horsfalliae* e *I. purpúrea*. No entanto, o mesmo ainda não foi observado para o gênero *Merremia*.

A propagação de espécies dos gêneros *Ipomoea* e *Merremia* é sexuada (Lorenzi, 2000; Lorenzi & Souza, 2001), porém, há poucos estudos sobre a germinação de sementes dessas espécies. Algumas pesquisas indicam que há dormência física em espécies do gênero *Ipomoea* (Stoller & Wax, 1974; Hardcastle, 1978; Egley, 1990; Horak & Wax, 1991; Moaisi & Phillips, 1991; Ogunwenmo & Ugborogho, 1999) e *Ipomoea* e *Merremia* (Azania et al., 2003), entretanto, não há estudos sobre temperaturas que proporcionem maior porcentagem e maior velocidade de germinação das sementes.

Labouriau (1983) comenta que dentre os principais fatores que afetam a germinação das sementes, merecem destaque a temperatura e a luz.

O efeito da temperatura na germinação afeta a velocidade de absorção de água pelas sementes e pode alterar, entre outros aspectos, a porcentagem total, a velocidade e a uniformidade de germinação (Carvalho & Nakagawa, 2000). De acordo com o exposto, o presente trabalho objetivou o estabelecimento das faixas ideais de temperatura para a germinação de sementes das diferentes espécies de *Ipomoea* e *Merremia*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes do Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, UNESP/FCAV.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos (temperaturas constantes de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C, e temperaturas alternadas de 20-30°C e 25-35°C - fotoperíodo de 12 horas; e condições do laboratório). Na condição de ambiente os diásporos foram colocados sobre bancadas do laboratório, cujas temperaturas máximas e mínimas foram monitoradas diariamente, sendo a temperatura máxima média de 27,5°C e mínima média de 24,5°C. Foram utilizadas quatro repetições de 25 (*Ipomoea* spp.) ou 20 (*Merremia* spp.) sementes.

As sementes foram dispostas em caixas plásticas com papel filtro (mantendo-se 60% de umidade, repondo água de acordo com o peso, a cada três dias), de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). As parcelas foram dispostas em condições controladas de temperatura de acordo com os tratamentos propostos.

Diariamente, avaliou-se o número de sementes que germinaram, para determinação da porcentagem de germinação, calculada segundo as Regras para Análise de Sementes

(Brasil,1992), e o índice de velocidade de germinação (IVG), conforme recomendações de Maguire (1962).

As sementes que germinaram foram contadas diariamente até o 14º dia. A porcentagem (14º dia) e o índice de velocidade de germinação foram avaliados. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em valores angulares [ $\arcsin(x/100)^{1/2}$ ] antes da análise estatística. Realizou-se análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se para *Merremia cissoides* (Tabela 1) que a porcentagem de germinação foi semelhante em todos os tratamentos, porém, as sementes germinaram mais rápido na temperatura alternada de 25-35°C.

Por outro lado *Merremia aegyptia* (Tabela 1) apresentou maiores porcentagens nos tratamentos de 20°C, 25°C, 30°C, 20-30°C e em condições de ambiente de laboratório (25 a 28°C). A partir de 35°C observou-se uma interferência negativa na germinação das sementes, embora esta seja uma espécie tropical.

Tabela1. Análise de variância (quadrado médio) para as médias da porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) para sementes de *Merremia cissoides* e *M. aegyptia*, sob os diferentes tratamentos de temperatura. Jaboticabal, SP, 2006.

Causas de variação	GL	<i>Merremia cissoides</i>		<i>Merremia aegyptia</i>	
		Germinação(%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>	Germinação(%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Temperatura	6	169,12 <sup>NS</sup>	22,23 <sup>**</sup>	201,02 <sup>**</sup>	9,34 <sup>**</sup>
Resíduo	21	93,09	2,12	51,61	0,83
CV (%)		16,84	22,46	12,75	17,64
tratamentos		Médias dos tratamentos			
20°C		53,82 <sup>1</sup> (65,15) <sup>2</sup> a	3,96 b	55,44 <sup>1</sup> (67,82) <sup>2</sup> a	4,19 b
25°C		58,34 (72,45) a	5,94 b	56,86 (70,11) a	4,74 b
30°C		70,91 (89,30) a	5,71 b	67,74 (85,65) a	5,15 b
35°C		56,97 (70,29) a	5,25 b	48,69 (56,42) b	2,81 c
20-30°C		51,77 (61,71) a	6,48 b	56,83 (70,07) a	5,28 b
25-35°C		56,89 (70,16) a	11,44 a	47,16 (53,77) b	7,50 a
Condição de laboratório		52,37 (62,72) a	6,59 b	61,58 (77,35) a	6,54 a

<sup>NS</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo (P<0.01); <sup>\*</sup> significativo (P<0.05)

Médias comparadas pelo teste Skott-Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>1</sup> dados transformados em valores angulares [ $\arcsin(x/100)^{1/2}$ ]

<sup>2</sup> dados não transformados.

Para *Ipomoea grandifolia* (Tabela 2) a germinação foi semelhante em todos os tratamentos, tanto em porcentagem quanto em velocidade.

A porcentagem de germinação de sementes de *Ipomoea hederifolia* (Tabela 2) foi superior e as sementes germinaram mais rápido nas temperaturas alternadas, ou seja, 20-30°C, 25-35°C, bem como, em condições de laboratório (25 a 28°C).

Também para *Ipomoea nil* (Tabela 3) a porcentagem de germinação foi superior nas temperaturas alternadas de 20-30°C, 25-35°C e 25 a 28°C (condições de laboratório), porém, além destas, germinaram mais rápido também na temperatura constante de 35°C.

A grande limitação para *Ipomoea quamoclit* (Tabela 3) foi a temperatura de 20°C, que apresentou médias significativamente inferiores tanto para porcentagem como para velocidade de germinação.

Tabela 2. Análise de variância (quadrado médio) para as médias da porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) para sementes de

*Ipomoea grandifolia* e *I. hederifolia*, sob os diferentes tratamentos de temperatura. Jaboticabal, SP, 2006.

Causas de variação	GL	<i>Ipomoea grandifolia</i>		<i>Ipomoea hederifolia</i>	
		Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Temperatura		33,69 <sup>NS</sup>	4,73 <sup>NS</sup>	68,05*	6,52 *
Resíduo	6	53,18	2,49	24,98	2,01
CV (%)	21	13,75	25,95	15,70	19,84
tratamentos		Médias dos tratamentos			
20°C		53,97 <sup>1</sup> (65,40) <sup>2</sup> a	5,17 a	29,23 <sup>1</sup> (23,85) <sup>2</sup> b	2,35 b
25°C		50,93 (60,28) a	5,88 a	26,38 (19,74) b	1,90 b
30°C		50,07 (58,80) a	5,37 a	29,50 (24,25) b	2,78 b
35°C		55,80 (68,41) a	5,38 a	29,88 (24,82) b	2,05 b
20-30°C		52,80 (63,45) a	7,85 a	34,32 (31,79) a	4,46 a
25-35°C		57,59 (71,27) a	7,41 a	37,45 (36,97) a	4,79 a
Condição de laboratório		50,20 (59,03) a	5,52 a	36,14 (34,78) a	1,58 a

<sup>NS</sup> Não significativo; \*\* significativo (P<0.01); \* significativo (P<0.05)

Médias comparadas pelo teste Skott-Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>1</sup> dados transformados em valores angulares [arc sen (x/100)<sup>1/2</sup>]

<sup>2</sup> dados não transformados.

Tabela 3. Análise de variância (quadrado médio) para as médias da porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) para sementes de *Ipomoea nil* e *Ipomoea quamoclit*, sob os diferentes tratamentos de temperatura. Jaboticabal, SP, 2006.

Causas de variação	GL	<i>Ipomoea nil</i>		<i>Ipomoea quamoclit</i>	
		Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Temperatura	6	82,62 **	4,43 **	601,33 **	56,16 **
Resíduo	21	19,55	0,50	101,59	1,39
CV (%)		10,72	19,57	21,80	15,84
tratamentos		Médias dos tratamentos			
20°C		38,00 <sup>1</sup> (37,90) <sup>2</sup> b	2,77 b	20,71 <sup>1</sup> (12,51) <sup>2</sup> b	0,45 c
25°C		38,03 (37,95) b	2,98 b	47,33 (54,06) a	5,33 b
30°C		38,62 (38,96) b	3,90 a	58,28 (72,36) a	6,27 b
35°C		36,14 (34,78) b	1,98 b	47,34 (54,08) a	8,90 a
20-30°C		45,00 (50,00) a	4,55 a	44,40 (48,95) a	9,54 a
25-35°C		45,58 (51,01) a	4,81 a	50,28 (59,16) a	11,00 a
Condição de laboratório		47,34 (54,08) a	4,29 a	55,37 (67,71) a	10,66 a

<sup>NS</sup> Não significativo; \*\* significativo (P<0.01); \* significativo (P<0.05)

Médias comparadas pelo teste Skott-Knott ao nível de 5% de significância.

<sup>1</sup> dados transformados em valores angulares [arc sen (x/100)<sup>1/2</sup>]

<sup>2</sup> dados não transformados.

Embora todas as espécies estudadas sejam de origem tropical, a resposta às diferentes temperaturas foi distinta. *Ipomoea grandifolia* seguida de *Merremia cissoides* foram as mais versáteis, apresentando altas médias de porcentagem de germinação em todas as temperaturas.

Embora a literatura indique que há dormência física em várias espécies dos gêneros *Ipomoea* e *Merremia*, alguns dos resultados obtidos são superiores aos obtidos por Azania et al. (2003) que utilizaram técnicas de quebra de dormência. Talvez isso seja devido ao fato

de não terem utilizado a temperatura mais adequada para germinação das sementes após o tratamento de quebra de dormência.

A propagação é um dos principais fatores limitante na domesticação de espécies nativas; todavia, para as espécies estudadas, os resultados sinalizam que essas espécies podem ser propagadas facilmente por sementes havendo necessidade de maior ajuste das técnicas, de forma a possibilitar maior porcentagem de germinação das sementes, já que a germinação foi rápida, ou seja, no máximo 14 dias.

## CONCLUSÕES

Para *Merremia cissoides* a temperatura que proporcionou maior porcentagem e maior velocidade de germinação foi 25-35°C; para *M. aegyptia* foi em condição de laboratório (25 a 28°C); *Ipomoea grandifolia*, em todas as condições de temperatura; *I. hederifolia* e *I. nil*, nas temperaturas alternadas (20-30°C, 25-35°C) e 25 a 28°C e para *I. quamoclit*, nas alternadas (20-30°C, 25-35°C), 25 a 28°C e também em 35°C.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZANIA, A.A.P.M.; AZANIA, C.A.M.; PAVANI, M.C.M.D.; CUNHA, M. C. S. Métodos de superação de dormência em sementes de *Ipomoea* e *Merremia*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v.21, n.2, p.203-209, 2003.

BRASIL. 1992. Ministério da Agricultura. Regras para Análise de Sementes. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária, 358p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

EGLEY, G. H. Hight temperature effects on germination and survival of weed seeds in soil. **Weed Sci.**, v. 38, n. 429-435, 1990.

HARDCASTLE, W. S. The influence of temperature and acid scarification duration on *Ipomoea obscura* Hassk. seed germination. **Weed. Res.**, v. 18, p.89-91, 1978.

HORAK, M. J.; WAX, L.M. Germination and seedling development of bigroot Morningglory (*Ipomoea pandurata*). **Weed Sci.**, v. 39, p. 390-396, 1991.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983, 174p.

LORENZI, H. J. **Plantas daninhas do Brasil**. 3. ed. São Paulo: Inst. Plantarum, 2000, 608p.

LORENZI, H. J; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**. 3. ed. São Paulo: Inst. Plantarum, 2001. 1088p.

MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2 (1): 176-177, 1962.

MOAISE, K.; PHILLIPS, M. C. Breaking seed dormancy in some common arable weeds. **Bull. Agric. Botswana**, v. 9, p. 70-76, 1991,. CD-ROOM.

OGUNWENMO, K. UGBOROGHO, R. E. Effects of chemical and mechanical scarification on seed germination of five species of *Ipomoea* (convolvulaceae). **B. Soc. Broteriana**, v. 69, p. 147-162, 1999. CD-ROOM.

STOLLER, E. W.; WAX, L.M. Dormancy changes and fate of some annual weed seeds in the soil. **Weed Sci.**v. 22, p. 151-155, 1974.

PALAVRAS-CHAVES: *Ipomoea* ssp., *Merremia* ssp., sementes, temperatura

## Influência do local de origem e da temperatura na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O' Brien).

Castro, Amanda de<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro de<sup>3</sup>; Penariol, Ana Paula<sup>4</sup>; Pimenta, Ricardo Soares<sup>5</sup>; Luz, Peterson Baptista da<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Pós-Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, PBAX (16) 3209-2600, e-mail: [amandinha-castro@hotmail.com](mailto:amandinha-castro@hotmail.com); <sup>2</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup> Professora Doutora (UNESP/FEIS), Departamento de Produção Vegetal, Av. Brasil, 56, CEP 15385-000, fone (18) 3743-1000, email: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br); <sup>4</sup> Mestranda do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [appenariol@yahoo.com.br](mailto:appenariol@yahoo.com.br); <sup>5</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [pimenta@fcav.unesp.br](mailto:pimenta@fcav.unesp.br); <sup>6</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [petterbaptista@yahoo.com.br](mailto:petterbaptista@yahoo.com.br);

### INTRODUÇÃO

A espécie *Phoenix roebelenii* O' Brien, conhecida popularmente como tamareira-anã, é uma palmeira muito graciosa, de porte baixo, ou seja, atinge 2 a 3 metros de altura e é muito utilizada no paisagismo brasileiro.

A produção de mudas de palmeiras é feita quase que exclusivamente por sementes e a germinação da maioria das espécies é considerada baixa, lenta, desuniforme e influenciada por vários fatores, relacionados ao ambiente ou à própria planta (Meerow, 1991).

A temperatura é um dos fatores que interferem na germinação e segundo Bewley & Black (1994), influencia tanto a porcentagem final de germinação como a velocidade de germinação. As sementes são capazes de germinar sob uma determinada amplitude de temperatura, definida para cada espécie, existindo uma temperatura máxima e uma mínima, acima e abaixo das quais a germinação não ocorre.

Para as espécies da família Arecaceae, há variações na indicação da faixa ideal onde ocorre a germinação de sementes de diferentes espécies. Segundo Lorenzi et al. (2004), para germinação de sementes de várias espécies de palmeiras são consideradas favoráveis temperaturas entre 24°C e 28°C, com umidade relativa do ar de aproximadamente 70%. Já Broschat (1994) observou que muitas sementes de palmeiras germinam melhor na faixa de 30°C a 35°C.

Muitos estudos vêm sendo feitos visando determinar a melhor temperatura ou faixa de temperatura que proporciona maiores porcentagens e velocidade de germinação de sementes de palmeiras, entre esses, os realizados por Iossi et al. (2003), Pivetta et al. (2005a) e Pivetta et al. (2005b). Entretanto, essa resposta pode variar com a origem da semente, conforme foi observado por Maluf (1992) estudando a germinação de sementes de *Senna multijuga*.

Devido então à importância desta palmeira ornamental e visando verificar a influência de fatores que interferem na germinação das sementes, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de duas localidades de produção e da temperatura na germinação de sementes de *Phoenix roebelenii*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes de Plantas Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal, da Unesp, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, SP (UNESP/FCAV).

Os frutos foram coletados no dia 09 de março de 2006, pela manhã, de plantas matrizes da espécie *Phoenix roebelenii*, localizadas nas cidades de Ilha Solteira e de Jaboticabal.

Conforme os registros de temperatura e chuva, da Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da UNESP/FCAV, no período de 1971-2000, o clima da

região, de acordo com Köppen, é Aw com transição para Cwa. A temperatura máxima média anual é 28,9°C, a mínima de 16,8°C e a média anual de 22,2°C.

Com base no histórico da estação coletora de dados agroclimáticos do DEFERS - Departamento de Fitossanidade, Eng<sup>a</sup>. Rural e Solos, Área de Hidráulica e Irrigação da UNESP Ilha Solteira, a temperatura máxima média anual é 30,8°C, a temperatura mínima anual é 19,6°C, e a temperatura anual média é 24,8°C e uma umidade relativa média anual de 66,0%.

Após a colheita, os frutos foram despulpados (retirada do exocarpo e mesocarpo), por meio do atrito manual contra uma peneira. Os diásporos (sementes com endocarpo aderido) foram enxaguados em água corrente, secos com papel-toalha e colocados em esfagno levemente umedecido dentro de caixas de papelão. Os frutos colhidos em Ilha Solteira-SP após passarem por estes processos, foram transportados para Jaboticabal-SP na manhã do dia 10 de março, onde foi instalado o experimento.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos num esquema fatorial 2x7 (duas localidades combinadas com sete condições de temperatura: controladas constantes de 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, controladas alternadas de 20-30°C e 25-35°C - 8 horas de luz e 16 horas de escuro e temperatura ambiente), tendo sido utilizadas 4 repetições de 25 sementes.

Inicialmente, determinou-se o grau de umidade pelo método de estufa a 105°C ± 3°C por 24 horas (Brasil, 1992). Foram retiradas duas repetições de 20 sementes, para cada uma das localidades.

Os diásporos foram colocados em caixas plásticas tipo “gerbox”, contendo vermiculita média, e estes foram dispostos em germinadores regulados de acordo com os tratamentos. As caixas “gerbox” do tratamento referente à temperatura ambiente foram colocadas sobre um balcão, no laboratório, à sombra, sendo monitorado a temperatura e a umidade deste ambiente.

A reposição de água foi feita a cada dois dias, mantendo o substrato sempre úmido, utilizando água destilada com nistatina a 0,2%, para evitar a contaminação por fungos.

A cada dois dias, a partir do 18º dia, foi anotado o número de sementes germinadas adotando-se como critério de germinação o aparecimento do botão germinativo. Após a contagem, as sementes foram descartadas. As avaliações foram realizadas sempre no mesmo horário até o momento em que não houve mais germinação, ou seja, durante 90 dias.

A porcentagem de germinação foi calculada pela fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Para os cálculos do índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi utilizada a fórmula proposta por Maguire (1962).

Os dados obtidos nos testes de germinação foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x}/100$ . Os dados transformados de porcentagem de germinação e do IVG foram analisados estatisticamente e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água das sementes colhidas em Ilha Solteira e em Jaboticabal apresentaram valores médios de 23,7% e 22,1% respectivamente, ou seja, muito semelhantes.

Os resultados da porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de *P. roebelenii*, colhidas em duas diferentes localidades e submetidas a diferentes condições de temperatura encontram-se na Tabela 1.

Observa-se que a interação entre as temperaturas e os locais de coleta não foi significativa tanto para porcentagem quanto para IVG.



Tabela 1. Quadrados médios e médias obtidas nas análises de variância para porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG), de sementes de *Phoenix roebelenii* oriundas de Jaboticabal-SP e de Ilha Solteira-SP, em diferentes condições de temperatura, 2006.

Causa de Variação	GL	Porcentagem de germinação <sup>(1)</sup>	IVG
Temperatura (T)	6	2484,69**	0,2588**
Local (L)	1	1461,54**	0,3790**
T x L	6	42,16 <sup>NS</sup>	0,0190 <sup>NS</sup>
Resíduo	42	87,92	0,0089
CV(%)		18,14	23,86
Média Temperatura			
20°C		12,47 b <sup>(2)</sup>	0,0203 d
25°C		55,50 a	0,3908 bc
30°C		59,88 a	0,5035 ab
35°C		58,58 a	0,4502 abc
20-30°C		52,42 a	0,3484 c
25-35°C		62,61 a	0,5057 ab
Ambiente (°C)		60,44 a	0,5513 a
Média Local			
Jaboticabal		56,81 a	0,48 a
Ilha Solteira		46,59 b	0,31 b

<sup>1/</sup> Dados transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$ . <sup>2/</sup> Dados não transformados.

NS - não significativo ( $p > 0,05$ ); \* significativo ( $p < 0,05$ ); \*\* significativo ( $p < 0,01$ )

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)

Observa-se que para porcentagem de germinação, não houve diferença entre as temperaturas, exceto 20°C. Para IVG, nota-se que as sementes germinaram mais rápido na temperatura ambiente, não diferindo estatisticamente das temperaturas de 30°C, 35°C e 25-35°C. Para a temperatura de 20°C, as sementes germinaram mais lentamente. Iossi et al. (2003) estudando o efeito de temperaturas constantes (20°C, 25°C, 30°C, 35°C e 40 °C) na germinação de sementes de *P. roebelenii* também observaram que 20°C proporcionou baixa porcentagem de germinação, porém, observaram melhores resultados nas temperaturas de 25°C e 30°C e baixa porcentagem de germinação na temperatura de 35°C. Os resultados obtidos nesse estudo e os encontrados por Iossi et al. (2003) indicam a possibilidade de selecionar temperaturas que sejam boas para a germinação de sementes de *P. roebelenii*, ou seja, 25°C e 30°C, embora tenha ocorrido variação devido aos fatores ambientais e genéticos, já que se trata de uma espécie selvagem.

Houve diferença significativa entre as duas localidades observando-se que a porcentagem de germinação foi maior e a germinação foi mais rápida para as sementes colhidas em Jaboticabal, mostrando a interferência dos fatores ambientais na germinação de sementes desta espécie. No entanto, embora tenham sido observadas estas diferenças entre localidades estudadas a resposta às diferentes temperaturas foi semelhante ao contrário do obtido por Maluf (1992) na germinação de sementes de *Senna multijuga*.

## CONCLUSÃO

As temperaturas testadas (25°C, 30°C, 35°C, 20-30°C, 25-35°C e em condições de ambiente), exceto 20°C, proporcionaram semelhante porcentagem de germinação de sementes de *Phoenix roebelenii*, no entanto, em condições ambiente as sementes germinaram mais rápido. O local de produção de sementes influenciou a qualidade das mesmas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**, physiology of development and germination. New York: Plenum press, 1994. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária/Departamento Nacional de Defesa Vegetal/Coordenadoria de laboratórios de Análise Vegetal, 1992. 365p.

BROSCHAT, T.K. Palm seed propagation. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 360, p. 141-147, 1994.

IOSSI, E.; SADER, R.; PIVETTA, K.F.L.; BARBOSA, J.C. Efeito de substratos e temperaturas na germinação de sementes de Tamareira – anã (*Phoenix roebelenii* O' Brien). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.2, p.63-69, 2003.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; MEDEIROS-COSTA, J.T.; CERQUEIRA, L.S.C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, 2004. 390p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation seed emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MALUF, A.M. Variação populacional na germinação e dormência de sementes de *Senna multijuga*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.4, p.728-732. 1992. (Edição Especial)

MEEROW, A.W. **Palm seed germination**. Florida: Cooperative Extension Service, 1991. 10p. (bulletin, 274).

PIVETTA, K.F.L.; PAULA, R.C.; CINTRA, G.S.; PEDRINHO, D.R.; CASALI, L.P.; PIZETTA, P.U.C.; PIMENTA, R.S. Effects of temperature on seed germination of Queen Palm *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman. (Arecaceae). **Acta Horticulturae**, Leuven, v.683, p.379-381, 2005a.

PIVETTA, K. F. L.; CASALI, L. P.; CINTRA, G. S.; PEDRINHO, D. R.; PIZETTA, P. U. C.; PIMENTA, R. S.; PENARIOL, A. P.; MATTIUZ, C. F. M. Efeito da temperatura e do armazenamento na germinação de sementes de *Thrinax parviflora* swartz. (Arecaceae). **Científica**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.178-184, 2005b.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Phoenix roebelenii*, palmeira, germinação.

#### AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa

## Efeito da temperatura e do estágio de maturação dos frutos na germinação de sementes de *Roystonea regia* (Kunth) O. F. Cook (Arecaceae)

Penariol, Ana Paula<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Pedrinho, Denise Renata<sup>3</sup>; Pimenta, Ricardo Soares<sup>4</sup>;

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal, (UNESP/FCAV), Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [appenariol@yahoo.com.br](mailto:appenariol@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup>Professora Doutora, Univ. para o Desenvolvimento do Estado e da região do Pantanal, Rua Ceará, 333, CEP 79034-000, Campo Grande, MS, fone (67) 3183057, email: [dpedrinho@hotmail.com](mailto:dpedrinho@hotmail.com); <sup>4</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [pimenta@fcav.unesp.br](mailto:pimenta@fcav.unesp.br);

### INTRODUÇÃO

A espécie *Roystonea regia* (Kunth) O.F. Cook., popularmente conhecida como palmeira real, é originária de Cuba, das Guianas e do Panamá, em vegetação aberta de baixadas úmidas até 100 metros de altitude, e apresenta grande importância ornamental. O estipe é espesso, com dilatações irregulares, terminando num palmito volumoso no topo que geralmente fica escondido pelas folhas recurvadas e um tanto pendentes, apresentando de 10-25 m de altura por 40-70 cm de diâmetro. As folhas são plumosas, com folíolos inseridos em ângulos diferentes sobre a raque formando duas fileiras. Os frutos são globosos, de coloração variando de vermelho a violeta, amadurecendo no outono. A espécie é cultivada com grande frequência no Brasil, sendo talvez até mais popular que *Roystonea oleracea*, palmeira imperial. É muito característica a dilatação monumental da base de seu tronco quando jovem. Apresenta rápido crescimento a pleno sol e tolera temperaturas amenas no inverno (Lorenzi et al., 2004),

A maioria das espécies da Família Arecaceae é propagada sexualmente, no entanto, este processo, frequentemente, é dificultado, pois a germinação das sementes, de maneira geral, é lenta e desuniforme e é influenciada por vários fatores, como temperatura e estágio de maturação (Meerow, 1991).

Para as espécies da Família Arecaceae, há variações na indicação da faixa ideal onde ocorre a germinação de sementes de diferentes espécies. Generalizando, para várias espécies, os melhores resultados podem ser obtidos entre temperaturas que variam desde 24 até 35°C (Meerow, 1991; Broschat, 1994; Lorenzi et al., 2004).

Estudos têm sido realizados visando encontrar a temperatura ou a faixa de temperatura ideal para diferentes espécies de palmeiras, entre esses, o trabalho feito com *Phoenix roebelenii* (Iossi et al., 2003), com *Syagrus romanzoffiana* (Pivetta et al., 2005a) e com *Thrinax parviflora* (Pivetta et al., 2005).

O estágio de maturação do fruto é outro fator muito importante que interfere no sucesso da germinação das sementes. Para as palmeiras, Lorenzi et al. (2004) comentaram que os melhores resultados são obtidos com sementes provenientes de frutos maduros, sendo a germinação de sementes de frutos imaturos muito falha, podendo até não ocorrer, porque o endosperma se encontra ainda aquoso, não solidificado.

Para algumas espécies, estudos mostram que as sementes de palmeiras germinam melhor quando os frutos foram colhidos maduros, como foi observado por Broschat & Donselman (1988) que realizaram estudos com diferentes graus de maturação de frutos de *Phoenix roebelenii* e constataram maior porcentagem final de germinação de frutos maduros. Já estudos realizados por Maciel (1996) demonstraram que, para *Livistona chinensis*, melhores resultados foram obtidos com frutos colhidos verdes. Para Viana (2003), as sementes da espécie *Livistona rotundifolia*, apresentam germinação semelhante tanto para frutos colhidos verdes como maduros.

Aguiar et al. (2001), estudando o efeito de vários fatores, entre eles, temperatura (25°C, 35°C e 25-35°C) e o estágio de maturação de frutos (amarelo, intermediário e preto)

na germinação de sementes de *Rhapis excelsa*, observaram que os melhores resultados foram obtidos com frutos amarelos a 25°C.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da temperatura em três estádios de maturação dos frutos na germinação de sementes de *Roystonea regia*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes de Plantas Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal (SP), a partir de sementes oriundas de plantas existentes no município de Jaboticabal (SP).

Os cachos foram colhidos no dia 18 de dezembro de 2003, quando se observou que os frutos começaram a se desprender. Após a colheita, os frutos foram destacados manualmente do cacho e separados em três lotes distintos, pela coloração dos frutos, ou seja, em vermelhos (verde), amarelos (intermediário) e pretos (maduro).

Os frutos foram despolidos manualmente, ou seja, foi feita a retirada do exocarpo e do mesocarpo, ficando a semente com endocarpo aderido (diásporos).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 3, sendo 6 condições de temperatura (temperaturas constantes de 20, 25, 30 e 35°C e alternadas de 20-30° e 25-35°C) e 3 estádios de maturação dos frutos (vermelho, intermediário e preto), com 4 repetições de 25 sementes.

Os diásporos foram acondicionados em caixas de plástico (tipo gerbox), contendo vermiculita média, sendo, posteriormente, colocados em germinadores do tipo B.D.O., cuja temperatura foi regulada de acordo com o tratamento.

A contagem da germinação foi realizada diariamente, a partir da data de instalação do experimento até que não houvesse mais germinação, considerando germinadas as sementes que emitiram o botão germinativo.

Determinou-se a porcentagem de germinação de acordo com Brasil (1992) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de acordo com Maguire (1962).

Foi realizada a análise estatística e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se para porcentagem de germinação (Tabela 1), que a interação entre a temperatura e estágio de maturação foi significativa. Em relação ao estágio de maturação, de modo geral, observa-se que as sementes provenientes de frutos vermelhos apresentaram menores médias. A temperatura que proporcionou maior porcentagem de germinação de sementes provenientes de frutos vermelhos foi a de 35°C, não diferindo estatisticamente de 30°C, 20-30°C e 25-35°C; para frutos intermediários, 25°C, 30°C 35°C, 20-30°C e 25-35°C não diferiram entre si e foram superiores a 20°C; para frutos pretos, a temperatura que proporcionou maior porcentagem foi a de 35°C, não diferindo estatisticamente de 25-35°C.

De modo geral, a temperatura de 35°C foi a que proporcionou maiores porcentagens de germinação considerando os três estádios e, para obtenção de maior porcentagem de germinação, sementes de frutos intemediários e maduros.

Para Índice de Velocidade de Germinação (Tabela 2), a interação entre temperatura e estágio de maturação foi significativa. Também para esta característica, as sementes provenientes de frutos vermelhos apresentaram menores médias, exceto nas temperaturas de 20°C e 20-30°C, em que não houve diferenças significativas entre os três estádios de maturação. Para vermelhos e intermediários, a temperatura que proporcionou germinação mais rápida foi a de 35°C, não diferindo estatisticamente de 30°C; para pretos, também 35°C.

De modo geral, considerando porcentagem e velocidade de germinação, os melhores resultados foram obtidos com sementes provenientes de frutos maduros, na temperatura de 35°C.

Tabela 1. Porcentagem de germinação de sementes de *Roystonea regia*, submetidas a seis temperaturas em três estádios de maturação dos frutos (verde: frutos de coloração vermelha; intermediário: frutos de coloração amarela e maduro: frutos de coloração preta) de *Roystonea regia*, Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>		
Temperatura (T)	5	2664,14 **		
Estádio de maturação (EM)	2	2697,58 **		
Interação T x EM	10	1889,41 **		
Resíduo	54	89,47		
CV (%)		18,08		
Média Geral		52,30		
Médias <sup>1</sup>		Verdes	Intermediários	Maduros
20°C		18,34 C b	20,88 B ab	37,32 D a
25°C		36,46 BC c	75,71 A a	56,17 BCD b
30°C		50,35 AB b	71,83 A a	65,27 BC ab
35°C		57,75 A b	78,33 A a	87,11 A a
20-30°C		39,87 ABC b	62,21 A a	47,50 CD ab
25-35°C		52,02 AB b	69,03 A a	73, 83 AB a
Médias <sup>2</sup>				
20°C		9,90 C b	12,70 B ab	36,75 D a
25°C		35,31 BC c	93,90 A a	69,00 BCD b
30°C		59,28 AB b	90,27 A a	82,49 BC ab
35°C		71,52 A b	95,90 A a	99,74 A a
20-30°C		41,09 ABC b	78,26 A a	54,35 CD ab
25-35°C		62,13 AB b	87,19 A a	92,24 AB a

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ ; <sup>2</sup> Dados não transformados

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Roystonea regia*, submetidas a seis temperaturas em três estádios de maturação dos frutos (verde: frutos de coloração vermelha; intermediário: frutos de coloração amarela e maduro: frutos de coloração preta) de *Roystonea regia*, Jaboticabal (SP), 2005.

Causa da Variação	GL	IVG		
Temperatura (T)	5	0,361 **		
Estádio de maturação (EM)	2	0,230 **		
Interação T x EM	10	0,020 **		
Resíduo	54			
CV (%)		21,80		
Médias <sup>1</sup>		Verdes	Intermediários	Maduros
20°C		0,0180 D a	0,0267 E a	0,0648 D a
25°C		0,1077 CD b	0,2656 CD a	0,2288 C a
30°C		0,2309 AB c	0,4292 AB b	0,5300 B a
35°C		0,3178 A c	0,5033 A b	0,6521 A a
20-30°C		0,0931 CD a	0,1539 D a	0,1417 CD a
25-35°C		0,1929 BC c	0,3668 BC b	0,4938 B a

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

Para as várias temperaturas (20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 20-30°C e 25-35°C) às quais as sementes foram submetidas nos três estádios de maturação (vermelhos, amarelos e pretos) a maior porcentagem (99,7%) e a maior velocidade de germinação das sementes

foram obtidas com sementes provenientes de frutos pretos germinadas em temperatura de 35°C.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, F.F.A.; BARBEDO, C.J.; BILIA, D.A.C.; KANASHIRO, S.; TAVARES, A.R. Germinação de sementes de palmeira *Raphis*: efeito do estágio de maturação dos frutos, da temperatura, da luz e do substrato. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 13., 2001, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais, 2001. p.71.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária/Departamento Nacional de Defesa Vegetal/Coordenadoria de laboratórios de Análise Vegetal, 1992. 365p.

BROSCHAT, T.K. Palm seed propagation. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 360, p. 141-147, 1994.

BROSCHAT, T. K.; DONSELMAN, H. Palm seed storage and germination studies. **Principes**, Lawrence, v. 32, n.1, p.3-12, 1988.

IOSSI, E.; SADER, R.; PIVETTA, K.F.L.; BARBOSA, J.C. Efeito de substratos e temperaturas na germinação de sementes de Tamareira – anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v 25, n. 2, p. 63-69, 2003.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; MEDEIROS-COSTA, J.T. CERQUEIRA, L.S.C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, p. 390. 2004.

MACIEL, N.M.S. Efectos de la madurez y el almacenamiento Del fruto, la escarificacion y el remojo de las semillas sobre la emergencia de la palma china de abanico. **Agronomia tropical**, Maracay, v. 46, n. 2, p. 155-170, 1996.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MEEROW, A.W. **Palm seed germination**. Florida: Cooperative Extension Service, 1991. 10p. (Bulletin, 274).

PIVETTA, K.F.L.; PAULA, R.C.; CINTRA, G.S.; PEDRINHO, D.R.; CASALI, L.P.; PIZETTA, P.U.C.; PIMENTA, R.S. Effects of temperature on seed germination of Queen Palm *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman. (Arecaceae). **Acta Horticulturae**, Leuven, v.683, p.379-381, 2005a.

PIVETTA, K. F. L.; CASALI, L. P.; CINTRA, G. S.; PEDRINHO, D. R.; PIZETTA, P. U. C.; PIMENTA, R. S.; PENARIOL, A. P.; MATTIUZ, C. F. M. Efeito da temperatura e do armazenamento na germinação de sementes de *Thrinax parviflora* swartz. (Arecaceae). **Científica**, Jaboticabal, v.33, n.2, p.178-184, 2005b.

VIANA, F. A . P.; **Estudos sobre germinação e morfo-anatomia dos diásporos e da plântula de *Livistona rotundifolia* (Lam.) Mart. (Arecaceae)**. 2003. 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) –Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

PALAVRAS-CHAVES: *Roystonea regia*, palmeira, germinação.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa

## Morfologia dos diásporos e da plântula de *Caryota urens* L.

Pimenta, Ricardo Soares<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Paula, Rinaldo César de<sup>3</sup>; Moro, Fabíola Vitti<sup>4</sup>; Luz, Peterson Baptista da<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209-2668, email: [pimenta@fcav.unesp.br](mailto:pimenta@fcav.unesp.br); <sup>2</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>3</sup> Professor Doutor (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [rcpaula@fcav.unesp.br](mailto:rcpaula@fcav.unesp.br); <sup>4</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Biologia, email: [fabiola@fcav.unesp.br](mailto:fabiola@fcav.unesp.br); <sup>5</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [petterbaptista@yahoo.com.br](mailto:petterbaptista@yahoo.com.br).

*Caryota urens* (Lam.) Mart., embora muito utilizada, há poucas informações sobre produção de mudas; desta forma, este trabalho teve como objetivo descrever a morfologia do diásporo (semente com o endocarpo aderido) e da plântula. Frutos de *Caryota urens* (Lam.) Mart. foram coletados de matrizes localizadas no município de Jaboticabal-SP, no dia 01 de agosto de 2003. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal e no Laboratório de Morfologia do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal. Após a colheita, o epicarpo e o mesocarpo dos frutos foram removidos por meio de atrito manual contra a peneira sob água corrente. Os diásporos foram enxaguados em água corrente e secos à sombra por 24 horas. Efetuou-se a semeadura de 100 diásporos em bandejas de plástico transparente (50 x 25 x 0,6 cm), contendo uma camada de 5 cm do substrato vermiculita média umedecida. O sistema foi mantido em condições não controladas de laboratório. Nas regas, utilizou-se água destilada com nistatina a 0,2% para minimizar a contaminação por fungos e foram realizadas sempre que se observou a necessidade de reposição de água no substrato. As faces externa e interna dos diásporos, bem como o embrião, foram esquematizados com auxílio de câmara clara acoplada ao estereomicroscópio. Foram retiradas amostras representativas de cada fase do processo germinativo. Estas foram fixadas em FAA (formalina – ácido acético – álcool etílico) para posterior análise. As amostras foram documentadas por meio de esquemas, com auxílio de câmara clara acoplada ao estereomicroscópio, para a documentação e descrição dos eventos morfológicos externos. O início da germinação dos diásporos de *Caryota urens* L. ocorreu entre 9 e 60 dias, com a abertura de um opérculo circular no diásporo, por onde é emitida uma estrutura bulbosa e oca, denominada pecíolo cotiledonar. Essa estrutura é um alongamento do cotilédone único, que internamente passa a funcionar como órgão de absorção de reservas, denominado haustório. Com o crescimento do pecíolo cotiledonar, o material de reserva (endosperma) vai sendo consumido gradativamente. O pecíolo cotiledonar cresce aproximadamente até 5 cm, quando então se inicia uma dilatação em sua extremidade. Na extremidade dessa região dilatada, inicia-se o crescimento da raiz primária e a abertura de uma fenda longitudinal, por onde emerge a parte aérea, a plúmula. A plúmula é composta pela primeira folha juvenil completa (eófilo) revestida por uma bainha. Nesta fase observa-se o aparecimento de raízes secundárias. A primeira folha de *Caryota urens* L. é pinada, com 2 pinas de forma triangular assemelhando-se à cauda de peixe. A nervação é paralela, com nervuras largas, dispostas longitudinalmente.

### PALAVRAS-CHAVES

*Phoenix roebelenii*, palmeira, germinação.

### AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa

## Utilização de três diferentes fitorreguladores no enraizamento de *Allamanda cathartica* L.

Letícia Lisbôa Oliveira<sup>1</sup>; Tatiane de Oliveira Pereira<sup>1</sup>; Regina Maria Monteiro de Castilho<sup>1</sup>; Jefferson Anthony Gabriel de Oliveira<sup>1</sup>; Daniel Pinto da Silva Kramer<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP-FE) - Campus de Ilha Solteira – Passeio Monção s/n CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (17) 3743-1253 - Agronomia - Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia, e-mail: [leticiascarafici@gmail.com](mailto:leticiascarafici@gmail.com).

### INTRODUÇÃO

A estaquia é o processo de propagação no qual pequenas porções das hastes (caules), folhas ou raízes são postas sob condições que favorecem o enraizamento, sendo o mais utilizado na prática, tendo em vista a facilidade de muitas espécies em produzir raízes adventícias. As estacas são retiradas preferencialmente após a fase de florescimento da planta ou durante o período de repouso vegetativo.

Os tipos de estacas variam conforme o órgão de origem (do caule, folha ou raiz), a posição na planta (apical ou intermediária) e a consistência do tecido (lenhosa, semilenhosa ou herbácea).

O tratamento com hormônios (fitorreguladores) tem sido um método eficiente para a obtenção de raízes em propágulos de plantas, principalmente aquelas de difícil enraizamento, aumentando a velocidade de formação, o número e a qualidade das raízes formadas, bem como a uniformidade de enraizamento.

*Allamanda cathartica* L. (dedal-de-dama), pertencente à Família Apocynaceae, nativa do litoral norte, nordeste e leste do Brasil, é uma planta típica de clima tropical quente. É uma espécie semi-lenhosa, muito vigorosa e bastante variável, de folhas, espessas, oblongas ou ovadas, acuminadas e glabras. As inflorescências são com flores amarelas, fasciculadas, axilares e em forma de funil. O fruto é uma cápsula bivalve, contendo poucas sementes. Multiplica-se principalmente por estacas cortadas na primavera-verão.

É utilizada em trepadeira, se conduzida em caramanchões, portais e cercas, ou como arbusto escandente mediante podas, sempre a pleno sol, sendo pouco exigente quanto ao solo. Seu valor ornamental está em suas flores amarelas, grandes que surgem o ano todo, e no verde escuro brilhante de suas folhas.

O objetivo do trabalho foi avaliar o uso de fitorreguladores no enraizamento de estacas de *A. cathartica*.

### METODOLOGIA

O experimento foi realizado na Casa de Vegetação climatizada, (com Pad & Fan e temperatura ambiente de 25°C) da Faculdade de Engenharia UNESP, Campus de Ilha Solteira, no período de 30 de junho a 16 de agosto de 2005.

Utilizou-se estacas de *A. cathartica*, sem folhas e com aproximadamente 20cm de comprimento, obtidas no próprio Campus.

As estacas foram colocadas em jardineiras de plástico preto de dimensões 25cm de largura x 50cm de comprimento x 20cm de profundidade, que continham substrato comercial Plantmax. Os tratamentos foram: T1- testemunha; T2- Clone Gel; T3- Radimax e T4- Raizon.

O fitorregulador Clonegel, que é um composto na forma gel, com micronutrientes, vitaminas anti-stress e hormônio AIB 1000ppm e o Raizon 05, fertilizante mineral misto enraizador, reforçador de raízes em forma de pó, que contém 0,5% de ácido naftaleno acético, foram aplicados com 1cm de altura na base das estacas. Para aplicação de Radimax 20,

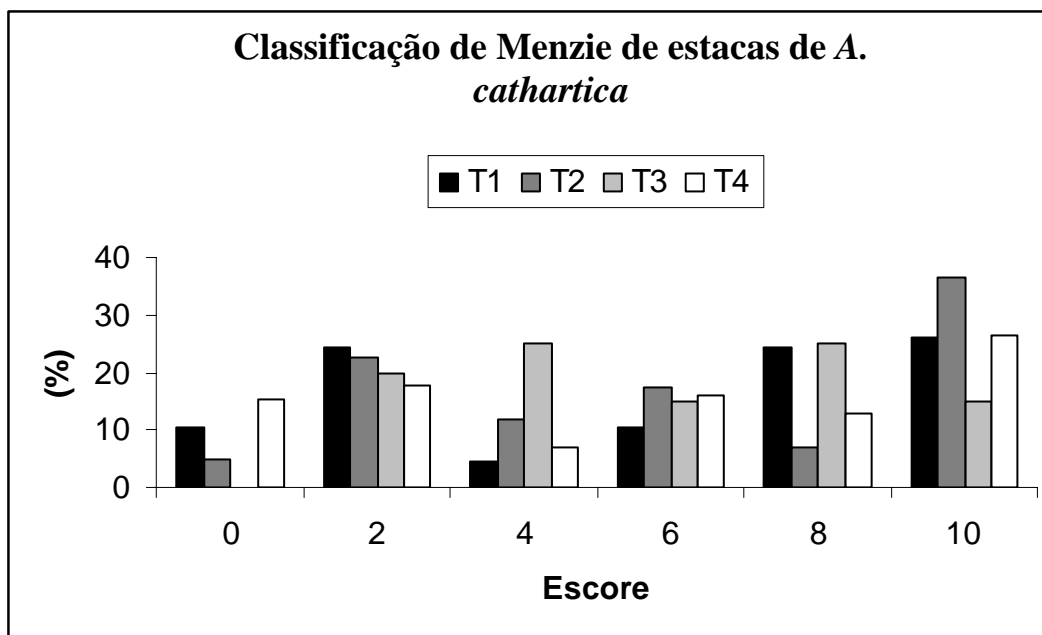


fertilizante mineral misto reforçador radicular, foi feita uma solução de 0,33g do produto 1L<sup>-1</sup> de água, onde as estacas ficaram imersas na base a 7cm durante 7 horas (temperatura média ambiente de 25,3° C), sendo plantadas imediatamente após a retirada da solução.

Utilizou 20 estacas por tratamento, sendo a avaliação realizada pela classificação de Menzie, conforme citado por Carneiro (1995), com escore: 0 - raízes laterais em todos os quadrantes, 2 - raízes laterais em três quadrantes, 4 – raízes laterais em dois quadrantes adjacentes, 6 - raízes laterais em dois quadrantes opostos, 8 - raízes laterais em um quadrante e 10 - sem raízes laterais significantes em qualquer quadrante.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da Classificação de Menzie de estacas de *A. cathartica* no Gráfico1.



**Gráfico 1:** Classificação de Menzie de estacas de *A. cathartica*.

Classificação de Menzie com escore:

- 0 – Raízes laterais em todos os quadrantes;
- 2 – Raízes laterais em três quadrantes;
- 4 – Raízes laterais em dois quadrantes adjacentes;
- 6 – Raízes laterais em dois quadrantes opostos;
- 8 – Raízes laterais em um quadrante;
- 10 – Raízes laterais significantes em qualquer quadrante;

Observa-se que T1 teve um escore de estacas perfeitas ou boas (escore 0 ou 2 na classificação de Menzie) superior ao de T3, porém teve proporção superior a 50% de estacas ruins ou péssimas (escore 8 ou 10) comprovando uma variação superior, T3 teve uma baixa quantidade de estacas perfeitas ou boas e 40% de estacas ruins ou péssimas, T2 apresentou 43,74% de estacas ruins ou péssimas, e T4 apresentou bom resultado com relação às raízes perfeitas, porém teve uma quantidade inferior a T1 com relação à porcentagem de raízes perfeitas ou boas.

Compostos como o ácido naftaleno acético, segundo Lopes e Barbosa (1994), podem contribuir para um melhor e mais rápido enraizamento. Alvarenga e Carvalho (1983) afirmam que as preparações em talco (via pó) tem vantagem de serem facilmente aplicadas e

encontrados comercialmente. O presente trabalho corrobora com essas afirmações, posto que o melhor resultado foi com o T4 – Raizon 05.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que o tratamento T4- Raizon 05 apresentou resultados superiores aos demais com relação à formação de raízes. Sendo recomendado a utilização de Raizon 05 para aumentar a viabilidade das estacas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, L. R., CARVALHO, V. D.; Uso de substâncias promotoras de enraizamento em estacas de frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.101, p. 47-55, 1983.

CARNEIRO, J. G. A., **Produção e controle de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF; Campus:UENF, 1995. 451 p.

LOPES, L. C.; BARBOSA, J. G.; **Propagação de plantas ornamentais**, Viçosa, UFV, 1994. 46 p.

## **Utilização de parafina na conservação pós-colheita de estacas de *Acalifa wilkesiana*. Mull. Arg.**

Letícia Lisbôa Oliveira<sup>1</sup>; Regina Maria Monteiro de Castilho<sup>1</sup>; Tatiane de Oliveira Pereira<sup>1</sup>; Jefferson Anthony Gabriel de Oliveira<sup>1</sup>; Daniel Pinto da Silva Kramer<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP-FEIS) - Campus de Ilha Solteira – Passeio Monção s/n CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (17) 3743-1253 - Agronomia - Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia, e-mail: [leticiascarafici@gmail.com](mailto:leticiascarafici@gmail.com).

### **INTRODUÇÃO**

A espécie ornamental *Acalypha wilkesiana* (acalifa, crista-de-peru, rabo-de-macaco), originária das Ilhas do Pacífico e pertencente à família Euphorbiaceae, possui folhas de importância ornamental por ser de variadas cores e formatos, sendo assim, muito utilizada em paisagismo. É um arbusto semi-lenhoso, perene, de 1,5-3,5 metros de altura, sendo propagado por estacas caulinares (LORENZI e SOUZA, 2001)

A propagação vegetativa ou reprodução agâmica consiste na produção de mudas ou novas plantas, a partir de partes ou órgãos da planta (ramos, gemas, folhas, raízes e outros), sendo denominada de reprodução assexuada. É, portanto, baseada na capacidade que certas estruturas vegetais possuem para formar um novo indivíduo completo, quando destacadas da planta-mãe e colocadas em condições propícias, formando, assim, os clones. A razão principal para se empregar essa técnica é que se obtém indivíduos com as mesmas características genéticas das planta-mãe (florescimento, cor e forma das folhas, crescimento, forma, produção) (WEDLING et al, 2005)

Existem vários fatores que influenciam o enraizamento de estacas, tais como seleção da planta matriz, tratamento nos ramos a coletar e na planta matriz, época do ano para estaquia, tipos de estacas, assim como pós-colheita e transporte. Durante o transporte e armazenagem de material propagativo, este perde água por transpiração e através de ferimentos abertos, diminuindo a viabilidade do material.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso de parafina na conservação pós-colheita de estacas de *Acalifa wilkesiana* armazenadas em temperatura ambiente e refrigerada.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado inicialmente no Laboratório de Biotecnologia e na Casa de Vegetação climatizada, com Pad & Fan (temperatura ambiente de 25°C) do campus de Agronomia da Faculdade de Engenharia - UNESP / Ilha Solteira, no período de 07 de maio a 04 de julho de 2005.

As estacas de akalifa, de aproximadamente 20cm de comprimento, foram obtidas de plantas matrizes localizadas no do Campus de Agronomia/FEIS/UNESP no mês de maio de 2005.

Logo a seguir, as estacas foram submetidas a 6 tratamentos: T1- sem parafina e mantidas em câmara fria, T2- com parafina nas extremidades e mantidas em câmara fria, T3- com parafina na estaca toda e mantidas em câmara fria, T4- com parafina nas extremidade e mantidas a temperatura ambiente, T5- com parafina na estaca toda e mantidas a temperatura ambiente e T6- testemunha (sem tratamento).

Para aplicação de parafina derreteu-se aproximadamente 1Kg de desta em banho-maria e com auxílio de uma pinça grande mergulhou-se as estacas dos

tratamentos T2, T3, T4 e T5. No mesmo dia colocou-se o tratamento T1 na câmara fria a temperatura de 10° C e foi plantada a testemunha (sem tratamento).

Após sete dias retirou-se a parafina dos tratamentos utilizando hexano, solvente inerte freqüentemente utilizado em reações orgânicas e remoção de óleo das sementes de oleaginosas, aquecido a 50°C e plantou-se em jardineira de plástico preto de dimensões 25cm de largura x 50cm comprimento x 20cm de profundidade contendo substrato Plantmax, e mantidas em casa de vegetação.

Avaliou-se, após 41 dias, o número e massa seca de brotos, numero e massa seca de raízes, massa fresca e seca de estacas, porcentagem de estacas enraizadas e porcentagem de estacas com calos. Para as avaliações de massa fresca, pesou-se as estacas antes do tratamento, após 7 dias com o tratamento (parafina) e após a retirada da parafina

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 5 repetições, com 3 estacas por repetição. Os resultados foram analisados pelo programa STAT, que gerou a análise de variância; o teste de média utilizado foi Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS

Os resultados de número médio de brotos, massa fresca de brotos, massa seca de brotos, porcentagem de estacas com brotos constam da Tabela 1. Os resultados de número de raízes, massa seca de raízes, porcentagem de estacas enraizadas e porcentagem de estacas com calos constam da Tabela 2; os resultados de massa de estacas, antes dos tratamentos, com os tratamentos e após os tratamentos, e massa seca de estaca constam da Tabela3.

TABELA 1 – Valores médios de número, massa fresca (g) e massa seca (g) de brotos, e porcentagem de estacas com brotos de *Acalypha wilkesiana*. Ilha Solteira, 2005.

Tratamentos	Nº de brotos	Massa fresca de brotos (g)	Massa seca de brotos (g)	% de estacas com broto
1	2,8640 <b>B</b>	8,7260 <b>A</b>	1,7280 <b>A</b>	100
2	0,1320 <b>D</b>	0,0400 <b>B</b>	0,0040 <b>B</b>	13,33
3	1,6000 <b>C</b>	1,6300 <b>B</b>	0,2400 <b>B</b>	66,66
4	0,4680 <b>CD</b>	0,1320 <b>B</b>	0,0140 <b>B</b>	40
5	0,6660 <b>CD</b>	0,3260 <b>B</b>	0,0300 <b>B</b>	20
6	4,3320 <b>A</b>	9,1300 <b>A</b>	1,1440 <b>AB</b>	100
C.V.%	36,81	43,08	123,09	-

T1- sem parafina e mantidas em câmara fria, T2- com parafina nas extremidades e mantidas em câmara fria, T3- com parafina na estaca toda e mantidas em câmara fria, T4- com parafina nas extremidade e mantidas a temperatura ambiente, T5- com parafina na estaca toda e mantidas a temperatura ambiente e T6- testemunha.

TABELA 2 –Valores médios de número, massa fresca (g) e massa seca (g) de raízes; e porcentagem de estacas enraizadas e de estacas com calos de *Acalypha wilkesiana*. Ilha Solteira, 2005.

Tratamentos	Nº de raízes	Massa fresca de raízes (g)	Massa seca de raízes (g)	% de estacas enraizadas	% de estacas com calos
1	63,4660 <b>B</b>	4,2080 <b>A</b>	0,3320 <b>A</b>	100	86,66
2	8,4000 <b>C</b>	0,7240 <b>BC</b>	0,0480 <b>C</b>	53,3	53,33
3	45,2660 <b>B</b>	2,7020 <b>AB</b>	0,1860 <b>BC</b>	100	93,3
4	14,3980 <b>C</b>	0,7580 <b>BC</b>	0,0540 <b>C</b>	66,66	53,33
5	15,8660 <b>C</b>	0,6000 <b>C</b>	0,0420 <b>C</b>	33,33	20,00
6	103,3320 <b>A</b>	4,3620 <b>A</b>	0,2420 <b>AB</b>	100	100
C.V.%	33,90	47,69	49,10	-	-

T1- sem parafina e mantidas em câmara fria, T2- com parafina nas extremidades e mantidas em câmara fria, T3- com parafina na estaca toda e mantidas em câmara fria, T4- com parafina nas extremidade e mantidas a temperatura ambiente, T5- com parafina na estaca toda e mantidas a temperatura ambiente e T6- testemunha.

TABELA 3 – Valores médios de massa fresca antes do tratamento, massa após o tratamento e massa fresca e massa seca ao final do experimento, de estacas de *Acalypha wilkesiana*. Ilha Solteira, 2005.

Trat.	Massa da estaca (g)	Massa após tratamento (g)	Massa fresca de estaca (g)	Massa seca de estaca (g)
1	31,32	31,108	34,0220 <b>A</b>	12,7420 <b>A</b>
2	28,52	26,95	26,7080 <b>BCD</b>	11,3900 <b>A</b>
3	27,622	26,92	30,4740 <b>ABC</b>	11,3660 <b>A</b>
4	27,442	23,13	26,2880 <b>CD</b>	11,3220 <b>A</b>
5	30,557	27,73	24,9000 <b>D</b>	12,6300 <b>A</b>
6	29,26	-	31,7560 <b>AB</b>	11,2120 <b>A</b>
C.V.%	-	-	9,01	13,01

T1- sem parafina e mantidas em câmara fria, T2- com parafina nas extremidades e mantidas em câmara fria, T3- com parafina na estaca toda e mantidas em câmara fria, T4- com parafina nas extremidade e mantidas a temperatura ambiente, T5- com parafina na estaca toda e mantidas a temperatura ambiente e T6- testemunha.

O tratamento T1 mostrou-se superior aos demais tratamentos com relação a massa fresca de brotos, raízes e estacas, massa seca de brotos e raízes e porcentagem de estacas enraizadas e com brotos, sendo que não houve diferença significativa entre o tratamento T1 e o tratamento T6 (testemunha).

O tratamento T3 teve resultados inferiores aos de T1, porem superior aos de T2, T4 e T5, que tiveram enraizamento inferior a 66,66%.

Devido às características químicas do hexano pode-se inferir que este composto não interferiu no material biológico, portanto as alterações quanto ao enraizamento podem ter sofrido influencias pela temperatura do tratamento ou impedimento de trocas gasosas no período em que as estacas foram tratadas com parafina.

A testemunha teve resultados superiores em quase todos os parâmetros, provando que os melhores resultados são alcançados quando se planta as estacas imediatamente após a obtenção das mesmas.

O melhor tratamento, portanto, foi T6, mas se necessitando de armazenamento e transporte, os tratamentos T1 e T3 apresentam bons resultados. recomenda-se que o transporte e o armazenamento de estacas seja realizado a baixa temperatura.

Novos estudos devem ser realizados, utilizando outros materiais para os tratamentos, em substituição à parafina e hexano.

## CONCLUSÃO:

A utilização de parafina não é adequada para a conservação pós-colheita de estacas de *Acalifa wilkesiana*. Mull.Arg.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WENDLING, I.; DE PAIVA, H. N.; GONÇALVES, W. **Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2005. 223p.: il.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M., **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001. 3. ed. 1088p.

PALAVRAS – CHAVE: Pós-colheita, acalifa, estaquia.

## **Utilização de adubos de liberação lenta na produção de mudas de Cosmea.**

Letícia Lisbôa Oliveira<sup>1</sup>; Regina Maria Monteiro de Castilho<sup>1</sup>; Elielda Mariane Lopes Fernandes<sup>1</sup>; Erica Rodrigues Moreira<sup>1</sup>; Flavia Aparecida de Carvalho Mariano<sup>1</sup>; Adriana de Souza Colombo<sup>1</sup>; Francielle Louise Bueno Melo de Carvalho<sup>1</sup>; Danila Comelis Bertolin<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP-FE) - Campus de Ilha Solteira – Passeio Monção s/n CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (17) 3743-1253 - Agronomia - Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia, e-mail: [leticiascarafici@gmail.com](mailto:leticiascarafici@gmail.com).

A produção de plantas ornamentais com fins econômicos, corresponde a uma atividade empresarial que, como outra qualquer, deve produzir lucros e rendimentos suficientes para a remuneração de seus proprietários e de todos que nela trabalharem. A floricultura, além de seu indiscutível papel econômico, exerce importantes funções sociais, culturais e ambientais. Pertencentes à família Asteraceae, o Crisântemo (*Chrysanthemum frutescens*) e a Cosmea (*Cosmos bipinnatus* Cav.) foram as espécies avaliadas para teste de propagação. O Crisântemo de tradição de cultivo milenar nos países asiáticos. Atualmente é a principal flor de corte do mercado brasileiro devido a sua enorme variação de cores e formas, à alta durabilidade pós-colheita e à facilidade de cultivo. Cresce em dias longos e floresce em dias curtos. A Cosmea foi introduzida a Europa no fim século XVIII e foi popular por muito tempo, mas hoje é rara. Esta espécie é anual sendo que as variedades cultivadas aparecem nas cores rosa, roxo e branco. O experimento foi realizado na Casa de Vegetação climatizada, (com Pad & Fan e temperatura ambiente de 25°C) da Faculdade de Engenharia UNESP, Campus de Ilha Solteira, no período de 19 de março a 13 de abril de 2007. As sementes, foram semeadas em bandejas de isopor de 128 células, para as sementes de Crisântemo as bandejas foram preenchidas com substrato apenas não tendo outro tratamento e para a Cosmea, as bandejas foram preenchidas com substrato mais Basacote (3M - 16+8+12(+2+5)), também não tendo outro tratamento. A avaliação da germinação foi realizada 24 dias decorrentes da semeadura. O Crisântemo obteve 83,59% de germinação, e a Cosmea 67,96%, porém a Cosmea com Basacote obteve para as variáveis altura com raiz 14,46cm e sem raiz 10,63cm; diâmetro 1,05mm; massa seca 0,22g e massa fresca 2,83g e o Crisântemo altura com raiz 10,46cm e sem raiz 6,11cm; diâmetro 0,70mm; massa seca 0,16g e massa fresca 1,95g obtendo valores menores em comparação ao Cosmea onde foi adicionado ao substrato adubo de liberação lenta (Basacote). Assim para produção de mudas a adição de adubo de liberação lenta resulta em mudas mais vistosas.

### **PALAVRAS CHAVES**

*Chrysanthemum frutescens*; *Cosmos bipinnatus* Cav.; liberação lenta.

## Composição do substrato no enraizamento de estacas de brinco-de-princesa

Lima, Daniela Macedo de<sup>1</sup>; Ferronato, Marlene de Lurdes<sup>1,6</sup>; Alcântara, Giovana Bomfim de<sup>1</sup>; Fogaça, Luciana Alves<sup>1</sup>; Santos, Ellen Cristina<sup>2</sup>; Quoirin, Marguerite<sup>3</sup>; Lima Neto, Vismar da Costa<sup>4</sup>; Biasi, Luiz Antonio<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal (UFPR), Setor de Ciências Agrárias, Caixa Postal 19061, CEP 80035-050, Curitiba, Paraná, fone (41) 3350-5601, e-mail: lufogaça@pop.com.br; <sup>2</sup>Discente do Curso de Engenharia Agrônômica (UFPR), Setor de Ciências Agrárias, Caixa Postal 19061, CEP 80035-050, Curitiba, Paraná; <sup>3</sup>Professora da Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba, Paraná, fone (41) 3361-1790, e-mail: mquoirin@ufpr.br;; <sup>4</sup>Professor da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Caixa Postal 19061, CEP 80035-050, Curitiba, Paraná, fone (41) 3350-5607, e-mail: depfito@ufpr.br; <sup>5</sup>Professor da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Caixa Postal 19061, CEP 80035-050, Curitiba, Paraná, fone (41) 3350-5682, e-mail: biasi@ufpr.br; <sup>6</sup>Professora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Via do Conhecimento, Km 1, CEP 85503-390, Pato Branco, Paraná, fone (46) 3220-2511, e-mail: marlene.ferronato@gmail.com.

Pertencente à família Onagraceae, o brinco-de-princesa (*Fuchsia regia*) é uma espécie nativa do Brasil, cultivada como ornamental nas regiões Sul e Sudeste do país. Este trabalho teve por objetivo avaliar o enraizamento de estacas de brinco-de-princesa em substratos formados por diferentes misturas de solo e casca de arroz. As estacas foram confeccionadas de ramos semilenhosos de planta matriz oriunda do Bairro Campo Comprido, Curitiba–PR, com 7cm de comprimento, corte em bisel na base e reto acima da última gema axilar, mantendo-se um par de folhas. A estaquia foi realizada em tubetes com 53cm<sup>3</sup> de capacidade contendo como substrato solo e casca de arroz carbonizada em diferentes proporções: 100% solo, 75% solo e 25% CAC, 50% solo e 50% CAC, 25% solo e 75% CAC, e 100% CAC. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, UFPR, com irrigação intermitente. Aos 25 dias após a instalação do experimento foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas, comprimento e número de raízes formadas por estaca, massa fresca e seca das raízes (g), porcentagem de estacas com brotos e de folhas retidas e número de brotos formados por estaca. A análise estatística revelou que não houve diferença significativa para a porcentagem de enraizamento entre os substratos e os percentuais de mistura testados, sendo a média de enraizamento de 98,75%. Para a variável número médio de raízes o substrato 100% solo foi superior aos demais tratamentos. Conclui-se que o substrato não afeta a porcentagem de enraizamento da espécie brinco-de-princesa, a qual pode ser propagada tanto em solo quanto em casca de arroz carbonizada e suas misturas.

### PALAVRAS-CHAVE

*Fuchsia regia*, estaquia, solo, casca de arroz carbonizada



## Tipos de estaca na indução de enraizamento e brotação de *Dendrobium\_nobile* com uso de AIB.

Vilela, Ximena M. Souza<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>1</sup>; Araújo, Aparecida Gomes<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>1</sup>.

\* Apoio Financeiro FAPEMIG

<sup>1</sup> Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, 37.200-000. email: ximenavilela@yahoo.com.br, mpasqual@ufla.br.

### INTRODUÇÃO

Conhecida como “Olho de Boneca”, a espécie *Dendrobium nobile* da família das Orchidaceae, é uma das orquídeas mais cultivadas e colecionadas, destacando-se em nível mundial entre as espécies ornamentais pela facilidade de cultivo, custo relativamente baixo, quando comparado à outras espécies da família e sobretudo pela beleza das flores. Além do largo cultivo, esta espécie atualmente vem sendo muito utilizada para hibridização de orquídeas, existindo cerca de 77 híbridos registrados (Baker & Baker, 1996). *D. nobile* caracteriza-se também por ser uma planta na qual seu cultivo é bastante estudado, conhecido e simples, além disto esta espécie e seus híbridos são extremamente fortes, sobrevivendo a variações de temperatura.

A produção comercial de mudas desta orquídea geralmente é feita por clonagem ou pela separação dos pseudobulbos das touceiras originadas de uma planta matriz, com posterior brotação e enraizamento para formação de mudas, tal produção, também chamada de estaquia, diminui gastos com uso de técnicas de laboratório tornando-a mais viável para pequenos produtores.

A imersão de estacas em auxina promove aumento na relação auxina/citocinina no interior da planta, acarretando uma série de transformações fisiológicas e morfológicas ao desenvolvimento. Dentre as auxinas, as mais conhecidas e utilizadas são o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftaleno acético (ANA) (Paiva & Gomes, 1995).

Com objetivo de otimizar a produção de mudas de *D. nobile*, estudou-se concentrações de AIB e diferentes posições da estaca na haste do caule.

### MATERIAL E MÉTODOS

As estacas foram retiradas de touceiras cultivadas por colecionador particular em tronco de árvore sem nenhum tratamento prévio. As folhas foram cortadas e as estacas imersas em recipiente contendo água por 18 horas, com objetivo de facilitar a remoção das películas esbranquiçadas. Após este período cada estaca foi lavada individualmente em água corrente retirando-se as películas, evitando-se assim a possibilidade de fungos e bactérias se alojarem debaixo dela. Em seguida fez-se a assepsia das mesmas com hipoclorito de sódio comercial (água sanitária 30%) durante 20 minutos. Posteriormente, as estacas foram divididas em 3 partes: basal, mediana e apical contendo número de gemas variando entre 3 e 5 em todas as partes, de acordo com o número total de gemas da estaca e armazenadas em bandejas plásticas para secagem da solução de hipoclorito.

No dia seguinte, foi realizada a montagem do experimento com diferentes posições de estacas (basal, mediana ou apical) e concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 1500 mg L<sup>-1</sup>). O tempo de imersão das estacas nas concentrações de AIB foi de 3 minutos. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4 (partes da estaca e concentrações de AIB), totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições de cinco estacas cada. As cinco estacas de cada parcela eram de partes iguais e apesar de todas as estacas não possuírem números iguais de gemas as parcelas foram montadas homogêneas com dezenove gemas.

As repetições foram colocadas em bandejas plásticas sobre substrato casca de arroz carbonizada. As bandejas foram perfuradas nos cantos e no centro para que ocorresse drenagem da água. O experimento foi mantido em casa de vegetação localizada no Departamento de Agricultura da UFLA com irrigação por microaspersão regulada pela umidade do ar.

Três dias após a montagem do experimento foi feita uma pulverização com fungicida Cercobim ( $1\text{g L}^{-1}$ ). Decorridos quatro meses da instalação, avaliou-se a porcentagem (%) e comprimento (cm) de brotos e número e comprimento (cm) de raízes. Para análise dos resultados quantitativos e qualitativos foi utilizado o software Sisvar (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A variável resposta porcentagem de brotos foi influenciada pelos tipos de estaca (Figura 1). A parte mediana apresentou as maiores médias, considerada diferente estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade das partes basal e apical, sendo estas últimas consideradas iguais. No entanto, diferentes concentrações de AIB não mostraram diferenças significativa pela análise de variância, contudo as estacas imersas em  $1000\text{ mg L}^{-1}$  de AIB obtiveram as maiores médias com uma diferença de apenas 3.4% em relação a testemunha.

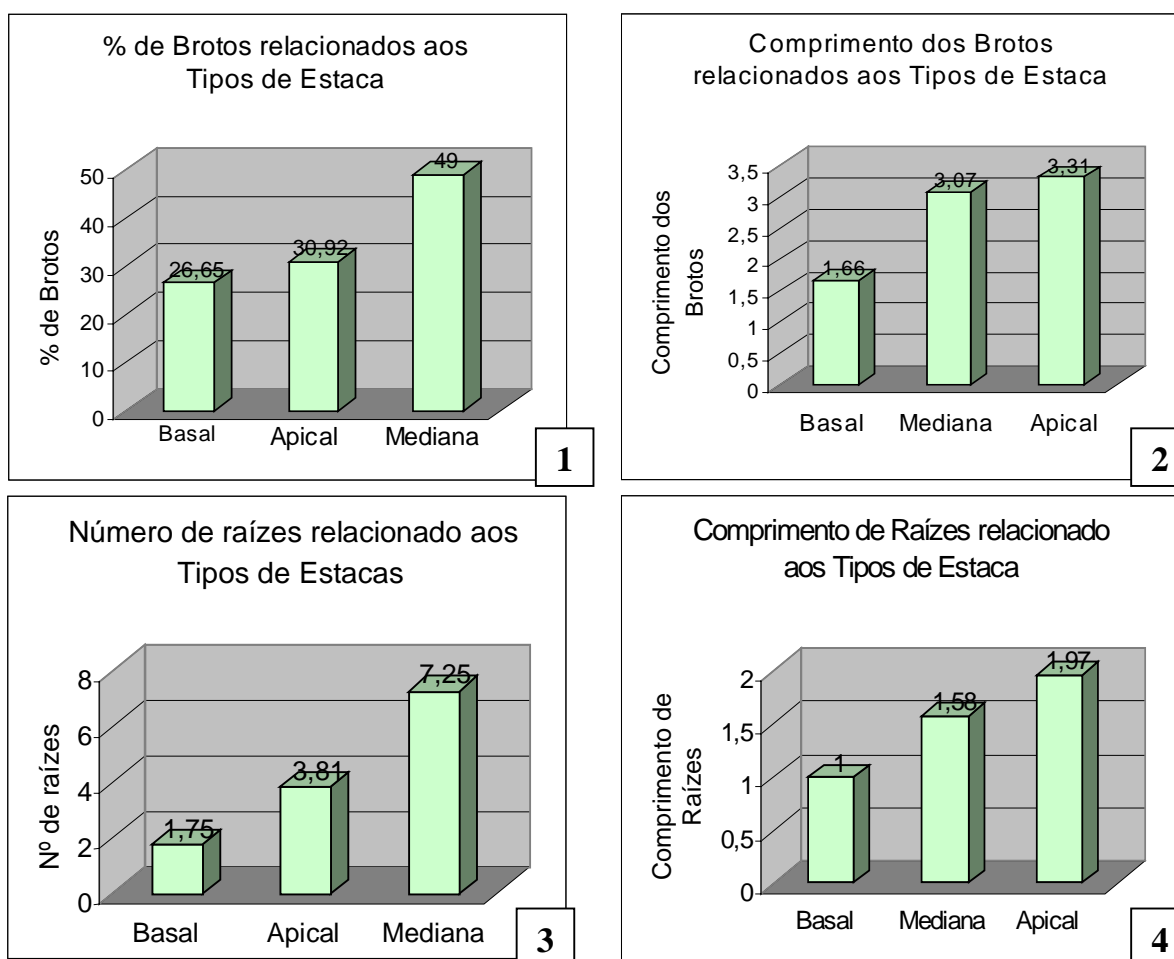
Existe uma relação entre a baixa porcentagem de brotos e menor número de raízes na parte basal, já que sem raízes para absorver, os tecidos recebem menos água e nutrientes (Botelho, 2005).

Com relação a variável número de raízes a interação entre os fatores tipos de estaca e concentrações de AIB foi significativa, porém a diferença só aparece quando se desdobra o fator tipo de estaca em relação às concentrações de AIB, o que não implica interesse prático, sendo assim é melhor desconsiderar a interação e analisar novamente a análise estatística. Constata-se, então, que o fator posição da estaca também foi significativo individualmente. Pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, todas as partes diferiram entre si (Figura 2). A parte mediana apresentou melhores médias, seguida da parte apical e finalmente com as menores médias, a parte basal. Em contrapartida, as diferentes concentrações de AIB não diferiram estatisticamente, no entanto, as maiores médias foram observadas com a concentração de  $1000\text{ mg L}^{-1}$  distanciando da testemunha, em média, menos de uma raiz por repetição. Resultados semelhantes foram registrados por Botelho (2005) em estacas de porta-enxerto de videira, onde o regulador vegetal AIB, na dose de  $1.000\text{ mg L}^{-1}$ , aumentou o número de raízes em estacas herbáceas enraizadas.

O comprimento dos brotos foi influenciado pelo tipo de estaca utilizada e as partes mediana e apical demonstraram as maiores médias consideradas homogêneas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade e consideradas diferentes da parte basal (Figura 3). Novamente as concentrações de AIB não diferiram estatisticamente, sendo que a testemunha, propiciou os maiores brotos, com valores médios muito próximos dos demais tratamentos estudados, com diferença de apenas 0,4cm.

Para o comprimento de raízes, não houve interação significativa, sendo essa variável afetada apenas pelo fator posição de estacas. Melhores resultados foram verificados quando se utilizou estacas das partes mediana e apical consideradas iguais e diferentes da parte basal, a qual apresentou médias inferiores (Figura 4). E outra vez, as concentrações de AIB não diferiram estatisticamente, tendo a testemunha se destacado, seguida pela concentração de  $1000\text{ mg L}^{-1}$ , apresentando uma diferença muito pequena de 0,1 cm, em média, por broto.

Apesar de estatisticamente as diferentes concentrações de AIB não serem significativas para nenhuma variável resposta, a concentração de  $1000\text{ mg L}^{-1}$  destacou-se com as maiores médias, exceto para comprimento de raízes. Já a concentração de  $1500\text{ mg L}^{-1}$  proporcionou médias menores que as concentrações de 500 e  $1000\text{ mg L}^{-1}$ . Isso provavelmente pode ter ocorrido pelo fato de que as estacas herbáceas tratadas com AIB, apresentavam um nível endógeno de auxina insuficiente e foram beneficiadas pela aplicação do regulador de crescimento. Segundo Zuffellato-Ribas & Rodrigues (2001), a auxina, dependendo da concentração, inibe ou estimula o crescimento e a diferenciação dos tecidos, existindo um nível ótimo para estas respostas fisiológicas, dependendo diretamente dos níveis endógenos dessas substâncias e o tipo de estaca. O que pode explicar o fato da concentração de  $1500\text{ mg L}^{-1}$  apresentarem médias baixas por ultrapassar o nível ótimo.



**Figura: 1- Porcentagem de brotos, 2-Comprimento de brotos, 3- Número de raízes e 4- Comprimentos de raízes, em função de diferentes posições de estacas.**

A parte mediana da estaca apresentou a melhor média para as variáveis resposta % de brotos e número de raízes. Já para comprimentos de brotos e de raízes obteve resultados semelhantes estatisticamente aos da parte apical e numericamente inferior a mesma. A parte basal proporcionou sempre os piores resultados. Segundo Ono & Rodrigues (1996), tal fato pode ser atribuído ao maior grau de lignificação das estacas da base que parece estar correlacionado diretamente à presença de enzimas, tais como, as peroxidases, que estão envolvidas tanto na síntese de lignina como na degradação de auxina.

A estação (coleta e montagem em maio e avaliação em setembro) em que foi conduzido o experimento pode ter influenciado negativamente o desenvolvimento de brotos e raízes das estacas. De acordo com Zuffellato-Ribas & Rodrigues (2001), em estacas herbáceas retiradas durante o verão, os ramos estão em pleno crescimento e apresentam maiores concentrações de auxinas em relação àquelas que são retiradas no outono e inverno. E isso pode indicar que se o experimento fosse conduzido numa estação mais quente os resultados poderiam ser melhores, apresentando médias superiores, como um todo.

Alguns explantes que pertenciam à parte basal das estacas, amarelaram e morreram, não chegando a desenvolver raízes ou brotos, tal fato ocorreu também com ramos apicais de aceroleira com 10 cm, quando avaliou-se comprimentos de 10, 15 e 20 cm (Lima, 2006), sugerindo que a morte possa ter ocorrido devido à baixa disponibilidade de reservas nutritivas necessárias para sustentar seu desenvolvimento, já que a estaca de *Dendrobium* é mais fina na base (ao contrário da aceroleira), menos carnoso e com tecido

mais lignificado. Apesar da concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> de AIB ter apresentado melhores respostas, a sua utilização não é recomendada, já que a testemunha apresentou resultados iguais.

## CONCLUSÕES

Estacas medianas, sem imersão em AIB, proporcionam resultados mais satisfatórios na obtenção de mudas de *Dendrobium nobile*.

## REFERÊNCIAS

BAKER, C.O.; BAKER, M.L. **Orchid Species Culture: *Dendrobium***. Hardcover, 1996. 850p.

BOTELHO, R. V.; MAIA, A.J.; PIRES, E.J.P.; TERRA, M.M.; SCHUCK, E. Effects of plant regulators on the vegetative propagation of vine rootstock '43-43' (*Vitis vinifera* x *V. rotundifolia*). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p.6-8, 2005.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos, 2000, **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

LIMA, R. de L. S. de; SIQUEIRA, D. L. de; WEBER, O. B.; CAZETTA, J.O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira Fruticultura**. Jaboticabal, v.28, n.1, p.83-86, 2006.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83p.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 40 p. (Boletim, 322).

ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RODRIGUES, J.D. **Estaquia**: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba: UFPR, 2001. 39p.

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae, auxina, estaquia, propagação vegetativa.

**Avaliação de diferentes tipos de substratos no enraizamento de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) cv. White Polaris**

Eunice Yasuko Fukuju<sup>1</sup>; Bruna Mengai<sup>1</sup>; Denise Laschi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Produção Vegetal-horticultura/FCA-Unesp; CX Postal 237; CEP 18.603-970; Botucatu; SP; Brasil; Email: eyfukuju@fca.unesp.br

O presente trabalho foi conduzido em laboratório e câmara de nebulização do Departamento de Produção Vegetal/Horticultura da FCA/UNESP, Campus de Botucatu-SP, com o objetivo de verificar o enraizamento de estacas de crisântemo em diferentes substratos. Foram testados quatro substratos, com cinco repetições de oito estacas cada, totalizando 160 parcelas experimentais. Foram utilizadas estacas apicais de 5,0cm de comprimento. Para os testes foram utilizadas bandejas de isopor de 72 células, que foram preenchidas com os seguintes substratos: casca de arroz carbonizado, pó de serra de pinus, fibra de coco e areia. Após o preenchimento das bandejas, as estacas foram plantadas e colocadas em câmara de nebulização, com sistema automático de molhamento, que permaneceu ligado por 24 horas durante todo o experimento. Os microaspersores foram acionados a cada de 5 minutos, e ficavam em operação por 30 segundos.

Após dezoito dias, as bandejas foram levadas ao laboratório e as estacas foram lavadas e avaliadas através dos seguintes parâmetros: comprimento da maior raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm), número de folhas, peso da matéria seca da raiz (g) e peso da matéria seca da parte aérea (g). O delineamento estatístico empregado foi o de blocos ao acaso, comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados obtidos permitiram concluir que: aos dezoito dias foi observado 100% de enraizamento; a média de número de folhas foi maior no substrato fibra de coco (7,66); as médias de comprimento da maior raiz foram significativamente maiores nos substratos serragem e fibra de coco (9,26 e 9,70); as médias de comprimento da parte aérea e peso seco de raízes foram maiores em estacas enraizadas em areia (12,18 e 0,85); as médias de peso seco da parte aérea não diferiram significativamente entre os tratamentos.

Palavras-chaves: crisântemo, estaquia, substratos.

## **Germinação de *Calea hispida* (DC.) Baker – uma espécie nativa com potencial ornamental.**

Luciana Leal<sup>1</sup>, Daniela Biondi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Engenheira Florestal, MSc., email: luciana\_paisagem@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Engenheira Florestal, Dra., Bolsista Produtividade em Pesquisa – CNPq; Prof. Depto. Ciências Florestais – UFPR; Campus III, Av. Lothário Meissner, 632, Curitiba – PR, fone: (41) 3360-4310, email: dbiondi@ufpr.br

*Calea hispida* (DC.) Baker (Asteraceae) é uma planta sub-arbustiva, nativa do Brasil, de ocorrência no ecossistema de Campos (Estepe Gramíneo-lenhosa). Possui caule muito ramificado, densamente piloso e folhoso no ápice. Suas flores são pequenas, reunidas em capítulos, amareladas e seus frutos são aquênios pilosos. O florescimento ocorre nos meses de novembro a abril. *Calea hispida* apresenta grande potencial ornamental pela beleza de suas flores, mas ainda não é utilizada no paisagismo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a propagação desta espécie por sementes, visando obter informações básicas para o seu cultivo e futuro uso como planta ornamental. As sementes com tamanho de 2 a 3 mm foram coletadas (maio/2006) de plantas matrizes em remanescente de Campos, na cidade de Curitiba/PR. O experimento foi montado após sete dias da coleta das sementes, sendo testados dois tratamentos pré-germinativos (testemunha e imersão em água a temperatura ambiente por 24 horas), com cinco repetições de 50 sementes e conduzido em sementeira, com substrato comercial Rendmax<sup>®</sup> Floreiras. A germinação teve início após 10 dias da semeadura. A porcentagem de germinação foi de 13,20% no tratamento testemunha e 12,80% no tratamento imersão em água a temperatura ambiente, não diferindo estatisticamente quando comparados pelo teste t a 5% de significância. Pela baixa porcentagem de germinação obtida, a espécie deve apresentar dormência que não pode ser superada pelo tratamento pré-germinativo testado. Recomendam-se pesquisas para avaliação de outros fatores que possam influenciar a germinação desta espécie, como o efeito das condições ambientais (temperatura, luz), tamanho e estágio de maturação das sementes, além de testes com outros tratamentos pré-germinativos.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Calea hispida* (DC.) Baker, Asteraceae, propagação por sementes, dormência de sementes.

## O uso de *Aspilia setosa* Griseb. no paisagismo e a sua propagação.

Daniela Biondi<sup>1</sup>, Luciana Leal<sup>2</sup>, Ivar Wendling<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Engenheira Florestal, Dra., Bolsista Produtividade em Pesquisa – CNPq; Prof. Depto. Ciências Florestais – UFPR; Campus III, Av. Lothário Meissner, 632, Curitiba/PR, fone: (41) 3360-4310, email: dbiondi@ufpr.br

<sup>2</sup>Engenheira Florestal, MSc., email: luciana\_paisagem@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Engenheiro Florestal, Dr. Pesquisador EMBRAPA/CNPF, Colombo/PR, email: ivar@cnpf.embrapa.br

### INTRODUÇÃO

*Aspilia setosa* Griseb. (Asteraceae) é uma espécie nativa comum no campo seco do sul do Brasil. Possui porte herbáceo com 40 cm de altura, com folhas simples de forma elíptica, margem serrada, inflorescências terminais em capítulos grandes solitários e vistosos, possuindo flores de cor amarela. É conhecida pelos nomes de mal-me-quer e margarida-do-campo (Takeda & Farago, 2001) e no estado do Paraná é considerada a flor símbolo dos Campos Gerais (UEPG, 2004).

No paisagismo esta espécie só poderá ser popularizada a partir de informações a respeito de seu uso e reprodução. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial ornamental de *Aspilia setosa* e os seus meios de propagação (sexuada e assexuada).

### METODOLOGIA

O potencial ornamental desta espécie foi analisado através de suas características morfológicas e o impacto visual proporcionado.

O material para a realização dos experimentos de propagação foi coletado de plantas matrizes em remanescente da vegetação de Campos (Estepe Gramíneo-lenhosa) na cidade de Curitiba/PR. A espécie foi herborizada e identificada no Herbário do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná/UFPR.

Para o experimento de propagação assexuada (vegetativa) via estaquia foram coletadas estacas caulinares herbáceas em novembro de 2006. O material foi coletado na data da instalação do experimento, sendo mantido hidratado, em recipientes com água, até o preparo das estacas. As estacas foram confeccionadas com aproximadamente 10,0 cm de comprimento e 0,3 cm de diâmetro, com duas folhas na porção apical cortadas pela metade, base cortada em bisel e ápice em corte reto (Figura 1). As estacas foram postas a enraizar em substrato vermiculita de granulometria média, em bandejas de isopor.



Figura 1 – Estaca herbácea de *Aspilia setosa* Griseb.

Foram testados três ambientes: T1 (estufa de madeira) – com cobertura de plástico de 150 micras (com as laterais abertas) e sombrite de 60%, a irrigação é por micro aspersão, com vazão de 67 litros por hora, sendo as aspersões feitas a cada 10 minutos durante 10 segundos; T2 (casa de sombra) - com sombrite de 60% ,a irrigação é feita por aspersão, com 144 litros por hora de vazão, sendo as aspersões programadas para 3 vezes por dia, cada irrigação por um período de 10 minutos (os tratamentos T1 e T2 foram instalados na

Embrapa Florestas, no município de Colombo/PR) e T3 – em viveiro aberto (lateralmente) com sombrite malha 50%, irrigação manual, 3 vezes por semana (na Universidade Federal do Paraná, em Curitiba). O experimento foi montado num delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (ambientes), seis repetições, contendo 20 estacas por parcela.

Após 74 dias de instalação do experimento, foram avaliadas as estacas enraizadas. Nas estacas enraizadas avaliou-se o número de raízes formadas por estaca e comprimento das três maiores raízes formadas por estaca.

No experimento de propagação sexuada foram utilizadas sementes com tamanho médio de 0,7 cm de comprimento (Figura 2), após oito dias da coleta, em dezembro de 2006. Foram aplicados os seguintes tratamentos pré-germinativos: T0 = testemunha; T1 = imersão em água a temperatura ambiente por 24 horas; T2 = imersão em água a temperatura ambiente por 48 horas; T3 = imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 1 hora, T4 = imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 24 horas e T5 = imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 48 horas. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e três repetições de 50 sementes. O experimento foi montado em sementeiras, com substrato comercial Plantmax®, na Universidade Federal do Paraná. A germinação foi considerada, segundo o critério agrônomo ou tecnológico, como a emergência da plântula no substrato (Borghetti & Ferreira, 2004). As variáveis analisadas foram a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG). A contagem do número de sementes germinadas foi encerrada no momento em que esta se manteve constante.



Figura 2 – Fruto aquênio e sementes de *Aspilia setosa* Griseb.

Os resultados de ambos os experimentos foram submetidos à análise de variância. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. As médias foram testadas por meio do teste F e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Aspilia setosa* apresenta um grande potencial ornamental tanto pela beleza das flores (cor amarelo brilhante) como pelo longo período de floração (quase o ano inteiro) (Leal *et al.*, 2004). No paisagismo, esta espécie pode ser utilizada como planta de forração em canteiros homogêneos a pleno sol (Figura 3).



Figura 3 – *Aspilia setosa* Griseb. em detalhe da flor e em canteiro homogêneo Conforme Biondi *et al.* (2007), por ser bastante rústica, em relação às exigências de



rega e fertilidade do solo, pode ser plantada em áreas públicas por não exigir grandes cuidados em manutenção como também em áreas degradadas.

Observa-se na Tabela 1 que as estacas submetidas ao tratamento T3 não sobreviveram, demonstrando ser um ambiente não adequado para esta espécie. Foi observado também que durante a montagem do experimento, as estacas caulinares da *Aspilia setosa* já apresentavam um murchamento das folhas, provavelmente devido a rápida perda de água. Segundo Browse (1998), a estaca herbácea é muito sensível à perda de água e constitui o tipo de estaca mais difícil de manter viva. As suas folhas ainda imaturas não são suficientes para que se tenham já desenvolvido mecanismos próprios para a redução das perdas de água. Mesmo uma perda de água relativamente reduzida atrasa o desenvolvimento radicular. Quando uma estaca emurchece, cessa o crescimento das raízes. No entanto, entre todos os tipos de caule, o herbáceo possui a maior capacidade de enraizamento.

Tabela 1 - Sobrevivência de estacas de *Aspilia setosa* em diferentes condições de ambiente, Curitiba - PR (2007)

TRATAMENTOS	S.E. (%)	N.R.	C.R. (cm)
T1	80,62 a	0,00 a	0,00 a
T2	72,28 a	0,33 a	0,30 a
T3	0,00 b	0,00 a	0,00 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

NOTA: S.E. = sobrevivência de estacas, N.R. = número de raízes formadas por estaca, CR. = comprimento das três maiores raízes formadas por estaca.

Como a espécie *Aspilia setosa* mostra-se de difícil enraizamento, recomenda-se testes com o uso de fitorreguladores. Segundo Wendling, Paiva & Gonçalves (2005), o tratamento com fitorreguladores é um método eficiente para a obtenção de raízes em propágulos de plantas, principalmente àquelas de difícil enraizamento aumentando a velocidade de formação, o número e a qualidade das raízes formadas, bem como a uniformidade de enraizamento.

No experimento de propagação assexuada, a germinação teve início após 33 dias da semeadura. A porcentagem de germinação encontrada foi baixa, variando de 26,00% (T2 - tratamento pré-germinativo imersão em água a temperatura ambiente por 48 horas) a 36,66% (T4 - imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 24 horas), porém sem diferir estatisticamente (Tabela 2). Apresentou também uma lenta germinação entre os tratamentos testados, com a variável índice de velocidade de germinação variando de 0,21 (T2 - imersão em água a temperatura ambiente por 48 horas) a 0,31 (T1 - imersão em água a temperatura ambiente por 24 horas), não diferindo estatisticamente, durante os 90 dias de acompanhamento do experimento.

Tabela 2 – Porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *Aspilia setosa*, Curitiba (2007)

VARIAVEIS	T0	T1	T2	T3	T4	T5
%G	32,00% a	33,34% a	26,00% a	33,34% a	36,66% a	33,00% a
IVG	0,27 a	0,31 a	0,21 a	0,26 a	0,30 a	0,23 a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

Pela baixa porcentagem de germinação obtida, a espécie deve apresentar dormência que não pode ser superada pelos tratamentos pré-germinativos testados. Wendling, Paiva & Gonçalves (2005) afirmam que os baixos índices de germinação podem ser devido a aplicação de métodos de superação de dormência não-adequados para a espécie ou quando as sementes são coletadas ainda verdes ou na fase final de produção da planta matriz (restos de sementes com baixo potencial de germinação). Grolli (2000) relaciona o processo germinativo com os fatores ambientais, tais como: luz, temperatura e umidade. Ferreira *et al.* (2001), em estudo com treze espécies nativas de Asteraceae comuns nos ambientes abertos da região sul do Brasil verificaram que a germinação de aquênios (sementes) variou com a temperatura e o regime de luz.

Outro fator que pode ter influenciado é a época de coleta das sementes e a sua maturidade fisiológica. Segundo Popinigis (1985), a maturidade fisiológica é atingida quando a semente apresenta máximo conteúdo de matéria seca e acentuada redução no teor de água, acompanhada por alterações visíveis no aspecto externo de frutos e sementes. Segundo Silveira, Villela & Tillmann (2002), a maturação fisiológica varia em função da espécie, cultivar e das condições de ambiente, sendo necessário estabelecer parâmetros para a correta definição da época de colheita, denominados índices de maturação. O acompanhamento do desenvolvimento das sementes é feito com base nas modificações que ocorrem em algumas características físicas e fisiológicas, como tamanho, teor de água, conteúdo de matéria seca acumulada, germinação e vigor.

## CONCLUSÕES

A *Aspilia setosa* é uma espécie altamente ornamental devido principalmente ao impacto visual das flores de cor amarela brilhante e duração do período de floração.

A propagação desta espécie tanto por estaquia caulinar como por sementes, mostrou-se inadequada com os tratamentos testados. Recomenda-se a repetição desta pesquisa com a aplicação de fitoreguladores em estacas caulinares, coleta de sementes em diferentes estágios de maturação e testes de germinação em diferentes condições ambientais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIONDI, D, LEAL, L., BATISTA, A. C., BALENSIEFER, M. Indicación de especies nativas para la recuperación de áreas degradadas. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA, 2., 2007. **Anais...** Santa Clara, Cuba: Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, 2007. p.1-8.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.209–222.

BROWSE, P. M. **A propagação das plantas**. 4.ed. Mira-Sintra: Europa-América, 1998. 229p.

GROLLI, P. R. Propagação de plantas ornamentais. In: PETRY, C. **Plantas ornamentais: aspectos para a produção**. Passo Fundo: EDIUPF, 1999. 155p.

FERREIRA, A. G., CASSOL, B., ROSA, S. G. T.; SILVEIRA, T. S.; STIVAL, A. L.; SIVA, A. A. Germinação de sementes de Asteraceae nativas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.15, n.2, p.231-242, 2001.

LEAL, L.; BIONDI, D.; GUIMARÃES, O.; SANTOS JUNIOR, J. B. Estudos preliminares de espécies nativas para o uso no paisagismo. In: EVINCI, 12., 2004, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2004. p.240.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

SILVEIRA, M. A. M.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. A. Maturação fisiológica de sementes de calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.31-37, 2002.

TAKEDA, I. J. M, FARAGO, P. V. **Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha: guia de campo**. v.1. Curitiba: I. J. M. Takeda, 2001. p.84-85.

WENDLING, I.; PAIVA, H. N. GONÇALVES, W. **Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. 223p.

UEPG. **Vegetação**. Disponível em <<http://www.uepg.br/departamentos/debio/Principal.htm>>  
Acesso em: 15 setembro 2004.

PALAVRAS-CHAVE

*Aspilia setosa* Griseb., espécies ornamentais, estaquia caular, germinação.

## Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira cariota (*Caryota mitis* Lour.).

Rosa, Thiago Paschoal<sup>1</sup>; Sturião, Walas Permanhane<sup>2</sup>; Landgraf, Paulo Roberto Corrêa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail:[thiagorosa@estadao.com.br](mailto:thiagorosa@estadao.com.br); <sup>2</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail:[wsturio@hotmail.com](mailto:wsturio@hotmail.com); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br).

A palmeira Cariota é uma espécie originária da Índia e Malásia, cultivada com frequência em parques e jardins, além de muito elegante produz uma grande quantidade de frutos. Essa espécie possui troncos múltiplos, anelados, formando touceira rala ou densa, variando de 6 a 12 m de altura e com cerca de 15 cm de diâmetro, com fibra na base do pecíolo. Seus frutos são globosos, de início verdes, depois avermelhados e finalmente pretos. A pesquisa teve como objetivo avaliar a influência do GA3 na embebição de sementes de palmeira cariota (*Caryota mitis* Lour.) na avaliação da quebra de dormência dentro da semente. Os frutos foram colhidos quando se apresentavam com os pericarpos de coloração escura, sendo realizadas caracterizações físicas e morfológicas dos frutos e sementes. O teor de água inicial foi de 44%, realizado pelo método da estufa a 105°C. A curva de embebição foi determinada através da pesagem inicial de quatro repetições de 25 sementes. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em solução de GA3 nas concentrações de 0; 500; 1000; 1500 e 2000 ppm, e colocadas na câmara de germinação tipo BOD a 25°C, sendo pesadas em intervalos regulares. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocadas na solução. A curva de embebição foi traçada pelos valores percentuais da umidade ao longo de 480 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições. A curva de embebição demonstrou que a entrada de água nas sementes foi muito lenta, indicando impermeabilidade do tegumento.

### PALAVRAS-CHAVES

*Caryota mitis*; Palmae; palmeira cariota; sementes; GA3; embebição.

## Fatores associados à superação da dormência e indução da germinação de sementes de Lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller "Provence Blue").

Nunes, Eduardo da Costa<sup>1</sup>; Ciotta, Marlise Nara<sup>1</sup>; Zamparetti, Maiara Gonçalves<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadores da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina-Epagri/Estação Experimental de São Joaquim (EESJ), C.P. 81, CEP 88600-000, São Joaquim, SC, fone (49) 3233-0324, e-mail(s): [eduardon@epagri.rct-sc.br](mailto:eduardon@epagri.rct-sc.br); [marlise@epagri.rct-sc.br](mailto:marlise@epagri.rct-sc.br);

<sup>2</sup>Estudante do Curso de Agronomia da Universidade do Sul de Santa Catarina–UNISUL, e-mail: [maizampa@hotmail.com](mailto:maizampa@hotmail.com).

### INTRODUÇÃO

As diversas espécies de plantas conhecidas como lavandas e/ou alfazemas, pertencem à família Lamiaceae e destas, podemos destacar a *Lavandula angustifolia* Miller, como a mais difundida e conhecida entre nós. Esta espécie é originária de regiões do Mediterrâneo, crescendo nas colinas calcárias e áridas da costa marítima da Europa, em altitudes de até 1800 metros. Estas plantas se desenvolvem bem em climas caracteristicamente temperados com baixa umidade relativa do ar (Delgado et al. 2006). Pode ser cultivada em pleno sol, em jardins e hortas, com fins ornamentais, e também para fins industriais. Estas plantas, segundo Delgado et al. (2006), são importantes na Europa, por diversos aspectos, entre eles: por produzirem óleos essenciais, para a produção de mel e pelo seu apelo ornamental e uso nos jardins mediterrâneos. Esta cultura vem despertando interesse de pesquisadores e de produtores da região do Planalto Catarinense, mais especificamente da região de São Joaquim/SC. Esta região fica situada numa altitude predominante de 900 a 1400 metros e possui, muitas características típicas de regiões de clima temperado. Assim, pesquisadores da Epagri (Estação Experimental de São Joaquim/EESJ), iniciaram a partir de 2004, alguns trabalhos de pesquisa com diferentes variedades da espécie *L. angustifolia* entre elas a variedade "Provence Blue", espécie objeto deste estudo.

Os estudos, em relação aos métodos de propagação das plantas são fundamentais para viabilizar a sua exploração econômica. Sendo esta a primeira etapa na pesquisa de plantas com potencial de cultivo. Assim, em plantas que se reproduzem sexuadamente, o conhecimento da estrutura, do comportamento fisiológico da semente e dos fatores que determinam a sua germinação e conseqüentemente o crescimento inicial e desenvolvimento das plântulas, são essenciais para que se tenha um processo eficiente na produção de mudas de forma quantitativa e qualitativa, para instalação de campos de produção. Delgado et al. (2006), destacam que um problema relacionado à produção de lavandas, refere-se à dificuldade de germinação de suas sementes. O gênero *Lavandula* está dentro de um grupo de plantas ornamentais que possuem sementes que apresentam dormência fisiológica.

A dormência de sementes é uma condição comum para muitas espécies vegetais. Sendo que o tipo de dormência está associado às características evolutivas e de adaptação de cada espécie ao ambiente em que ecologicamente teve sua origem. A dormência torna-se um inconveniente, quando se pretende produzir mudas rapidamente e uniformes para fins comerciais. Assim, para estas espécies, é de fundamental importância prática que se busque os conhecimentos das causas e de formas de superação da dormência, para obter melhor germinação.

A germinação é a retomada do processo de crescimento e desenvolvimento do embrião. A não germinação, ou baixa germinação de sementes pode ser uma conseqüência de inúmeros fatores ambientais ou mesmo inerentes à própria semente, agindo isoladamente ou associados. Dentre os principais fatores ambientais que regulam a germinação, podemos citar a temperatura e a luz, além obviamente, de adequado suprimento de água e aeração. Estes fatores foram estudados para

inúmeras famílias e gêneros vegetais, tanto de espécies temperadas quanto tropicais. Nos trabalhos de: Kyereh et al. (1999), em espécies florestais tropicais em Gana; Maher et al. (2000), efeitos da luz e temperatura na germinação de *Lavandula stoechas*; Delgado et al. (2006), em *Lavandula luisieri* em Portugal; Stefanello et al. (2006), em *Foeniculum vulgare*; Lopes et al. (2005) em *Basella rubra*, Menezes et al. (2004), com *Salvia splendens* Sell.; Silveira et al. (2004), com *Marcetia taxifolia* Hil.; Filho et al. (2002), com *Operculina macrocarpa* L. e Aoyama et al. (1996) *Lavandula angustifolia* Miller, se constata que a influência e o grau de exigência destes fatores, é variada e diferente para cada espécie, e mesmo dentro das espécies. Com relação aos fatores inerentes às próprias sementes (endógenos), podemos destacar os relacionados ao controle hormonal do processo de germinação. Vários relatos de trabalhos demonstram a importância das giberelinas como fatores de promoção da germinação. Nestes também se constata que as respostas à aplicação de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), são diversificadas para diferentes espécies, como por exemplo nos trabalhos de Aoyama et al. (1996) com lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller e Bezerra et al. (2006) em macela (*Egletes viscosa* (L.) Less.).

Tendo em vista o exposto acima, testaram-se algumas formas de superar a dormência e conseqüentemente aumentar percentual de germinação de *Lavandula angustifolia* Mill. var. "Provence Blue".

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Estação Experimental da Epagri de São Joaquim – São Joaquim/SC. Foram utilizadas sementes de lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill. Var. "Provence blue"), variedade de origem francesa, produzidas pela Richters -The Herb Specialists (Otto Richter and sons Limited) de Ontário/Canadá. Utilizaram-se os seguintes tratamentos: T1– Embebição em água destilada por 12 horas; T2 - Embebição em água destilada por 24 horas; T3 – Imersão em GA<sub>3</sub> 100 ppm por 12 horas; T4 - Imersão em GA<sub>3</sub> 200 ppm por 12 horas; T5 - Imersão em GA<sub>3</sub> 400 ppm por 12 horas; T6 - Imersão em GA<sub>3</sub> 100 ppm por 24 horas; T7 - Imersão em GA<sub>3</sub> 200 ppm por 24 horas; T8 - Imersão em GA<sub>3</sub> 400 ppm por 24 horas; T9 - Pré-resfriamento a 5°C por 24 horas; T10 - Pré-resfriamento a 5°C por 48 horas; T11 - Pré-resfriamento a 5°C por 7 dias; T12 - Choque térmico com H<sub>2</sub>O destilada a 50°C por 5 minutos; T13 - Choque térmico com H<sub>2</sub>O destilada a 50°C por 15 minutos; T14 - Choque térmico com H<sub>2</sub>O destilada a 50°C por 30 minutos. Após estes tratamentos as sementes foram semeadas em gerbox com papel filtro umedecidos com água destilada. As sementes foram mantidas em germinadores à temperatura constante de 25°C±2 em duas condições de luminosidade: num germinador com fotoperíodo de 12 horas, fornecido por lâmpadas fluorescentes brancas frias e noutro sob condições de escuro contínuo.

A avaliação da germinação foi iniciada a partir do primeiro dia após a semeadura e feita diariamente, até os percentuais manterem estabilizados. Considerou-se, como semente germinada, aquela em que ocorreu a protrusão radicular. Os parâmetros avaliados, para verificar-se o efeito dos tratamentos foram os seguintes: a) Percentual de sementes germinadas e b) Índice de velocidade de germinação, obtido pela seguinte fórmula:  $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_x/N_x$ , onde G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>... e G<sub>x</sub> representam o número de sementes consideradas germinadas computadas nas contagens diárias sucessivas até o último dia e N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>...e N<sub>x</sub>, o número de dias a partir da implantação dos experimentos, até a última avaliação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 20 sementes por gerbox, com 4 repetições de cada tratamento. As médias entre os tratamentos foram comparadas através de análise de variância ANOVA e a separação de médias pelo teste da Mínima Diferença Significativa (DMS) a 5% de probabilidade, com o uso do software estatístico STATIGRAPHICS Plus 3.0 versão Windows.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, são apresentados os resultados referentes à percentagem de germinação e de índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de Lavanda (*L. angustifolia* Mill. "Provence Blue"), submetidas a diferentes tratamentos pré-germinação, associados a condições de escuro contínuo e/ou fotoperíodo de 12 horas, de forma a superar a dormência.

Tabela 1. Germinação (%) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de Lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill. "Provence Blue"), submetidas a diferentes tratamentos para quebra de dormência, sob condições de ausência de luz (escuro contínuo) e fotoperíodo de 12 horas.

Tratamentos	% Germinação				IVG	
	Até 7º dia		Até 15º dia		Escuro	Fotoperíodo
	Escuro	Fotoperíodo	Escuro	Fotoperíodo		
T1-Embebição em água destilada por 12 horas	1,25m	26,25hi	11,25ij	42,50def	1,09	7,92
T2-Embebição em água destilada por 24 horas	5,00m	11,25klm	11,25ij	27,50fghi	1,30	4,19
T3-Imersão em GA <sub>3</sub> 100 ppm por 12 horas	25,00hij	25,00hij	43,75def	43,75def	8,41	7,45
T4-Imersão em GA <sub>3</sub> 200 ppm por 12 horas	37,50fgh	23,75ijk	68,75ab	38,75efg	12,73	8,00
T5-Imersão em GA <sub>3</sub> 400 ppm por 12 horas	43,75cde	41,25efg	62,50bc	48,75cde	15,48	12,57
T6-Imersão em GA <sub>3</sub> 100 ppm por 24 horas	61,25b	56,25bc	82,50a	67,50ab	20,99	18,86
T7-Imersão em GA <sub>3</sub> 200 ppm por 24 horas	76,25a	51,25bcd	83,75a	60,00bcd	26,11	17,80
T8-Imersão em GA <sub>3</sub> 400 ppm por 24 horas	52,50bcd	57,50b	62,50bc	62,25bc	17,88	20,18
T9-Pré-resfriamento a 5°C por 24 horas	5,00m	5,00m	13,75ij	32,50efgh	1,66	2,88
T10-Pré-resfriamento a 5°C por 48 horas	2,50m	12,50jklm	6,25j	42,50def	1,28	5,01
T11-Pré-resfriamento a 5°C por 7 dias	5,00m	7,50lm	8,75j	28,75fghi	1,72	3,71
T12-Choque térmico H <sub>2</sub> O destil. a 50°C/ 5 min.	6,25m	26,25hi	21,25ghij	47,50cde	2,95	7,86
T13-Choque térmico H <sub>2</sub> O destil. a 50°C/ 15 min.	11,25klm	28,75ghi	22,50ghij	42,50def	3,13	8,06
T14-Choque térmico H <sub>2</sub> O destil. a 50°C/30 min.	5,00m	20,00ijkl	15,00hij	38,75efg	1,81	6,31

Valores médios, nas quatro colunas (escuro e fotoperíodo), referentes a cada período de germinação, seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste da Diferença Mínima Significativa (DMS) a 5% de probabilidade.

As sementes apresentaram um comportamento bastante interessante relacionado ao fator luminosidade isoladamente. Nestes, de maneira generalizada, houve uma baixa taxa de germinação das sementes, que estavam sob escuro contínuo. Este efeito, de certa forma, foi amenizado ao longo do tempo (Ver também figuras 1 e 2). Este melhor desempenho da germinação na presença de luz, corrobora os resultados apresentados por Aoyama et al.(1996), onde o tratamento com escuro contínuo apresentou menor média de germinação. Nos tratamentos com ácido giberélico, principalmente nas concentrações de 200 e 100 ppm, por um período de 24 horas, se obtiveram os maiores percentuais de germinação para ambos os períodos demonstrados, 76,25% e 61,25% após 7 dias e 83,75% e 82,50% após 15 dias, nas concentrações de 200 e 100 ppm respectivamente. Aoyama et al. (1996) já haviam concluído que o GA<sub>3</sub>, nestas mesmas concentrações, na presença de luz é importante na germinação de sementes de lavanda. No entanto o que demonstramos aqui, é que há um efeito associado do ácido giberélico e da presença e/ou ausência de luz. Onde a ausência de luz, associada ao pré-tratamento das sementes com ácido giberélico, promoveu um aumento significativamente superior da germinação. Este aspecto é confirmado, quando se observam os valores do IVG destes mesmos tratamentos, 26,11 e 20,99 respectivamente. Estes fatores associados, também promoveram um aumento na velocidade de germinação (Figura 1 e 2).

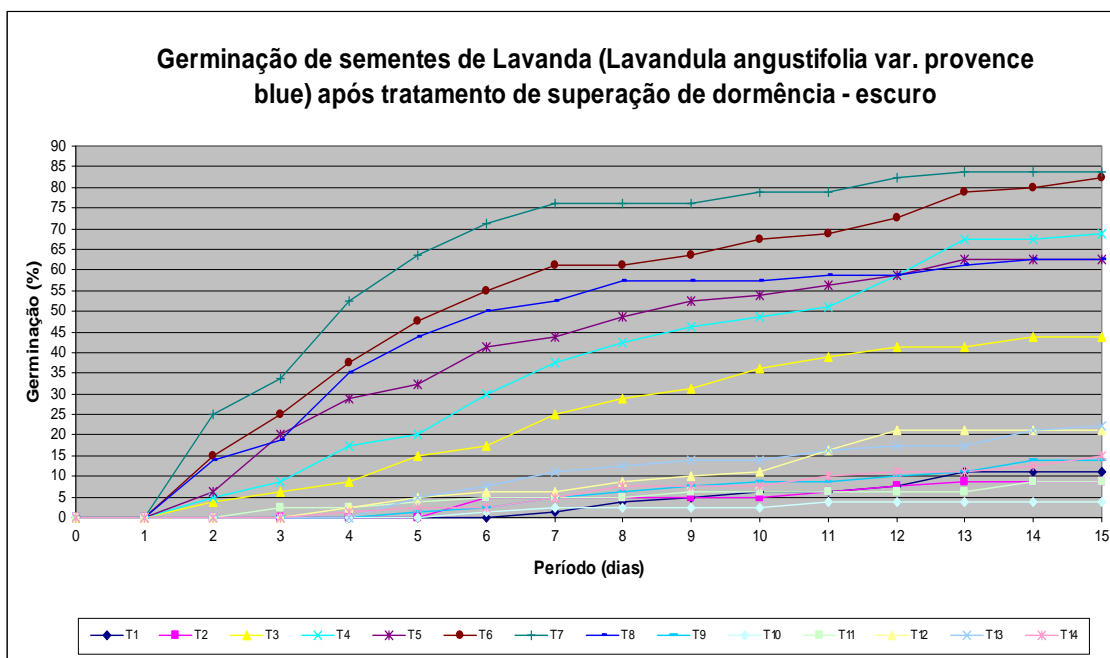


Figura 1. Curvas de germinação de sementes de *Lavandula angustifolia* Mill. “Provence Blue”, submetidas a diferentes tratamentos pré-germinação para quebra de dormência, submetidas a escuro contínuo.

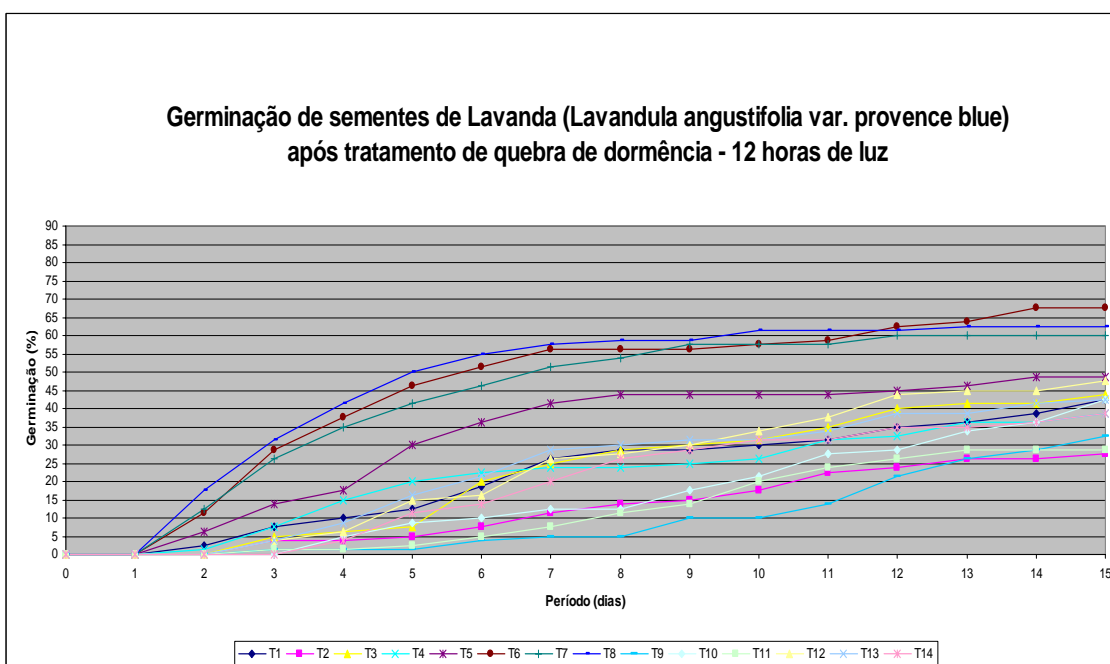


Figura 2. Curvas de germinação de sementes de *Lavandula angustifolia* Mill. “Provence Blue”, submetidas a diferentes tratamentos pré-germinação para quebra de dormência, germinadas em condições de luminosidade (fotoperíodo de 12 horas).

Estes resultados, de certa forma contradizem os obtidos e discutidos por Aoyama et al. (1996). Ressalta-se aqui, porém, que estes não testaram o efeito associado da ausência de luz (escuro contínuo) e pré-tratamento com ácido giberélico nos seus trabalhos.

Os demais tratamentos, não se mostraram eficientes na promoção da quebra de dormência e aumento da germinação de sementes desta espécie de lavanda.



## CONCLUSÃO

Para a variedade "Provence Blue", da espécie *Lavandula angustifolia* Miller, nas condições experimentais utilizadas, conclui-se que, os tratamentos pré-germinativos com ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) nas concentrações de 200 e 100 ppm durante 24 horas, associados à condição de escuro contínuo durante a germinação, promovem de forma significativa, a quebra da dormência das sementes. Conseqüentemente, ocorre aumento no percentual de sementes germinadas, bem como na velocidade de germinação das mesmas, possibilitando uma maior eficiência na produção qualitativa e quantitativa de mudas desta variedade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOYAMA, E.N.; ONO, E.O; FURLAN, M.R. Estudo da germinação de sementes de Lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.53, n. 2-3, p. 267-272, 1996.

BEZERRA, Antonio Marcos Esmeraldo et al. Efeito da pré-embebição e aplicação de ácido giberélico na germinação de sementes de macela. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.28, n.3. Dec. 2006.

DELGADO, F. et al. Seed germination and essential oil of *Lavandula luisieri* from Central Eastern Portugal. **Acta Hort.** (ISHS). 723: 283-288. 2006.

FILHO, Sebastião Medeiros; FRANÇA, Edson Alves de and INNECO, Renato. Germinação de sementes de *Operculina macrocarpa* (L.) Farwel e *Operculina Alata* (Ham.) Urban. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.24, n.2. 2002.

KYEREH, B.; SWAINE, D. and THOMPSON, J. Effect of light on the germination of forest trees in Ghana. **Journal of Ecology**, 87(5) 772-783. 1999.

LOPES, José Carlos et al. Influência de temperatura, substrato e luz na germinação de sementes de bortalha. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.27, n.2. Dec. 2005.

MAHER, J.; GERASOPOULOS, D. and MALOUPA, E. Temperature and Light effects on germination of *Lavandula stoechas* seeds. **Acta Hort.** (ISHS) 541: 261-264. 2000.

MENEZES, Nilson Lemos de et al. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidade de luz. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.26, n.1. 2004.

SILVEIRA, Fernando A.O.; NEGREIROS, Daniel; FERNANDES Wilson G. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* ( A. St.-Hill) DC. (Melastomataceae). **Rev. Bras. Sementes**, São Paulo, v.18, n.4. Oct-Dec. 2004.

STEFANELLO, Raquel et al. . Efeito da luz, temperatura e estresse hídrico no potencial fisiológico de sementes de funcho. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v.28, n.2. 2006.

## PALAVRAS-CHAVES

*Lavandula angustifolia* Miller.; dormência, germinação; sementes

## Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira seafórtia (*Archontophoenix cunninghamii* H. Wwndel. & Drude).

Rosa, Thiago Paschoal<sup>1</sup>, Sturião, Walas Permanhane<sup>2</sup>, Landgraf, Paulo Roberto Corrêa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-Mg, Fone (35) 3299-3282 e-mail:[thiagorosa@estadao.com.br](mailto:thiagorosa@estadao.com.br); <sup>2</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail:[wsturiao@hotmail.com](mailto:wsturiao@hotmail.com); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, CEP37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br).

Embora no Brasil ocorra grande número de espécies de palmeiras nativas que apresentam potencial para uso em paisagismo, atualmente, as palmeiras exóticas são as mais difundidas, como a seafórtia (*Archontophoenix cunninghamii* H. Wwndel. & Drude), originária da Austrália, que é uma espécie cultivada com ampla frequência, tolera clima temperado, desde que de inverno moderado. Adequa-se bem em parques, jardins, isoladamente ou em grupos. Produz um palmito nobre, seus frutos são pequenos, esféricos e vermelhos, com frutificação abundante na primavera. Embora seja uma palmeira de grande interesse ornamental e comercial, ainda existem muitas dúvidas relacionadas à produção de mudas. O trabalho teve como objetivo avaliar a influência do GA3 na embebição de sementes de palmeira seafortia (*Archontophoenix cunninghamii* H. Wwndel. & Drude). Os frutos foram colhidos quando se apresentavam com os pericarpos de coloração vermelho, foram despulpados e extraídas as sementes que foram secas a sombra. Foram realizadas as caracterizações físicas e morfológicas dos frutos e sementes. O teor de água inicial foi de 19%, realizado pelo método da estufa 105°C. A curva de embebição foi determinada através da pesagem inicial de quatro repetições de 25 sementes. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em solução de GA3 nas concentrações de 0; 500; 1000; 1500 e 2000 ppm, e colocadas na câmara de germinação tipo BOD a 25°C, sendo pesadas em intervalos regulares. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocadas na solução. A curva de embebição foi traçada pelos valores percentuais da umidade ao longo de 480 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições. A curva de embebição demonstrou que a entrada de água nas sementes foi muito lenta, indicando impermeabilidade do tegumento.

### PALAVRAS-CHAVES

*Archontophoenix cunninghamii*; Palmae; palmeira seafortia; sementes; GA3; embebição.

Uso do ácido giberélico na embebição de sementes de palmeira latânia (*Latania commersonii* J.F. Gmelin).

<sup>1</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, cep 37.130-000, Alfenas, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [thiagorosa@estado.com.br](mailto:thiagorosa@estado.com.br), <sup>2</sup> Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, Alfenas, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br).

A palmeira latânia (*Latania commersonii* J. F. Gmelin) é uma espécie ornamental adequada para o plantio em vasos, podendo ser utilizada isoladamente ou em grupos em jardins residencias e parques urbanos. Tem frutificação abundante ocorrendo na estação da primavera, a multiplicação desta especie é por sementes sendo que a germinação inicia-se aos 140 dias após sementeira. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do ácido giberélico na embebição de sementes de palmeira latânia. As sementes foram extraídas dos frutos maduros e secas a sombra, sendo realizadas caracterizações físicas e morfológicas dos frutos e sementes. Foi elaborada a curva de embebição por meio da pesagem inicial de quatro repetições com 25 sementes. A seguir, as sementes foram postas em solução de GA3 nas concentrações de 0; 500; 1000; 1500 e 2000 ppm, e colocadas na câmara de germinação tipo BOD a 25°C, sendo pesadas em intervalos regulares. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocado na solução. A curva de embebição foi traçada pelos valores percentuais da umidade ao longo de 480 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. A curva de embebição demonstrou que a entrada de água nas sementes foi muito lenta, indicando impermeabilidade do tegumento.

## Germinação *in vitro* de *Waltheria ferruginea* A. St.-Hil.

Virgínia Maria Tenório Sabino Donato<sup>1</sup>; Vânia Barreto Cauto<sup>2</sup>; Júlio Zoe de Brito<sup>3</sup> Rita de Cássia Pereira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadora do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), Av. Prof. Luís Freire, 1, Cidade Universitária, CEP 50.740-540 – Recife, Pernambuco, fone: (81) 3271-9815, e-mail: [vmtsdonato@uol.com.br](mailto:vmtsdonato@uol.com.br); <sup>2,3,4</sup>Pesquisadores da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Av. Gal. San Martin, 1371, Bongi, CEP 50.761-000 – Recife, Pernambuco, fone: (81) 2122-76200, e-mail: [juliozoe@gmail.com](mailto:juliozoe@gmail.com);

*Waltheria ferruginea* é uma sterculiaceae que ocorre no Nordeste brasileiro. Essa espécie apresenta potencial medicinal devido ao seu poder anti-inflamatório. Durante o processo de germinação das sementes dessa espécie, realizada em placas de petri contendo papel úmido ou em bandejas contendo areia lavada, verificou-se um baixo índice de germinação e, além disso, ocorreu necrose das plântulas germinadas. Esse trabalho foi desenvolvido com a finalidade viabilizar a obtenção de plantas dessa espécie utilizando a germinação e propagação *in vitro*. As sementes de *W. ferruginea* foram submetidas a um processo de desinfestação, constituído da imersão em solução de álcool 70% (v/v) por 1-3 minutos, em seguida em solução de hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) por 15 minutos e finalmente enxaguadas 3 vezes em água destilada estéril. Após o processo de desinfestação, em câmara de fluxo laminar, as sementes foram transferidas para frascos contendo uma solução de cefatoxima sódica 250 mg.L<sup>-1</sup>, onde foram mantidas no escuro, em sala de crescimento, até a germinação das sementes. Após a germinação, as sementes foram transferidas, sem enxágüe, para tubos contendo meio de cultivo constituído pelos sais e vitaminas do MS, acrescido de 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose e desprovido de reguladores de crescimento. As sementes apresentaram um considerável índice de germinação (80%), no entanto muito irregularmente. As plantas apresentaram bom desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular após 60 dias de cultivo. Observou-se após 15 dias da inoculação, o desenvolvimento de necrose do caule em 5% das plantas cultivadas, mesmo sintoma observado durante os métodos convencionais de germinação descritos anteriormente. Após 60 dias de cultivo as plantas, aparentemente, sadias foram aclimatizadas. Verificou-se após 7 dias do plantio o aparecimento do mesmo sintoma, o que inviabilizou a obtenção das plantas. Experimentos utilizando diferentes tipos e concentrações de antimicrobianos estão sendo conduzidos com o objetivo de obtenção de plantas sadias de *W. ferruginea*.

### PALAVRAS-CHAVES

Germinação; *in vitro*; *Waltheria ferruginea*; Sementes

## Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira areca-bambu (*Dypsis lutescens* H. Wendl.)

Sturião, Walas Permanhane<sup>1</sup>; Rosa, Thiago Paschoal<sup>2</sup>; Landgraf, Paulo Roberto Corrêa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [wsturio@hotmail.com](mailto:wsturio@hotmail.com); <sup>2</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [thiagorosa@estadao.com.br](mailto:thiagorosa@estadao.com.br); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br).

O interesse pelo cultivo de palmeiras ornamentais tem aumentado significativamente devido ao seu indiscutível valor paisagístico, proporcionando beleza e serenidade à paisagem de campos abertos, ruas, jardins, parques e praças. Além disso, destacam-se ainda pela importância econômica, como fonte alimentícia para o homem, como o palmito-doce, açai, coco-da-Bahia, babaçu, tâmara e juçara, artesanatos ou como fornecedoras de produtos para indústria como: fibras, óleos, bebidas e ceras, ou ainda como fonte de renda para viveiristas. A palmeira areca-bambu (*Dypsis lutescens* H. Wendl.) originária de Madagascar é espécie mais cultivada no mundo, tanto em vasos para interiores, como em touceiras isoladas ou em conjuntos, a meia-sombra ou a pleno sol. Quando a pleno sol sua folhagem se torna verde-amarelada. É um pouco tolerante ao frio e suporta transplantes, mesmo na fase adulta. A pesquisa teve como objetivo avaliar a influência do GA3 na embebição de sementes de palmeira areca-bambu (*Dypsis lutescens* H. Wendl.). Os frutos foram colhidos quando se apresentavam com os pericarpos de coloração verde-amarelados, as sementes foram extraídas dos frutos e secas a sombra. Foram realizadas as caracterizações físicas e morfológicas nos frutos e sementes. O teor de água inicial foi de 23%, realizado pelo método da estufa a 105°C. A curva de embebição foi determinada através da pesagem inicial de quatro repetições de 25 sementes. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em solução de GA3 nas concentrações de 0; 500; 1000; 1500 e 2000 ppm, e colocadas na câmara de germinação tipo BOD a 25°C, sendo pesadas em intervalos regulares. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocadas na solução. A curva de embebição foi traçada pelos valores percentuais da umidade ao longo de 480 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições. A curva de embebição demonstrou que a entrada de água nas sementes foi muito lenta, indicando impermeabilidade do tegumento.

**PALAVRAS-CHAVE:**

*Dypsis lutescens*; Palmae; palmeira areca-bambu; sementes; GA3; embebição.

## Uso de GA3 na embebição de sementes de palmeira fênix (*Phoenix roebelenii* O'Brien).

Sturião, Walas Permanhane<sup>1</sup>; Rosa, Thiago Paschoal<sup>2</sup>; Landgraf, Paulo Roberto Corrêa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [wsturião@hotmail.com](mailto:wsturião@hotmail.com); <sup>2</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [thiagorosa@estadao.com.br](mailto:thiagorosa@estadao.com.br); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, CEP 37130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br).

*Phoenix roebelenii* é uma espécie de palmeira com grande valor ornamental e amplamente cultivada nos trópicos, nas regiões subtropicais e temperadas amenas. Conhecida popularmente como tamareira-anã, é uma planta originária das regiões do norte do Laos e do Vietnã e áreas do Yunnan, no sudoeste da China. Esta palmeira desenvolve-se bem ao sol e à meia sombra, e tolera a seca; é uma espécie dióica, que sofre apomixia. Sua frutificação é abundante durante o verão e muito procurada por pássaros. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência do GA3 na embebição de sementes de palmeira fênix (*Phoenix roebelenii* O'Brien). Os frutos foram colhidos maduros, as sementes foram extraídas dos frutos e secas a sombra. Foram realizadas as caracterizações físicas e morfológicas dos frutos e sementes. O teor de água inicial foi de 19%, realizado pelo método da estufa a 105°C. A curva de embebição foi determinada através da pesagem inicial de quatro repetições de 25 sementes. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em solução de GA3 nas concentrações de 0; 500; 1000; 1500 e 2000 ppm, e colocadas na câmara de germinação tipo BOD a 25°C, sendo pesadas em intervalos regulares. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocadas na solução. A curva de embebição foi traçada pelos valores percentuais da umidade ao longo de 480 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições. A curva de embebição demonstrou que a entrada de água nas sementes foi muito lenta, indicando impermeabilidade do tegumento.

### PALAVRAS-CHAVES

*Phoenix roebelenii*; Palmae; palmeira fenix; sementes; GA3; embebição.

## Uso de GA3 na embebição de sementes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman).

Sturião, Walas Permanhane<sup>1</sup>; Rosa, Thiago Paschoal<sup>2</sup>; Landgraf, Paulo Roberto Corrêa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [wsturião@hotmail.com](mailto:wsturião@hotmail.com); <sup>2</sup>Granduando em Agronomia (UNIFENAS) Faculdade de Agronomia, caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282 e-mail: [thiagorosa@estadao.com.br](mailto:thiagorosa@estadao.com.br); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Agronomia (UNIFENAS), caixa postal 23, CEP 37.130-000, Alfenas-MG, Fone (35) 3299-3282, e-mail: [paulo.landgraf@unifenas.br](mailto:paulo.landgraf@unifenas.br).

As palmeiras são plantas de alto valor ornamental e largamente utilizadas em ajardinamento e paisagismo. A palmeira jerivá é originada no Brasil, além de muito elegante produz grande quantidade de frutos e sementes. Esta espécie pode suportar o frio da região Sul, o calor seco do Centro-Oeste, em áreas com solo pantanoso e até canteiros centrais e praças das grandes metrópoles onde convive com altas taxas de poluição. O trabalho teve como objetivo avaliar a influência do GA3 na embebição de sementes de palmeira jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman). Os frutos foram colhidos quando se apresentavam com os pericarpos de coloração alaranjados, sendo realizadas caracterizações físicas e morfológicas dos frutos e sementes. O teor de água inicial foi de 11%, realizado pelo método da estufa a 105+3°C por 24 horas. A curva de embebição foi determinada através da pesagem inicial de quatro repetições de 25 sementes. A seguir, as sementes foram colocadas para embeber em solução de GA3 nas concentrações de 0; 500; 1000; 1500 e 2000 ppm, e colocadas na câmara de germinação tipo BOD a 25°C, sendo pesadas em intervalos regulares de 30, 60, 180, 360, 720, 1440 minutos. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas com papel absorvente e posteriormente recolocadas na solução. A curva de embebição foi traçada pelos valores percentuais da umidade ao longo de 480 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições. A curva de embebição demonstrou que a entrada de água nas sementes foi lenta, indicando impermeabilidade do tegumento, porém havendo significativa influência do GA3 no processo de embebição, gradativo às concentrações utilizadas.

### PALAVRAS-CHAVES

*Syagrus romanzoffiana*; Palmae; palmeira jerivá; sementes; GA3; embebição.



## **Doses de Ácido Indolbutírico, tamanhos de estacas e diferentes substratos no enraizamento de estacas de amoreira-preta sob nebulização intermitente.**

Carvalho, Francielle Louise Bueno Melo de Carvalho<sup>1</sup>; Mariano, Flávia Aparecida de Carvalho<sup>2</sup>; Marques, Natália Paganini<sup>3</sup>; Lisboa, Letícia de Oliveira<sup>4</sup>; Corrêa, Luíz de Souza<sup>5</sup>; Boliane, Aparecida Conceição<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, CEP 15385-000, fone (18) 3743-1000, email: [franloumelo@hotmail.com](mailto:franloumelo@hotmail.com); <sup>2</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [flaviamariano1@hotmail.com](mailto:flaviamariano1@hotmail.com); <sup>3</sup> Engenheira Agrônoma, email: [nataliapaganini@hotmail.com](mailto:nataliapaganini@hotmail.com); <sup>4</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [leticiascarafici@hotmail.com](mailto:leticiascarafici@hotmail.com). <sup>5</sup> Docente do do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [icorrea@agro.feis.unesp.br](mailto:icorrea@agro.feis.unesp.br); <sup>6</sup> Docente do do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [boliani@agr.feis.unesp.br](mailto:boliani@agr.feis.unesp.br).

### **INTRODUÇÃO**

A amoreira-preta é planta arbustiva de porte ereto ou rasteiro, podendo atingir 2 metros de altura e apresenta longevidade de 15 anos. Pertence à família *Rosaceae*, gênero *Rubus*, da qual existem mais de 300 espécies. Sua origem não é muito definida (provavelmente da Ásia, introduzidas na Europa por volta do século XVII). Possui características de adaptação climática muito variada, podendo encontrar cultivares com exigência de frio (abaixo de 7,2° C) desde 100 horas até 1000 horas/ano para quebra de dormência (PORTAL CEAGESP, 2006).

A amoreira-preta (*Rubus* sp.) é uma espécie propagada vegetativamente pela estaquia de ramos e raízes, enraizamento de estacas herbáceas ou por cultura de meristemas em laboratórios de micropropagação (AUGUSTO, 2002). Nos trabalhos sobre propagação de amora-preta por estaquia, tem-se verificado baixa porcentagem de estacas enraizadas (inferiores a 62,3%), sendo assim, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de observar o enraizamento de estacas semi-lenhosas de amoreira-preta, para se obter mais informações sobre os métodos de propagação dessa frutífera.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado na FEPE - Fazenda Ensino Pesquisa e Extensão da Unesp Campus de Ilha Solteira - SP, localizada no município de Selvíria - MS. Segundo a classificação de KÖPPEN, o clima da região é do tipo Aw, apresentando uma temperatura média anual de 25° C (CENTURION, 1982).

As estacas foram colhidas da parte mediana dos ramos (estacas semi-lenhosas) em setembro de 2005, de plantas de amoreira-preta com 2 anos de idade, da cultivar 'Guarani', em uma propriedade localizada no município Ilha Solteira, com altitude média de 320 metros.

No ensaio I, as estacas foram preparadas sem folhas, com 4 gemas e tratadas com ácido indolbutírico diluído em água, nas concentrações de 1000, 2000 e 3000 mg.L<sup>-1</sup>, através de imersão 3 cm da base da estaca durante 10 minutos. As estacas do tratamento testemunha não tiveram esse tratamento. Logo depois todas as estacas foram tratadas com Metiltiofan (10 g.L<sup>-1</sup>) e colocadas para enraizar em caixas de plástico (10x28x40 cm) contendo substrato composto de vermiculita. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições e unidade experimental composta por 6 estacas cada uma, sendo o fator AIB composto por quatro níveis que resultaram nos tratamentos: 0, 1000, 2000 e 3000 mg.L<sup>-1</sup> de AIB.

No ensaio II, as estacas foram preparadas sem folhas, com 4 e 6 gemas e tratadas com ácido indolbutírico (1000 mg.L<sup>-1</sup>, através da imersão de 3 cm da sua base por 10 minutos). Logo depois todas as estacas foram tratadas com Metiltiofan (10 g.L<sup>-1</sup>) e



colocadas para enraizar em caixas de plástico (10x28x40 cm) contendo diferentes substrato (vermiculita e fibra de coco). O delineamento experimental utilizado foi em Blocos ao acaso, com 4 tratamentos, quatro repetições e 6 estacas por parcela. Os tratamentos foram: estacas com 4 nós em vermiculita, estacas com 6 nós em vermiculita, estacas com 4 nós em fibra de coco, estacas com 6 nós em fibra de coco.

Posteriormente as estacas dos dois ensaios foram colocadas em um telado de polipropileno (sombrite, 50% de luz) sob nebulização intermitente (15 segundos a cada 5 minutos) durante 85 dias (ver foto 1). Decorrido esse tempo foram avaliados a porcentagem de estacas enraizadas e sobreviventes, número de raízes por estaca e massa da matéria seca das raízes.

A porcentagem de estacas sobreviventes, porcentagem de estacas enraizadas e número de raízes por estacas foram feitas através de contagem no Laboratório de Horticultura na FEPE. As estacas foram lavadas e logo depois suas raízes foram contadas e pesadas. As raízes foram posteriormente para uma estufa até que se estabilizassem sua massa. E depois de secas foram pesadas em balança com sensibilidade de 0,01g.



Foto 1: Ensaio I e II. Estacas em nebulização intermitente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio I verificou-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (diferentes concentrações de AIB) para as características estudadas (ver tabela 1). Evidenciando que para estacas semi-lenhosas com 4 gemas sem folhas não houve efeito de AIB.

Para a porcentagem de estacas enraizadas os resultados estão de acordo com os obtidos por Turolla, Andrade e Silva (2006) no que diz respeito ao AIB, porem os resultados do presente trabalho em termos percentuais foram superiores. Por outro lado, de acordo com trabalho realizado por Gontijo et al. (2003) a resposta ao AIB varia entre cultivares de amora preta, sendo que o autor não encontrou efeito positivo para o cv. 'Brazos', mas encontrou para o cv. 'Guarani'. Vale ressaltar que tal fato pode estar ligado a quantidade satisfatória de reservas nos tecidos das estacas semi-lenhosas, que auxiliam no enraizamento, assim como no crescimento de novos tecidos, pois a auxina requer fonte de carbono para a biossíntese de ácidos nucléicos e proteínas, levando à necessidade de energia e carbono para a formação de raízes (Fachinello et al. 1995).

Com relação à sobrevivência de estacas, Fachinello et al. (1995) e Hartmann et al. (1997) afirmam que as estacas herbáceas por apresentarem constante atividade metabólica e desenvolvimento contínuo, são estacas que geralmente possuem índices de sobrevivência superior às estacas semi-lenhosas quando não se utilizam reguladores de crescimento.

Tabela 1. Resumo da análise de variância com base nas médias obtidas para as características avaliadas, no enraizamento de estacas de amoreira preta, em diferentes concentrações de AIB. Selvíria, MS. 2005.

FV	Quadrados Médios			
	Estacas sobreviventes (%)	Estacas Enraizadas (%)	Nº de raízes por estaca	Massa matéria seca das raízes (g)
<b>Tratamento</b>	463,06 ns	625,14 ns	0,1554 ns	0,0292 ns
<b>Blocos</b>	462,95	624,92	10,08	0,0075
<b>Resíduo</b>	401,20	316,34	2,47	0,0222
<b>CV (%)</b>	25,30	24,39	29,35	50,78

ns; teste F não significativo.

No ensaio II verificou-se que somente houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (substratos e tamanho das estacas) para a característica massa de matéria seca de raízes e não houve diferença estatística significativa para as outras características estudadas.

Tabela 2. Resumo da análise de variância com base nas médias obtidas para as características avaliadas, no enraizamento de estacas de amoreira preta com 4 e 6 gemas, em diferentes substratos utilizados. Ilha Solteira, SP. 2005.

FV	Quadrados Médios			
	Estacas Sobreviventes (%)	Estacas Enraizadas (%)	Nº de raízes por estaca	Massa matéria seca das raízes (g)
<b>Tratamento</b>	144,44 ns	500,00 ns	0,9861 ns	0,0565 *
<b>Blocos</b>	336,67	350,00	1,93	0,0418
<b>Resíduo</b>	333,44	250,00	0,8391	0,0195
<b>CV (%)</b>	25,52	28,75	21,47	56,10

\*; teste F significativo ao nível de 5 % de probabilidade, respectivamente.

ns; teste F não significativo.

A porcentagem de estacas sobreviventes (75%) apresentou valores maiores que a de estacas enraizadas (61,67%) o que parece indicar que o tempo de 85 dias foi insuficiente para o enraizamento das estacas.

Para a massa de matéria seca a comparação de médias entre grupos de tratamento revela que não houve diferença estatística significativa entre os substratos vermiculita e fibra de coco, porém, houve entre estacas com 4 e 6 gemas. As estacas com 6 gemas acumulou praticamente o dobro do que aquelas com 4 gemas em termos de massa da matéria seca das raízes, resultando na produção de uma muda de melhor qualidade.

Sabe-se que os reguladores de crescimento levam à síntese de RNA, que apresentam ação direta na iniciação do primórdio radicular (Hess, 1969), favorecendo a atividade metabólica necessária para o desenvolvimento dos tecidos constituintes das raízes e estimulando seu crescimento (Breen e Muraoka, 1973). Desta forma é possível que as estacas maiores (6 gemas) de amoreira preta do presente trabalho, tenham quantidades endógenas de reguladores de crescimento e ou reservas, que permitem maior acúmulo de matéria seca nas raízes do que as com 4 gemas.

## CONCLUSÃO

O Ácido Indolbutírico não promoveu o aumento do enraizamento; não houve diferença entre os substratos vermiculita e fibra de coco quanto ao enraizamento de estacas; estacas com 6 gemas apresentaram melhor enraizamento quando comparadas àquelas com 4 gemas. Uma avaliação apurada dos valores nos leva a salientar que novos trabalhos podem ser efetuados, com maior número de estacas por repetição, bem como com uso de folhas nas estacas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUGUSTO, C. S. S. Micropropagação da amoreira-preta cv. Brazos. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 3, n. 1-2, p. 113-132, 2002.

BREEN, P. J.; MURAOKA, T. The effect of indolebutyric acid on distribution of  $^{14}C$  – photosynthase in softwood cutting of Mariana 2624 Plum. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 98, p. 436-439, 1973.

CENTURION, J.F. Balanço hídrico na região de Ilha Solteira. **Científica**, Botucatu, v. 10, n.1, p.57-61, 1982.

FACHINELLO, J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: Editora Gráfica UFPEL, 1995.

GONTIJO, T. C. A. ; VILLA, F. ; PIO, R. ; DUTRA, L. F. et al. Propagação de amoreira preta utilizando estacas lenhosas. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 829-834, 2003.

HARTMANN, H. T., et al. **Plant propagation: principles and practices**. 5. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 647 p., 1997.

**PORTAL CEAGESP**. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/produtos/produtos/amora-preta/view?searchterm=amora%20preta>. Acesso em: 15 de abril de 2006.

TUROLLA, I. G.; ANDRADE, R. A.; SILVA, M. T. H. Propagação da amora-preta por estaquia herbácea. Disponível em: <http://www.usp.br/siicusp/13osiicusp/aprovados/ficha1990.htm>. Acesso em: 27 mar. 2006.

## PALAVRAS CHAVE

Rubus spp., Rosaceae, AIB, propagação.

## Propagação por sementes de *Verbena rigida* Spreng. – uma planta ornamental do sul do Brasil.

Daniela Biondi<sup>1</sup>, Luciana Leal<sup>2</sup>, Angeline Martini<sup>3</sup>, Camila Maria Natal<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Engenheira Florestal, Dra., Bolsista Produtividade em Pesquisa – CNPq; Prof. Depto. Ciências Florestais – UFPR; Campus III, Av. Lothário Meissner, 632, Curitiba/PR, fone: (41) 3360-4310, email: dbiondi@ufpr.br

<sup>2</sup>Engenheira Florestal, MSc., email: luciana\_paisagem@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal - UFPR

### INTRODUÇÃO

*Verbena rigida* Spreng., da família Verbenaceae, conhecida popularmente como erva-aramé, é uma herbácea perene, rizomatosa, ereta, pouco ramificada, nativa dos campos do planalto do sul do Brasil. Pode alcançar de 20 a 30 cm de altura, com florescimento decorativo, folhas rijas e ásperas, inflorescências eretas, ramificadas ou não, terminais, com flores pequenas de cor azul-arroxeadas, tubulares (Figura 1A e 1B), formadas na primavera-verão (Lorenzi & Souza, 1999).



Figura 1 – *Verbena rigida* – detalhe da inflorescência e aplicação em canteiro homogêneo

No Brasil, esta planta se encontra em estado silvestre, não sendo ainda utilizada pelos paisagistas e nem disponível no mercado de plantas ornamentais. Por outro lado, na Califórnia (EUA), esta espécie é bastante apreciada como planta ornamental e mudas são vendidas por US\$ 6,95 (Plantstogo, 2007). No Havaí é uma espécie amplamente cultivada (Wagner; Herbst & Sohmer, 1999).

É uma planta bem adaptada a verão quente e seco (Kentucky, 2007). É apropriada para forração a pleno sol, tolera o frio, sendo mais indicada para as regiões de altitude do sul do país (Lorenzi & Souza, 1999). Pela sua rusticidade, pode ser usada em recuperação de áreas degradadas (Biondi *et al.*, 2007).

Informações sobre sua propagação por sementes são ainda muito genéricas e incipientes, necessitando, porém, de dados experimentais para estimular a sua produção comercial e/ou melhoramento genético da espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de *Verbena rigida* utilizando diferentes tratamentos de superação de dormência das sementes.

### METODOLOGIA

Foram coletadas sementes, com tamanho médio de 2 mm de comprimento e 1 mm de largura (Figura 2), em dezembro de 2006, em área no Campus III da Universidade Federal do Paraná/UFPR, na cidade de Curitiba/PR. A espécie foi herborizada e identificada no Herbário do Setor de Ciências Biológicas - UFPR.



Figura 2 – Fruto e sementes de *Verbena rigida* Spreng.

Foram testados os seguintes tratamentos pré-germinativos: T0 = testemunha; T1 = imersão em água a temperatura ambiente por 24 horas; T2 = imersão em água a temperatura ambiente por 48 horas; T3 = imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 1 hora, T4 = imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 24 horas e T5 = imersão em água quente a 70°C e mantida em imersão durante 48 horas.

O experimento foi montado num delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições de 50 sementes. O experimento foi montado em sementeiras, com substrato comercial Plantmax®, em viveiro na Universidade Federal do Paraná.

A germinação foi considerada, segundo o critério agrônomo ou tecnológico, como a emergência da plântula no substrato (Borghetti & Ferreira, 2004). As variáveis analisadas foram a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG). A contagem foi encerrada quando o número de sementes germinadas apresentou-se constante.

Os resultados de ambos os experimentos foram submetidos à análise de variância. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. As médias foram testadas por meio do teste F e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação teve início aos 25 dias após a instalação do experimento e manteve-se constante após 40 dias. O tempo de germinação obtido neste trabalho corresponde ao período estabelecido por Wild (2007), nos Estados Unidos, que é de 21 a 45 dias. Para *Citharexylum montevidense* (Spreng.) Mold., outra espécie da família Verbenaceae, em condições de laboratório, o tempo médio para início da germinação foi de 30 dias, iniciando 17 dias depois da instalação do experimento e estendendo-se por oito semanas, enquanto em estufa foi de 63 dias, iniciando depois de 43 dias e estendendo-se por quatro meses (Leonhardt, Tillmann & Amaral, 2002).



Figura 3 – Germinação de *Verbena rigida* Spreng.

Pelos resultados obtidos (Tabela 1), observa-se que a *Verbena rigida* apresenta dormência nas sementes (T0 = 43,00% de germinação). A dormência pode ser definida como uma condição morfológica e/ou fisiológica de uma semente, restritiva de sua germinação, mesmo em condições ambientais favoráveis para que esta ocorra. Alternativamente, a dormência também pode ser definida como uma característica ou estado da semente que determina as condições exigidas para que ela germine (Cardoso, 2004).

Tabela 1 – Porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de *Verbena rigida*, Curitiba (2007)

VARIÁVEIS	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
%G	43,00 a	32,00 a	33,50 a	37,00 a	39,00 a	35,00 a	30,00 a
IVG	0,68 a	0,52 a	0,55 a	0,61 a	0,62 a	0,56 a	0,45 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

Os tratamentos aplicados (imersão das sementes em água quente e água a temperatura ambiente) não foram adequados para superar esta dormência. O mesmo aconteceu para o índice de velocidade de germinação (variou de 0,45 a 0,68, conforme Tabela 1). O tamanho das sementes (minúsculas) limita muito a aplicação de tratamentos de quebra de dormência, sendo os mais apropriados aqueles de imersão das sementes em solução.

O tratamento imersão em água quente constitui-se num eficiente meio para superação da dormência tegumentar das sementes com dormência tegumentar ou exógena, isto é, dormência relacionada com a impermeabilidade do tegumento ou do pericarpo à água e ao oxigênio, com a presença de inibidores químicos no tegumento ou no pericarpo ou com a resistência mecânica do tegumento ou do pericarpo ao crescimento do embrião. Neste tratamento, a água é aquecida até uma temperatura inicial, variável entre espécies, onde as sementes são imersas e permanecem por um período de tempo também variável, de acordo com cada espécie. Já o tratamento imersão em água fria é utilizado para sementes de algumas espécies que apresentam dificuldades para germinar, sem, contudo estarem dormentes. A simples imersão das sementes em água, à temperatura ambiente (25°C) por 24 horas, elimina o problema, que normalmente é decorrente de longos períodos de armazenamento, e que causa a secagem excessiva das sementes, impedindo-as de absorver água e iniciar o processo germinativo (Fowler & Bianchetti, 2000).

Para espécies propagadas sexualmente é importante conhecer os fatores que influenciam na capacidade e velocidade de germinação das sementes. Esses fatores podem ser divididos em fatores extrínsecos ou ambientais, como luz, temperatura, potencial da água, agentes químicos, gases e agentes bióticos, e fatores intrínsecos ou internos, como morfologia, viabilidade e dormência (Cardoso, 2004).

Sementes da espécie ruderal *Verbena officinalis* L. saíram da dormência primária quando mantidas a temperaturas entre 3 e 12°C, enquanto altas temperaturas foram ineficazes para quebrar a dormência (Brandel & Schütz, 2003). A espécie *Aloysia gratissima* (Gill. et Hook) Troncoso (Verbenaceae); com sementes muito pequenas (0,3mg/semente), possuem sementes fotoblásticas positivas; temperaturas alternantes promoveram a germinação para níveis pouco acima de 30% (Rosa e Ferreira, 2001).

Apesar da baixa porcentagem de germinação encontrada, a propagação assexuada é uma boa opção para o cultivo da espécie, que segundo Gilman (1999), quando propagada por sementes o florescimento ocorre já no primeiro ano de plantio.

## CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos conclui-se que as sementes de *Verbena rigida* apresentam dormência e que os tratamentos aplicados neste trabalho não foram adequados para incrementar a porcentagem de germinação. Recomenda-se pesquisa com a adoção de



outros tratamentos de quebra de dormência de sementes.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIONDI, D, LEAL, L., BATISTA, A. C., BALENSIEFER, M. Indicación de especies nativas para la recuperación de áreas degradadas. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA, 2., 2007. **Anais...** Santa Clara, Cuba: Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, 2007. p.1-8.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.209–222.

BRANDEL, M.; SCHÜTZ, W. Seasonal dormancy patterns and stratification requirements in seeds of *Verbena officinalis* L. **Basic and Applied Ecology**, v.4, n.4 , p.329-337, 2003.

CARDOSO, V. J. M. Germinação. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 386 - 408.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2000. 27 p. (Documentos, 40).

GILMAN, E. F. **Verbena rigida**. Florida: University of Florida, 1999. Fact Sheet FPS-599. Disponível em: <<http://www.hort.ufl.edu/shrubs/VERRIGA.pdf>> Acesso em: 22 abril 2007.

KENTUCKY Garden Flowers. **Verbena**. Kentucky: Horticulture Department/University of Kentucky: Disponível em: <<http://www.uky.edu/Ag/Horticulture/gardenflowers/uazz.htm>> Acesso em: 22 abril 2007.

LEONHARDT, C.; TILLMANN, M. A. A.; AMARAL, F. V. Aspectos morfológicos e fisiológicos da germinação de tarumã-de-espinho - *Citharexylum montevidense* (Spreng.) Mold – Verbenaceae. **Iheringia**, v.57, n.1, p.99-111, 2002.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1999. p.1055.

PLANTSTOGO. **Purple Verbena rigida is available in 4-inch pot size for \$6.95 each**. Disponível em: <<http://www.plantstogo.com/plantdescriptions/verbenarigida.htm>> Acesso em: 22 abril 2007.

ROSA, S. G. T.; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta bot. bras.** v.15, n.2, p.147-154, 2001.

WAGNER, W. L., HERBST, D. R.; SOHMER, S. H. **Manual of the flowering plants of Hawái**. Revised edition. Honolulu: University of Hawái Press, 1999. p.1325-1326.

WILD SEED FARMS. **Verbena**. Disponível em: <[http://www.wildseedfarms.com/tuber\\_vervain.html](http://www.wildseedfarms.com/tuber_vervain.html)> Acesso em: 22 abril 2007.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Verbena rigida* Spreng., germinação, tratamentos pré-germinativos.

## Ácido Indolbutírico e tempo de imersão no enraizamento de estacas semi-lenhosas e herbáceas de Amoreira-preta.

Carvalho, Francielle Louise Bueno Melo de Carvalho<sup>1</sup> ; Mariano, Flávia Aparecida de Carvalho<sup>2</sup>; Marques, Natália Paganini<sup>3</sup>; Lisboa, Letícia de Oliveira<sup>4</sup>; Corrêa, Luiz de Souza<sup>5</sup>; Boliane, Aparecida Conceição<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, CEP 15385-000, fone (18) 3743-1000, email: [franloumelo@hotmail.com](mailto:franloumelo@hotmail.com); <sup>2</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [flaviamariano1@hotmail.com](mailto:flaviamariano1@hotmail.com); <sup>3</sup> Engenheira Agrônoma, email: [nataliapaganini@hotmail.com](mailto:nataliapaganini@hotmail.com); <sup>4</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [leticiascarafici@hotmail.com](mailto:leticiascarafici@hotmail.com). <sup>5</sup> Docente do do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [lcorre@agro.feis.unesp.br](mailto:lcorre@agro.feis.unesp.br); <sup>6</sup> Docente do do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Unesp), Campus de Ilha Solteira, email: [boliani@agr.feis.unesp.br](mailto:boliani@agr.feis.unesp.br).

### INTRODUÇÃO

A amoreira preta, pertence à um grande grupo de plantas do gênero *Rubus*. Este gênero pertence à família Rosaceae, na qual existem outros gêneros de importância (*Malus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Prunus*, entre outros) para a fruticultura brasileira (ANTUNES, 2002). Tem como centro de origem na Ásia, tendo ocorrida sua introdução na Europa, por volta do século XVII. No Brasil, a amoreira, em especial a negra, cresce bem em toda parte, podendo ser encontrada de forma subespontânea em praticamente todas as regiões do país (EMBRAPA, 2006).

O enraizamento de estacas é uma das alternativas para a propagação dessa espécie, uma vez que permite o início da produção de fruta num menor espaço de tempo, além de permitir a manutenção das características desejáveis selecionadas nas matrizes, embora em alguns casos, seja um processo difícil e demorado (MENZEL, 1985). Para acelerar e promover o enraizamento de estacas, habitualmente são empregados hormônios do grupo das auxinas, os quais levam à uma maior porcentagem de formação de raízes, melhor qualidade das mesmas e uniformidade no enraizamento (HARTMANN e KESTER, 1983, citado por LEONEL, 1995).

### MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos na Universidade Estadual Paulista - Campus de Ilha Solteira - SP, cuja latitude corresponde a 20° 25' S e longitude: 51° 21' W, com altitude 335m. O clima de região é AW, segundo a classificação de KOPPEN, apresentando temperatura média anual de 25°C (tabelas 8, 9 e 10) e precipitação anual de 1300 mm (CENTURION, 1982, p.57-61). O estaqueamento foi realizado no mês de novembro de 2005, em um período de 62 dias para estacas herbáceas e 68 dias para as estacas semi-lenhosas.

Foram instalados em telado, sob tela de polipropileno com 50% de sombreamento, e nebulização intermitente, com tempo de 15 segundos a cada intervalo de 5 minutos. O sistema de nebulização intermitente era acionado por meio de um temporizador ("Timer"). Foram utilizadas plantas (*Rubus* sp), com idade de dois anos a planta mãe. Retirou-se estacas herbáceas para o primeiro ensaio e estacas semi-lenhosas para o segundo ensaio, essas plantas foram introduzidas na região como cultivar Guarani e coletadas em uma propriedade localizada no Cinturão Verde, município de Ilha Solteira, Estado de São Paulo. As estacas semi-lenhosas de amora preta foram retiradas dos 2/3 basais de cada ramo, preparadas com 20 cm de comprimento, enquanto que as estacas herbáceas foram retiradas do ápice de cada ramo, com cerca de 20 cm e ambas com folhas. Após o preparo manual das estacas, ficaram em recipiente com água, foram tratadas com solução de Metiltiofan (Thiophanate methyl a 0,05% i.a) sendo utilizado 10g.L<sup>-1</sup>. Em seguida foram submetidas ao tratamento com ácido indolbutírico (AIB), na concentração de 500 mg.L<sup>-1</sup>. O



tratamento consistiu na imersão de 3 cm da base da estaca, na solução de AIB nos tempos de 10, 8, 6, 4, 2 minutos e um tratamento testemunha, que não recebia o tratamento de AIB.

O estaqueamento foi feito em bandejas com tamanho de 40x29x11cm, contendo como substrato vermiculita média expandida (fotos 1, 2 e 3). O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, sendo cada ensaio constituído de 6 tratamentos e 4 repetições, sendo cada parcela constituída por 10 estacas. O primeiro ensaio foi colhido aos 62 dias após o estaqueamento e o ensaio 2 aos 68 dias após o estaqueamento. As características avaliadas foram: porcentagem de estacas sobreviventes, porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estacas, e massa da matéria seca das raízes e parte aérea. Os dados foram analisados utilizando-se o Programa Statistical Analysis System (SAS), sendo os mesmos submetidos à análise de variância e ao teste de médias comparadas por meio do teste de Duncan com 1% e 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro ensaio, verifica-se que houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (tempo de imersão das estacas em AIB) para porcentagem de estacas enraizadas, porcentagem de estacas sobreviventes e número de raízes por estaca, tendo a análise, mostrado uma regressão linear, para essas características.

Conforme aumentava o tempo de imersão, o número de estacas enraizadas, sobreviventes e o número de raízes por estaca diminuíram. Isso pode ter ocorrido, pois com o aumento da concentração de auxina exógena aplicada em estacas provoca efeito estimulador de raízes até um valor máximo, a partir do qual qualquer acréscimo de auxinas tem efeito inibitório (FACHINELLO et al. 1995). Cada espécie possui seu valor máximo de aplicação exógena de regulador vegetal e este comportamento pode estar relacionado com o fato de as estacas possuírem certa quantidade endógena de hormônios, promotores ou inibidores, de enraizamento. O fornecimento exógeno de auxina, em certas quantidades, pode promover uma alteração hormonal, favorecendo ou não o enraizamento. Desta forma é possível que as estacas herbáceas de amoreira preta apresentem quantidades satisfatórias de auxinas endógenas, sendo que a aplicação exógena faz com que ocorra uma inibição no aparecimento de raízes.

O mesmo não ocorreu com a massa da matéria seca das raízes, evidenciando que o tempo de imersão não influenciou o acúmulo de matéria seca nas raízes. A falta de resposta à aplicação de AIB, na produção de matéria seca das raízes tem sido observada em outras espécies. Assim, Pio (2002) não encontraram efeito de AIB sobre o acúmulo de matéria seca nas raízes de figueira.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância com base nas médias obtidas para as características avaliadas, no enraizamento de estacas herbáceas de amoreira preta, em diferentes tempos de imersão em AIB. Ilha Solteira – SP, 2005.

F.V.	Quadrados		Médios	
	Estacas enraizadas (%)	Estacas sobreviventes (%)	Nº de raízes por estaca	Massa matéria seca raízes (mg)
Tratamento	1480,00 **	1480,00 **	1382,87*	0,0317 ns
Bloco	361,11	361,11	917,71	0,0294
Resíduo	224,44	224,44	433,94	0,0333
C.V. (%)	28,54	28,54	35,23	34,29

\* e \*\* ; teste F significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ns; teste F não significativo.

No segundo ensaio, verifica-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (tempo de imersão das estacas em AIB) para porcentagem de estacas enraizadas, porcentagem de estacas sobreviventes, número de raízes por estaca e massa

da matéria seca das raízes, tendo a análise mostrado uma regressão linear, para essas características.

Segundo Simão, (1998) as estacas semi-lenhosas devem ser colocadas para enraizar no final do inverno, devido os ramos apresentarem maior quantidade de carboidratos nessa época, o que favorece o aparecimento de raízes. No presente trabalho, as plantas não apresentavam frutos ou flores, estando em pleno desenvolvimento vegetativo, o que pode ter permitido maior acúmulo de carboidratos nos ramos, o que pode ter levado a não haver diferença entre os tratamentos pela alta reserva existente.

Com relação à sobrevivência de estacas herbáceas e semi-lenhosas, Fachinello et al. (1995) e Hartmann et al. (1997) relatam que as estacas herbáceas por apresentarem constante atividade metabólica e de desenvolvimento contínuo, são estacas que geralmente possuem índices de sobrevivência superior as estacas semi-lenhosas quando não se utilizam reguladores de crescimento.

Estudando o enraizamento de estacas de figo (*Ficus carica* L.), em diferentes concentrações de AIB, observou que a concentração de 150 mg.L<sup>-1</sup> de AIB proporcionou os melhores resultados no peso de matéria seca de raiz. Em estacas de pessegueiro da cultivar Esmeralda, Rufato e Kersten (2000), obtiveram peso de matéria seca de raiz de 0,9346 g quando tratadas com 2440 mg.L<sup>-1</sup> de AIB (NOGUEIRA, 1995, citado por CUNHA JUNIOR, et al. 2006). Face ao exposto, verificas-se que é possível que os teores de auxinas endógenas e reservas das estacas foram satisfatórios, o que fez com que não ocorresse diferença entre os tratamentos.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância com base nas médias obtidas para as características avaliadas, no enraizamento de estacas semi-lenhosas de amoreira preta, em diferentes tempos de imersão em AIB. Ilha Solteira – SP, 2005.

FV	Quadrados		Médios	
	Estacas enraizadas (%)	Estacas sobreviventes (%)	Nº de raízes por estaca	Massa matéria seca raízes (mg)
Tratamento	126,67 ns	137,50 ns	142,54 ns	0,06438 ns
Blocos	91,44	81,94	57,37	0,05271
Resíduo	364,44	395,28	268,67	0,02797
C.V. (%)	26,95	27,90	28,74	34,22

\* e \*\* ; teste F significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.  
ns; teste F não significativo.

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados e nas condições em que foi realizado o presente experimento, pode-se concluir que, á medida que se aumentou o tempo de imersão das estacas herbáceas em AIB, houve uma redução na porcentagem de estacas enraizadas, sobreviventes, bem como sobre o número de raízes por estaca; a dosagem utilizada de AIB (500 mg.L<sup>-1</sup>) foi prejudicial ao enraizamento de estacas herbáceas, porém não teve efeito sobre as semi-lenhosas, o tempo de imersão das estacas semi-lenhosas em AIB, não alterou a porcentagem de estacas enraizadas, sobreviventes, bem como o número de raízes por estaca, portanto sendo dispensável o uso do regulador vegetal para estaqueamento das mesmas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, L.E.C.; CHALFUN, N.N.J.; REGINA, M. A. et al. Fenologia e produção de variedades de amora-preta nas condições do planalto de Poços de Caldas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.1, p.89-95, 2000a.

CENTURION, J.F. Balanço hídrico na região de Ilha Solteira. **Cientifica**, Jaboticabal, v.10, n.1, p. 57-61, 1982.

CUNHA JUNIOR, A. R., et al. Enraizamento de Estacas Lenhosas de Marmeleiro 'Portugal' tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico. Disponível em: <[http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvii\\_cbf/propagacao/936.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/propagacao/936.htm)>. Acesso em: 18 set. 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - Embrapa. Produção de mudas de amora-preta por meio de cultura de tecidos. Disponível em: <[http://www.cpact.embrapa.br/sistemas/amora\\_preta/cap01.htm](http://www.cpact.embrapa.br/sistemas/amora_preta/cap01.htm)>. Acesso em: 8 out. 2006.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FONTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: Editora Gráfica UFPEL, 1995.

HARTMANN, et al. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997.

LEONEL, S.; RODRIGUES, J. D.; RODRIGUES, S. D. Rooting of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) cuttings. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, 1995.

MENZEL, C.M. Propagation of lychee: a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.25, p.31-48, 1985.

PIO, R. **Ácido indolbutírico e sacarose no enraizamento de estacas apicais e desenvolvimento inicial da figueira (*Ficus Carica* L.)**. Lavras, 2002. 109f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2002.

S.A.S Institute Inc. SAS Procedures guide. Version 8 (TSMO). SAS Intitute Inc. CARY, N.C.; 27513, USA, 1999.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: Fealq. 760p. 1998.

## PALAVRAS CHAVE

Rubus spp., Rosaceae, AIB, propagação.

## Propagação de Maracujá-de-Papoco (*Passiflora Sp.*) por Estaquia.

SANTOS, Edilton Rodrigues<sup>1</sup>; SANTANA, MarluCIA Cruz de<sup>2</sup>; SANTOS, Paulo Augusto Almeida<sup>1</sup>; SOUZA, Margarete Magalhães de<sup>3</sup>; SILVA, Carlos Davi Santos<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Bolsista Copes/Pibic Graduando Ciências Biológicas/UFS, Av. Marechal Rondon s/n São Cristóvão, SE, fone(79) 21056673; <sup>2</sup> Professora do Departamento de Biologia da UFS, Av. Marechal Rondon s/n São Cristóvão, SE, fone(79) 21056673, e-mail:mar@ufs.br; <sup>3</sup> Professora do Departamento de Biologia da UESC; <sup>4</sup> Mestrando do PRODEMA/UFS, Av. Marechal Rondon s/n São Cristóvão, SE, fone(79) 21056673, e-mail: carlosdavi\_santos@yahoo.com.br

O maracujazeiro (*Passiflora spp.*) é originário da América tropical de clima tropical. Várias espécies são nativas do Brasil, que é o maior produtor e consumidor de maracujá amarelo do mundo. Existe uma ampla variabilidade genética a ser conhecida, protegida e convenientemente manuseada. Este trabalho teve como objetivo propagar por estaquia o maracujá-de-papoco, espécie encontrada em restingas no Estado de Sergipe. Dois experimentos foram realizados (Experimento-1: em condições de campo, e Experimento-2: em uma estufa agrícola) em um esquema fatorial com cinco tratamentos e seis repetições. Foram testados dois tipos de estaca (apical e basal) e cinco tipos de substrato [Areia Lavada, Areia da Praia, Solo argiloso, Areia Lavada + Solo Argiloso (1:1) e Areia da Praia + Solo Argiloso (1:1)]. A unidade experimental foi composta por duas estacas por saco de polietileno. Cada experimento constou de 60 estacas, 30 da parte basal e 30 da parte apical. Cada estaca medindo 30 cm de comprimento, com três pares de folhas. As estacas do Experimento-1 foram regadas uma vez ao dia e as do Experimento-2 foram regadas cinco vezes ao dia sob sistema de aspersão. No Experimento-1, constatou-se que as estacas basais apresentaram sinais de estresse com grande queda das folhas (53,3%) em relação às apicais (26,6%). Houve brotação de gemas uma semana após o plantio e não houve diferença quanto ao desenvolvimento das estacas nos diferentes tipos de substrato (100%). No Experimento-1, houve maior pegamento de estacas plantadas em substrato contendo areia lavada + solo argiloso (90%) enquanto no Experimento-2, o pegamento de estacas ocorreu em todos os tratamentos. Tais resultados sugerem que a maior umidade encontrada em condições semicontroladas (estufa agrícola), foi preponderante para o enraizamento das estacas.

### PALAVRAS-CHAVE

Passifloraceae; produção de mudas; recursos genéticos

## Utilização de antioxidantes na micropropagação de bananeira 'Prata-Anã'.

Oliveira, Lucas Fonseca Menezes<sup>1</sup>; Léo, Ana da Silva<sup>2</sup>; Silva Junior, Josué Francisco da<sup>2</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estagiário UFS/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: lucas@cpatc.embrapa.br; <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: analedo@cpatc.embrapa.br, josue@cpatc.embrapa.br; <sup>3</sup>Pesquisadora do Deagro, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: sarah@cpatc.embrapa.br

A banana (*Musa spp*) é uma das frutas mais consumidas no mundo e na maioria dos países tropicais. A micropropagação da banana consiste em isolar ápices vegetativos de filhos de matrizes vigorosas e produtivas, em condições assépticas, em meio de cultura *in vitro*. As principais vantagens desse método são as altas taxas de multiplicação em comparação aos métodos tradicionais e à alta qualidade fitossanitária das mudas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de antioxidantes durante a micropropagação de banana 'Prata-Anã'. Mudanças do tipo chifrinho, oriundas do campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros em Propriá – SE tiveram seu tamanho reduzido por meio do corte das bainhas externas, foram lavadas com detergente em água corrente e, em câmara de fluxo laminar, submetidas à imersão em álcool 70% (v/v) por 5 minutos, em seguida imersão em NaClO 1-1,25% por 30 minutos. Por fim foram feitos três enxágües com água destilada estéril. Os explantes foram inoculados em frascos contendo meio de cultura MS gelificado com agar (6 g L<sup>-1</sup>) com os seguintes tratamentos: T1 = testemunha (sem antioxidante), T2 = 500 mg L<sup>-1</sup> de polivinilpirrolidona (PVP), T3 = 1000 mg L<sup>-1</sup> de carvão ativado. O delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e treze repetições. Cada parcela foi constituída de um frasco contendo um ápice caulinar. Foram avaliadas, ao final de 30 dias, a percentagem de explantes oxidados, a percentagem de contaminação e a percentagem de explantes viáveis. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a percentagem de contaminação e viabilidade dos explantes. Entretanto, a testemunha apresentou maior oxidação (92,30%), enquanto que na presença de carvão ativado foi observada a menor oxidação (46,15%). A oxidação presente nos explantes foi superficial não inviabilizando a progressão das culturas que apresentaram 92,30%; 76,92% e 76,92% de explantes viáveis, nos tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente.

### PALAVRAS-CHAVE

*Musa spp*; Musaceae; bananeira; micropropagação; oxidação.

## Superação da dormência em sementes de *Cássia fistula* L.

Ferreira, Luciana Domingues Bittencourt<sup>1</sup>; Marques, Polyanna<sup>2</sup>; Garcia, José<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadora da AGENCIARURAL, CENTRAR, Rod. R-2 Q-Área, lote AR-3, Campus Samambaia e Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (EA/UFG), e-mail: [lucianadbf@terra.com.br](mailto:lucianadbf@terra.com.br); <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (EA/UFG);

<sup>3</sup>Professor da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos – UFG, Campus Samambaia, Cx.P. 131, CEP: 74001-970, Goiânia – GO.

A espécie *Cassia fistula* (Chuva-de-ouro), pertencente à família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae. Suas flores amarelo-douradas são perfumadas e dispõem-se em longos cachos pendentes que se destacam na paisagem. Pelas suas características estéticas, presta-se bem à arborização urbana. A multiplicação é feita por meio de sementes que apresentam baixa germinação. Dentre as várias causas de ocorrência de dormência em sementes, está a impermeabilidade dos tecidos à difusão da água em direção ao embrião, geralmente, causada pelo tegumento ou endocarpo. Esta dormência é considerada uma das formas mais comuns em sementes de espécies tropicais. Há relatos de que nas espécies da família Fabaceae a principal resistência à entrada de água nas sementes é conferida à testa. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de tratamentos com ácido sulfúrico na superação de dormência de sementes de chuva-de-ouro (*Cassia fistula* L.), buscando germinações mais rápida e uniforme. O ensaio foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes da Escola de Agronomia da UFG. As sementes foram colhidas no município de Goiânia e armazenadas durante um ano. Os testes foram realizados em setembro de 2006. Os tratamentos foram: testemunha, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. por 1, 3 e 5 minutos e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60% por 5 e 10 minutos. O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições e 25 sementes por unidade experimental. As avaliações foram realizadas semanalmente por 28 dias. Os resultados demonstraram que os tratamentos H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. por 1 e 3 minutos e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60% por 5 minutos, apresentaram os melhores resultados (69,5%, 86,0% e 71,5%, respectivamente). A testemunha apresentou germinação de 1,25%, comprovando a impermeabilidade do tegumento à absorção de água, e sua condição de semente dura.

### PALAVRAS-CHAVE:

*Cassia fistula*; chuva-de-ouro, sementes, impermeabilidade

## **BAP e substratos na propagação vegetativa de *Nymphaea x marliacea* “Chromatella”.**

Mônica Spier<sup>1</sup>; Ana Paula Guisso-Navarini<sup>1</sup>; Ingrid Bergmann Inchausti de Barros<sup>1</sup>; Sergio Francisco Schwarz<sup>1</sup>; Paulo Vitor Dutra de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Agronomia – Departamento de Horticultura e Silvicultura. Av. Bento Gonçalves, 7712. CEP 91540-000 Porto Alegre RS Fone: (51) 3308 6020. E-mail: monicaspier@hotmail.com; anaguisso@yahoo.com.br; ingridb@ufrgs.br ; schwarz@ufrgs.br; pvdsouza@ufrgs.br

### **INTRODUÇÃO**

O gênero *Nymphaea* inclui aproximadamente 40 espécies estabelecidas em clima tropical e temperado, em ambos hemisférios. Popularmente conhecidas como ninféias ou lírios d’ água, as plantas possuem folhas arredondadas de bordos planos, as quais se prendem ao rizoma por um longo pecíolo avermelhado. As flores são grandes, isoladas, muito bonitas e de cores variadas (FONSECA, 1998; VILJOEN & NOTTEN, 2002).

A espécie *Nymphaea x marliacea* “Chromatella” é uma variedade híbrida obtida a partir do cruzamento entre seus parentais *N. alba* X *N. mexicana*. Caracteriza-se por florescimento diurno e abundante, e rizoma rugoso. As pétalas apresentam coloração amarelo-clara e as folhas jovens apresentam manchas púrpuras na face adaxial e avermelhadas na face abaxial (SLOCUM & ROBINSON, 1996).

Comercialmente a *Nymphaea x marliacea* “Chromatella” é propagada por divisão simples do rizoma. A quantidade de mudas obtidas por planta matriz usualmente é pequena, ficando em torno de duas a três mudas quando se divide o rizoma de uma planta cultivada durante um ano. As plantas são divididas na primavera, logo antes do reinício do crescimento vegetativo e cada fração deve conter pelo menos uma gema. Em condições normais são necessários, em média, dois anos para produzir uma planta comercializável. Como poucas divisões podem ser feitas a partir de cada planta matriz há um alto custo unitário. A redução do custo poderia levar a um aumento na demanda (KELLY & FRETTE, 1986). No entanto, existem poucos resultados de pesquisa envolvendo propagação de plantas aquáticas. Os estudos com esse tipo de planta geralmente se referem a sua utilização em fitorremediação de ambientes degradados ou a formas de controle de espécies infestantes.

Assim como a ninféia, a bananeira, até pouco tempo, era propagada, exclusivamente, através de brotações espontâneas do rizoma. Nos últimos anos, buscou-se desenvolver técnicas de propagação rápida “in vitro” e “in vivo”, a partir da utilização de reguladores de crescimento (PEREIRA et al, 2001).

As citocininas são importantes na regulação do crescimento e morfogênese dos tecidos e órgãos, e induzem a proliferação de gemas axilares e a quebra de dominância apical. Dentre estas, a 6-benzilaminopurina (BAP), tem-se mostrado eficiente na multiplicação de explantes e indução de gemas adventícias além de ter um menor custo que as outras citocininas (DUTRA et al, 2004).

Ninféias, Lótus e outras plantas aquáticas precisam de um substrato com bom balanceamento nutricional, que suporte um amplo crescimento e dê sustentação às plantas.

Considerando-se os poucos resultados existentes a respeito da propagação da ninféia e de qual o melhor substrato para seu cultivo buscou-se, com este trabalho, avaliar o efeito da aplicação de diferentes doses de BAP sobre o número de mudas de *Nymphaea x marliacea* “Chromatella” obtidas a partir de divisão de rizomas e o efeito do tipo de substrato sobre o enraizamento destas.

### **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Biotecnologia em Horticultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS e foi dividido em duas etapas. A etapa inicial consistiu na formação de brotações no rizoma e a etapa posterior consistiu do

enraizamento das mudas formadas. Na primeira fase, os rizomas foram retirados do substrato onde estavam sendo cultivados, lavados, desinfestados em solução de hipoclorito de sódio a 5% por dez minutos e, a seguir, divididos. A gema apical, dominante, foi removida e descartada. Os pedaços restantes foram divididos de modo a conter aproximadamente quatro gemas e colocados em um tanque com água, onde permaneceram por duas semanas para estimular a brotação das gemas laterais. Após este período o ápice das brotações foi cortado de modo a expor o meristema vegetativo. A seguir foi realizada uma incisão em forma de cruz no centro do corte, utilizando-se lâmina desinfectada em álcool. Imediatamente após o ferimento foram aplicadas na superfície dos brotos 10 gotas de solução de BAP, conforme o tratamento. Foram testadas as concentrações 0,0; 0,5; 2,5; 5,0 e 10,0 mg L<sup>-1</sup>.

A metodologia utilizada foi adaptada de Dantas et al. (1986). A fim de propiciar uma melhor absorção do BAP, somente 2 horas após o tratamento os pedaços de rizoma foram colocados nos tanques com água.

As observações foram feitas três vezes por semana, para identificar e datar a época de início das brotações, bem como proceder à contagem do número de brotações por broto tratado. Transcorridos 20 dias após a realização dos tratamentos, as brotações (aproximadamente dois cm de altura) foram removidas, mantendo-se um pedaço do rizoma, e transferidas para vasos, para que ocorresse seu enraizamento, dando início, então, à segunda fase do experimento. As mudas utilizadas nesta fase do experimento foram selecionadas de modo a apresentar um padrão uniforme no que se refere ao número de folhas e raízes. Para esta segunda fase foram testados três substratos: cinasita de granulometria fina, areia média e substrato a base de turfa, os quais apresentaram densidade úmida de 1.016 kg m<sup>-3</sup>, 1.557 kg m<sup>-3</sup> e 602 kg m<sup>-3</sup>, respectivamente.

A partir desta etapa totalizou-se quinze tratamentos com seis repetições, utilizando-se o delineamento experimental completamente casualizado.

Os parâmetros avaliados na primeira fase do experimento foram: o número de brotos espontâneos produzidos e tratados por rizoma, o número de brotações induzidas por broto tratado e por rizoma e o período decorrido desde a aplicação do BAP até o início da brotação. Na segunda fase, 60 dias após a transferência das gemas para os vasos, foram avaliados o número de folhas e a área foliar, bem como o número, comprimento, massa fresca e seca das raízes formadas. A secagem das raízes foi realizada em estufa a 65°C. Para as determinações utilizou-se um medidor de área (Modelo CI 202 ArcoMeter) e o comprimento total das raízes foi estimado pelo Método de Tennant (TENNANT, 1975).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos na primeira fase do experimento não houve diferenças entre os tratamentos de BAP, para número de brotações espontâneas e de mudas produzidas por broto e por rizoma. Assim, cada broto cortado originou apenas uma brotação.

O fato de ter sido obtida apenas uma brotação por broto tratado, mesmo com a utilização de diferentes concentrações de BAP, se deve, provavelmente, a diluição do regulador em água, no momento em que as amostras foram colocadas nos tanques.

As avaliações feitas após a segunda fase indicam que há diferença no número de folhas por planta cultivada em diferentes substratos (Figura 1). Os valores obtidos para as doses menores de BAP (0,0 a 2,5 mg L<sup>-1</sup>) demonstram que o substrato turfa propicia um número de folhas maior que a cinasita, não havendo, no entanto, diferença significativa em relação à areia nessas doses. Resultados semelhantes foram obtidos para a variável área foliar (Figura 2), onde a turfa foi superior em relação aos outros substratos para todas as doses de BAP aplicadas. O maior desenvolvimento das plantas na turfa pode ser devido ao fato desta ser adubada (os teores totais de sais solúveis, em g L<sup>-1</sup> da areia, cinasita e turfa foram iguais a 0,11, 0,03 e 0,45, respectivamente). Em fases mais adiantadas do ciclo da planta, quando há emissão de raízes para fora do recipiente de cultivo, o teor de nutrientes do substrato passa a ser secundário, uma vez que a planta retira nutrientes diretamente da água. No entanto, na fase inicial, a disponibilidade de nutrientes próxima às raízes pode



afetar o desenvolvimento da planta, apesar de ocorrer em grau muito menor do que aquele observado para as plantas terrestres.

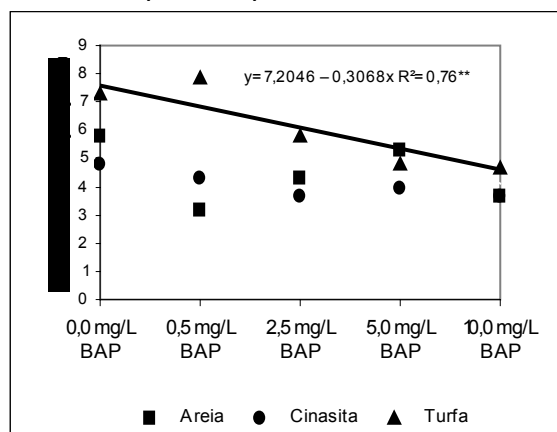


Figura 1. Número de folhas de plantas de *Nymphaea x marliacea* "Chromatella" submetidas a doses crescentes de BAP e cultivadas em diferentes substratos. (\*\* P ≤ 0,05).

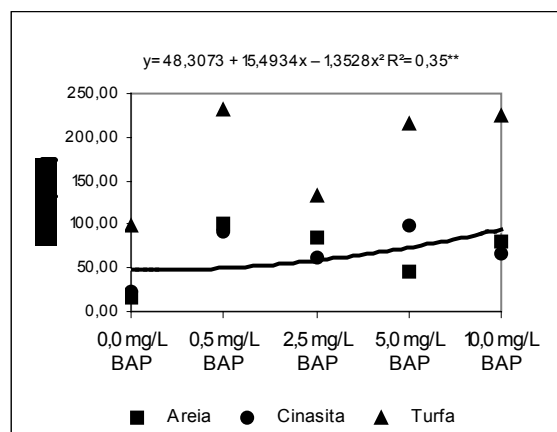


Figura 2. Área foliar de plantas de *Nymphaea x marliacea* "Chromatella" submetidas a doses crescentes de BAP e cultivadas em diferentes substratos. (\*\* P ≤ 0,05).

O número de raízes emitidas por fração de rizoma foi significativamente maior no substrato turfa, para as doses de BAP superiores a 0,5 mg L<sup>-1</sup> (Figura 3). Na ausência de BAP turfa e cinasita não diferiram significativamente para a variável número de raízes. Em relação ao comprimento total das raízes, os valores obtidos foram significativamente maiores na turfa para todas as doses de BAP (Figura 4). Este fato pode ser explicado pela menor densidade da turfa (602 kg m<sup>-3</sup>) comparada a cinasita e areia (1.016 e 1.557 kg m<sup>-3</sup>, respectivamente). A menor densidade do substrato facilita o crescimento das raízes, reduzindo a pressão necessária para a expansão do sistema radicular. Raízes que crescem impedidas mecanicamente são mais curtas, mais grossas e com formas mais irregulares que as que crescem sob condições de baixa pressão (Bennie, 1991 apud Fermino, 2003).

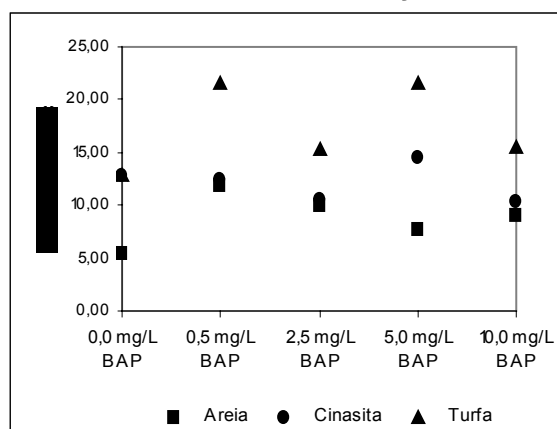


Figura 3. Número de raízes de plantas de *Nymphaea x marliacea* "Chromatella" submetidas a doses crescentes de BAP e cultivadas em diferentes substratos.

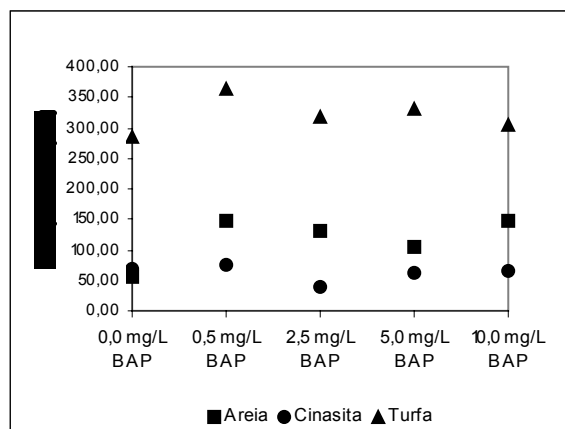


Figura 4. Comprimento de raízes de plantas de *Nymphaea x marliacea* "Chromatella" submetidas a doses crescentes de BAP e cultivadas em diferentes substratos.

Não houve diferença significativa entre as doses de BAP para os parâmetros avaliados ao final da segunda etapa do experimento. Este resultado reafirma o encontrado ao final da primeira fase e pode ser devido à diluição do regulador de crescimento em água quando da colocação dos fragmentos de rizoma nos tanques de cultivo.

## CONCLUSÕES

A correta escolha do substrato é fundamental para a produção de mudas de ninféia de qualidade superior, sendo a turfa mais eficiente que areia e cinasita.

Doses de BAP até 10,0 mg/L não interferem no desenvolvimento vegetativo de mudas de ninféia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DANTAS, J. L. L. et al. Propagação rápida da bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 133, p. 33-38, 1986.
- DUTRA, L.F. et al. Multiplicação *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.28, n.1, p-220-223, jan./fev. 2004.
- FERMINO, M.H. **Métodos de análise para caracterização física de substratos para plantas**. 2003. 89f. Tese de Doutorado em Fitotecnia. Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- FONSECA, M.R. Exemplos regionais de plantas. In: **Vida: Diversidade & Unidade**. 1998. Disponível em: <http://www.qualibio.ufba.br/064.html>. Acesso em 11 de novembro de 2006
- KELLY, J.W. & FRETT, J.J. Photoperiodic control of growth in water lilies. **HortScience**, 21(1): 151, 1986.
- PEREIRA, L.V. et al. Efeitos do BAP e TDZ na produção de mudas de bananeira – ‘maça’ através da propagação rápida ‘in vivo’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol.23, n.2, Jaboticabal, 2001
- SLOCUM, P.D.; ROBINSON, P. **Water gardening: water lilies and lotuses**. Portland, USA, 1996.
- TENNANT, D.A Test of modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Oxford, v.63, n.3, p.995-1001, 1975
- VILJOEN, C. & NOTTEN, A. *Nymphaea nouchali* Burm. f. var. *caerulea* (Sav.) Verdc. In: **Kirstenbosch National Botanical Garden**

## PALAVRAS CHAVE

Ninféia, planta aquática, propagação vegetativa, citocinina, substrato.

## Aspectos da germinação *in vitro* do barbatimão

Nogueira, Gabriela Ferreira<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Vargas, Daiane Peixoto<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG, e-mail: gabi\_bioufla@hotmail.com; <sup>2</sup>Professor Associado da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia, Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Campus Universitário, Caixa Postal 303, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 3829-1359; <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: dvbio@hotmail.com; <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: pedrosacorrea@yahoo.com.br; <sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista - CAPES, e-mail: fernandapereirasoes@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville pertence à família Fabaceae, sendo também conhecido como barbatimão-verdadeiro, barba-de-timão, charãozinho-roxo e cascada-vingindade. É uma espécie popularmente explorada, devido ao fato de sua casca possuir elevada concentração de taninos, cerca de 20% a 30% (Almeida, 1998).

Segundo Barradas & Handro (1974), o barbatimão apresenta uma grande quantidade de vagens e sementes produzidas, no entanto, a germinação é bastante irregular, como consequência da dormência tegumentar. Além disso, o ataque de pragas em suas sementes diminui significativamente sua propagação natural.

Barbatimão é uma espécie do Cerrado que apresenta grande importância econômica, em potencial, e que ainda necessita de estudos que possam auxiliar na produção e cultivo.

Assim, estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* são importantes, tanto para maximizar a taxa de germinação como para obter plântulas uniformes com qualidade genética e fitossanitária adequada.

O suprimento adequado em água, composição de gases e temperatura convenientes, assim como a luz, são requisitos fundamentais para a germinação. Por outro lado, Mayer & Poljakoff-Mayber (1989) afirmam que fatores como composição química e balanço hormonal influenciam no processo germinativo. Melo et al. (1979) apontam que o tratamento de sementes com giberelinas pode promover a germinação.

A presença de uma concentração maior ou menor de sais, ou outros compostos osmoticamente ativos, no meio de germinação, de acordo com a espécie e com o potencial osmótico de suas sementes, poderá ser o fator responsável pela adequada hidratação destas. Conseqüentemente, poderá viabilizar ou inviabilizar a ocorrência do processo germinativo, a partir de uma embebição adequada ou não (Dodd & Donovan, 1999).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar aspectos da germinação *in vitro* de barbatimão.

### MATERIAL E METODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, da Universidade Federal de Lavras, Setor de Fisiologia Vegetal.

Frutos maduros de barbatimão foram coletados de populações naturais, em área de formação campestre com fisionomia de cerrado *sensu stricto*, localizada no município de Ijaci, região Sul do estado de Minas Gerais. Após a coleta, as sementes foram retiradas manualmente dos frutos e, em seguida, selecionaram-se aquelas que apresentavam boa integridade física. Depois, foram transferidas para frasco de vidro transparente e armazenadas em geladeira, a 4°C, por 90 dias.

As sementes foram lavadas em água corrente por 20 minutos e transferidas para câmara de fluxo laminar, no qual foram imersas em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo por 5 minutos. Posteriormente, foram lavadas em água destilada e autoclavada e inoculadas em meios de cultura com diferentes concentrações de sais.

Foram testados os meios de cultura MS/2 (Murashige & Skoog, 1962), WPM/2 (Lloyd & Mc Cown, 1980) e água destilada/agar (sem a adição de sais), suplementados com 3% de sacarose e solidificados com agar 0,7% e o pH foi corrigido para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . A avaliação foi realizada aos 15 e 30 dias de incubação, sendo observada a porcentagem de sementes germinadas em cada tratamento, o comprimento da radícula e da parte aérea. Foi considerada germinada a semente que apresentava a radícula protrundida.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, cada uma composta por um tubo de ensaio, contendo uma semente. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico SISVAR, sendo as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes começaram a germinar a partir do quarto dia com a protrusão da radícula. Conforme a Figura 1, verificou-se que os meios de cultura MS/2, WPM/2 e água/agar, não apresentaram diferenças significativas no 15º dia de avaliação. Entretanto, aos 30º dias, os tratamentos apresentaram diferenças significativas, sendo o meio água/agar o que apresentou maior porcentagem de germinação, não diferindo estatisticamente do meio WPM/2, mas ambos diferem do meio MS/2 ( $p > 0,05$ ).

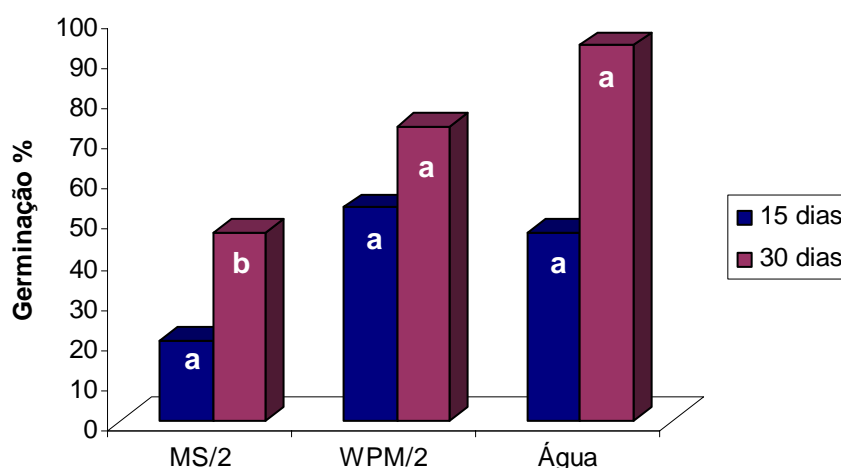


Figura 1. Porcentagem de germinação de *Stryphnodendron adstringens* aos 15 e 30 dias de cultivo, submetidos a diferentes concentrações de sais *in vitro* (colunas). \*Letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância.

De acordo com Nicioli (2006), a ausência de efeitos significativos de  $\text{GA}_3$  sobre a germinação do barbatimão indica a ausência de dormência embrionária e um balanço hormonal endógeno que não limita a germinação, mesmo na ausência do regular de crescimento. Constatou-se também, que as sementes dessa espécie apresentam a mesma porcentagem de germinação em faixas de pH de 4,8 a 6,8. Estes resultados concordam com as médias apresentadas na figura 1 (22,5a), os quais não foi utilizado o  $\text{GA}_3$  como fator de indução.

Observa-se na Figura 2, as plântulas germinadas no meio WPM/2 obtiveram maiores comprimentos médios (cm), tanto da radícula como da parte aérea, mas este não diferiu significativamente do tratamento água/agar.

O MS/2 apresenta maior concentração de sais na sua composição, com relação ao WPM/2, por isso, de acordo com Dodd & Donovan (1999), este poderá ser o fator responsável pela alteração na hidratação das sementes, o que influenciou o poder germinativo desta espécie, como também o crescimento da radícula e parte aérea das plântulas, conforme demonstrado na Figura 2.

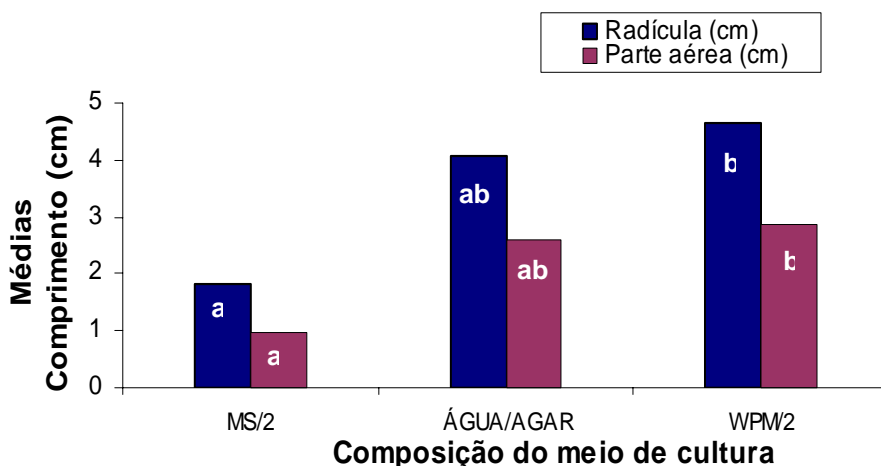


Figura 2. Avaliação das variáveis comprimentos da radícula (cm) e parte aérea (cm).

De acordo com os resultados obtidos, verifica-se a necessidade da utilização de meios de cultura menos concentrados no estabelecimento da germinação *in vitro* do barbatimão, sendo então, o segundo tratamento (água/agar) mais eficaz, como também o mais viável economicamente (Figura 1 e 2).

Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al. (2003) estudando *Lychnophora pinaster* Mart., onde os meios de cultura menos concentrados permitem melhor germinação dos embriões e crescimento das plântulas desta espécie.

## CONCLUSÃO

O tratamento água/agar é o mais indicado para a germinação *in vitro* do barbatimão, sendo, também, o mais viável economicamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S.P. de. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1998. 464p.
- BARRADAS, M.M.; HANDRO, W. Algumas observações sobre a germinação da semente do barbatimão, *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. (Leguminosae-Mimosoideade). **Boletim de Botânica**, v.2, p.139-150, 1974.
- DODD, G. L.; DONOVAN, L. A. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 86, n. 8, p. 1146-1153, Aug. 1999.
- LLOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p.421-427, 1980.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Germination stimulators and inhibitors: Their effects and their possible regulatory role. In: MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 4. ed. Toronto: Pergamon Press, 1989. p. 174-178.

MELO, J. T.; RIBEIRO, J. F; LIMA, V. L. G. F. Germinação de sementes de algumas espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 8-12, 1979.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, Mar. 1962.

NICIOLI, P.M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão** [*Stryphnodendron Adstringens* (Mart.) Coville] – **Fabaceae**. 2006. 103p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras.

SOUZA, A.V. de; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; CORRÊA, R.M.; CASTRO, E.M. de. Germinação de embriões e multiplicação *in vitro* de *Lychnophora pinaster* Mart. Ciênc. agrotec., Lavras. Edição Especial, p.1532-1538, dez., 2003.

PALAVRAS-CHAVES:

*Stryphnodendron adstringens*, sementes, meios de cultura.

## **Efeito do ácido indolbutírico e de estações do ano no enraizamento de estacas de *Cordia leucocephala* Moric.**

Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>1</sup>; Beckmann-Cavalcante, Márkilla Zunete<sup>2</sup>, [Iha, Liriane Laquardia](#)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [zunete@yahoo.com.br](mailto:zunete@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [liriiha@yahoo.com.br](mailto:liriiha@yahoo.com.br);

*Cordia leucocephala* Moric. é um arbusto lenhoso e florífero, nativo do Brasil, de 2-3m de altura, muito ramificado, com folhas ovaladas, denteadas, ásperas e pilosas; floresce quase que o ano todo, produzindo belas inflorescências de coloração branca. Um dos problemas de utilização é a dificuldade de formação de mudas; produz sementes que apresentam baixa germinação, bem como, dificuldade de propagação assexuada. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do ácido indolbutírico (AIB) e da estação do ano no enraizamento de estacas de *Cordia leucocephala*. O Experimento foi realizado no Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais da UNESP, Campus de Jaboticabal, SP. O delineamento experimental foi em blocos casualizados; foram estudados 8 tratamentos, em esquema fatorial, ou seja, 2 estações (verão e inverno) combinadas com 4 concentrações de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg.kg<sup>-1</sup>) com 4 repetições, perfazendo um total de 32 parcelas, sendo que cada parcela constituiu-se de 10 estacas. Foram retiradas estacas herbáceas de matrizes localizadas no Viveiro; que foram preparadas mantendo 3 gemas, retirando-se o folíolo basal. As estacas foram tratadas com AIB, via pó, nas diferentes concentrações, de acordo com o tratamento, e colocadas para enraizar em bandejas contendo vermiculita média, que foram colocadas sob nebulização intermitente, em estufa coberta. Após 60 dias anotou-se o número de estacas enraizadas, número, comprimento médio e massa seca de raízes. Os dados coletados, transformados quando necessários, foram analisados estatisticamente; as médias das estações do ano foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) e foi realizada a análise de regressão polinomial a fim de se verificar o comportamento das variáveis em função do aumento da concentração de AIB. Verificou-se que a maior porcentagem de enraizamento foi obtida no verão (48%) quando comparada com o inverno (78%); de forma semelhante, maior número de raízes foi obtido no verão (5,87) quando comparado com o inverno (3,20); relacionado ao comprimento médio das raízes, não houve diferença significativa entre as duas estações cuja média foi de 2,41 cm, porém, no inverno as raízes apresentaram maior massa seca (25,19 mg) quando comparada com o verão (11,63 mg). O uso do AIB, foi efetivo no aumento da porcentagem de enraizamento, com ajuste de regressão cúbica, observando-se 70% de enraizamento na concentração de 1000 mg.kg<sup>-1</sup>; para número de raízes, houve ajuste de regressão quadrática, observando-se maior número (10,12) na concentração de 2000 mg.kg<sup>-1</sup>; para comprimento médio de raízes, a interação foi significativa, no verão houve ajuste de regressão linear, observando-se maior média (3,69 cm) na concentração de 4000 mg.kg<sup>-1</sup> e no inverno, ajuste de regressão quadrática, observando-se maior comprimento (6,23 cm) na concentração de 2000 mg.kg<sup>-1</sup>; para massa seca de raízes, tanto no verão quanto no inverno; houve ajuste de regressão linear, com maior media (32,45 mg) na concentração de 4000 mg.kg<sup>-1</sup>.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Cordia leucocephala*, enraizamento, ácido indolbutírico

## Germinação *in vitro* de moringa (*Moringa oleifera* L.)

Machado, Caroline Araújo<sup>1</sup>; Freire, Karla Cristina Santos<sup>2</sup>; Oliveira, Lucas Fonseca Menezes<sup>3</sup>; Lédo, Ana da Silva<sup>4</sup>; Rangel, Maria Salete Alves<sup>5</sup>; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: carol@cpatc.embrapa.br; <sup>2</sup> Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1396, email: karla@cpatc.embrapa.br; <sup>3</sup>Estagiário UFS/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: lucas@cpatc.embrapa.br; <sup>4</sup>Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: analedo@cpatc.embrapa.br; <sup>5</sup>Pesquisadora da EPEAL, email: salete@cpatc.embrapa.br; <sup>6</sup>Pesquisadora do Deagro, email: sarah@cpatc.embrapa.br

A moringa (*Moringa oleifera* L.) é uma árvore da família *Moringaceae*, e destaca-se pelo uso intensivo das propriedades químicas de suas sementes, sendo um dos mais promissores coaguladores naturais. O cultivo *in vitro* é um procedimento significativo na propagação de diferentes espécies. O objetivo do presente trabalho foi obter o protocolo para o estabelecimento inicial de plântulas assépticas de moringa a partir da germinação *in vitro*. Sementes coletadas de vagens maduras de plantas adultas foram lavadas em água corrente com remoção do tegumento e, em câmara de fluxo laminar, submetidas à imersão em álcool 70% (v/v) por 30 segundos e, em seguida, em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (NaOCl): T1=1-1,25% (v/v) e T2= 2-2,50% (v/v) por 10 minutos. As sementes foram inoculadas em diferentes meios de cultura (T1 = MS, T2 = ½ MS e T3 = água e ágar 0,6%). O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 3 x 2 (três meios de cultura x duas concentrações de NaOCl) com quatro repetições. Cada parcela foi constituída de três frascos contendo duas sementes. Foi avaliada aos 10 dias a porcentagem de germinação e aos 30 dias a porcentagem de contaminação. O início da germinação com a emissão da radícula foi observado aos sete dias após a inoculação. Não houve efeito significativo da interação entre os fatores e da concentração de NaOCl na porcentagem de germinação. Entretanto, nos meios de cultura T2 e T3 observou-se maior porcentagem de germinação das sementes (54,17%) quando comparados com T1 (16,67%). Não houve efeito significativo dos fatores na porcentagem de contaminação que foi apenas de 1,4%. Observou-se nas primeiras 24 horas após a inoculação das sementes o início da coagulação do meio de cultura. Os cotilédones das sementes de moringa contêm polissacarídeos com forte poder aglutinante e propriedades de coagulação. A remoção do tegumento das sementes proporcionou o contato desses polissacarídeos com substâncias presentes no meio de cultura que pode ter interferido na germinação das sementes e no desenvolvimento das plântulas. Observaram-se 94,44% de coagulação de meios de cultura inoculados com sementes submetidas a 2,5% de NaOCl e 43% de coagulação em meios com sementes tratadas com 1,25% de NaOCl. Não houve diferenças significativas entre os meios de cultura, sendo observados 70,83%; 65,00% e 70,83% de coagulação dos meios T1, T2 e T3, respectivamente. Estudos comparativos sobre a germinação *in vitro* de sementes com e sem tegumento deverão ser conduzidos para o estabelecimento de um protocolo de obtenção de plântulas assépticas.

### PALAVRAS-CHAVE

*Moringa oleifera* L.; *Moringaceae*; cultivo *in vitro*; sementes.



## ***In vitro* germination of *Podophyllum hexandrum* seeds.**

Silva, Cláudia Gontijo<sup>1,2</sup>; Davey, Michael Raymond<sup>2</sup>; Power, John Brian<sup>2</sup>; Shaw, Julian Mark Hugh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fundação Ezequiel Dias, Divisão de Ciências Farmacêuticas, Rua Conde Pereira Carneiro 80, CEP 30510-010, Belo Horizonte, Minas Gerais, fax (31)3371-9520, email: [cgontijo@funed.mg.gov.br](mailto:cgontijo@funed.mg.gov.br);

<sup>2</sup>University of Nottingham, School of Biosciences, Sutton Bonington Campus, Loughborough LE12 5RD, UK, fax +44(0)115 951-3251, email: [mike.davey@nottingham.ac.uk](mailto:mike.davey@nottingham.ac.uk); <sup>3</sup>Royal Horticultural Society, 2 Albert Street, Stapleford, Nottingham NG9 8DB, UK, email: [Orcreg@aol.com](mailto:Orcreg@aol.com).

Considerable interest has centred on the *Podophyllum*-based lignans as lead compounds for the development of new drugs. The successful introduction of the anticancer drugs etoposide<sup>®</sup> and teniposide<sup>®</sup> and the development of new derivatives such as etopophos<sup>®</sup> have created a demand for podophyllotoxin. Currently it is obtained from the rhizomes and roots of wild populations of *Podophyllum hexandrum*, and thus the availability of this natural product is limited. There is an urgent need for a maintainable supply of *P. hexandrum* plants, a rare and threatened species. In the present work, a protocol was developed for the sterilisation and germination of seeds of *P. hexandrum*. Ripe fruits were harvested from seed-derived plants cultivated at the University of Nottingham. Seeds were removed from fruits, left for 20 – 30 min in running water, and washed three times with sterile, reverse-osmosis water. Seeds were surface sterilised in (5, 10, 15 and 20%; v:v) Domestos bleach solution with 0.2% (v:v) Tween 20 for 5, 10, 15 and 20 min, followed by three washes in sterile, reverse-osmosis water. The effect of storage as a pre-treatment for the germination of seeds was also investigated. Sterilised seeds were kept in Petri dishes and maintained in the dark at 22 ± 1°C for 30 d. Ten stored seeds were cultured per dish containing a moist sterile filter paper disk. Cultures were incubated in the dark (22 ± 1°C). Seeds with emerged radicles were individually transferred onto full-strength MS medium containing IAA (0.00875 mg l<sup>-1</sup>) in combination with kinetin (0.03 mg l<sup>-1</sup>) and folic acid (0.01 mg l<sup>-1</sup>) designated BGS medium. Seeds were also transferred onto full-strength MS medium lacking growth regulators (MSO medium). Media were supplemented with 3.0% (v:v) sucrose and solidified with 0.8% (w:v) agar. Cultures were maintained under diffuse light (3.8 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) at 22 ± 1°C for three weeks and then transferred to a 16 h photoperiod under fluorescent light (42 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) at 22 ± 1°C. Seed sterilisation was best achieved with 20% (v:v) Domestos and 0.2% (v:v) Tween 20 for 20 min. The results from these studies confirm that a post-harvest ripening period of 30 d was required for *in vitro* seed germination. If seeds are stored in moist and dark conditions, spontaneous germination occurs within 35 to 40 d. Axenic cultures were successfully established either on full-strength BGS medium with growth regulators or full-strength MS medium lacking growth regulators. However, the overall growth of plants showing a normal morphology was superior on the latter medium. The *in vitro*-grown seedlings can be used as an alternative source of plant material for tissue culture experiments.

### Keywords

*Podophyllum hexandrum*; lignan; podophyllotoxin; *in vitro* germination; seeds.

## Germinação *in vitro* de sementes de nim utilizando diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

Rodrigues, Marcelo<sup>1</sup>, Renato Paiva<sup>2</sup>; Rezende, Rodrigo Kelson Silva<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduando de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: [marcel.or.7@hotmail.com](mailto:marcel.or.7@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br).; <sup>3</sup>Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [rkelsonsr@yahoo.com.br](mailto:rkelsonsr@yahoo.com.br), <sup>4</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br), <sup>5</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

*Azadirachta indica* A. Juss, popularmente conhecida como nim, é uma espécie arbórea nativa da Índia, pertencente à família Meliaceae. Destaca-se por possuir substâncias de ação inseticida, fungicida, bactericida e nematicida (Martinez,1998). Segundo Schmitterer (1995), citado por Pletsch (1997), dentre essas substâncias, estão centenas de princípios ativos.

Dos compostos químicos presentes no nim com atividade biológica, o mais ativo é a azadirachtina, que por sua vez possui semelhança com o hormônio da ecdise dos insetos, desse modo, atua alterando essa transformação, podendo inclusive impedi-la (Martinez, 1998). Apresenta ainda, efeito repelente e intoxicante, afetando a biologia e desenvolvimento, oviposição e a viabilidade dos ovos (Neves & Nogueira, 1996).

A micropropagação oferece muitas vantagens para a prática agrícola, como a maior rapidez na obtenção de um grande número de mudas ou materiais vegetais, e a erradicação de pragas e doenças da cultura (Pletsch, 1997). A clonagem *in vitro* é particularmente útil para conservação de espécies ameaçadas, e a propagação de espécies recalcitrantes ou de ciclo de vida longo. Também pode ser aplicada as espécies vegetais produtoras de princípios ativos úteis a serem explorados economicamente, da mesma forma que a micropropagação de espécies leguminosas, frutíferas, florestais e ornamentais (Kerbauy,1997).

A produção em larga escala de clones, via cultura de tecidos, surge como importante alternativa para a produção de mudas selecionadas e sadias de nim. Essa técnica permite o isolamento asséptico de células ou tecidos da planta-mãe e seu cultivo em condições controladas, sendo que a expressão da totipotencialidade celular permite a regeneração de plantas inteiras idênticas a matriz (Tores & Caldas, 1990). A micropropagação apresenta-se com grande superioridade em relação aos métodos vegetativos convencionais por incluir elevadas taxas de multiplicação, produção de material livre de doenças e pequeno espaço requerido para multiplicar um grande número de plantas (Torres & Caldas, 1990).

O presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> no processo e taxa de germinação de sementes de nim, desse modo, estabelecendo posteriormente condições controladas adequadas para possível propagação *in vitro* da espécie.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As sementes utilizadas nesse trabalho foram coletadas na cidade de São

José do Rio Preto, estado de São Paulo, as mesmas foram coletadas de cinco árvores diferentes e posteriormente transportadas para a cidade de Lavras-MG. Os frutos estavam ainda verdes, porém prontos para o amadurecimento, cada fruto contém apenas uma semente, no qual foram submetidas aos métodos de assepsia, logo depois, para o cultivo *in vitro*. Os procedimentos de assepsia foram: desinfestação das sementes em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2,0% de cloro ativo durante 10 minutos. Ao final desse processo, as sementes foram levadas para câmara de fluxo para repetir esse procedimento, porém com imersão no hipoclorito durante 20 minutos, ao final desse período, foram lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada, banhadas no fungicida Derosal e inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultivo previamente autoclavado a 120 °C durante 20 minutos. O meio de cultivo utilizado foi WPM (Lloyd & McCown, 1981), 1% de sacarose, 0,6% de ágar e pH = 5,8, o mesmo foi suplementado com diferentes concentrações do regulador de crescimento GA<sub>3</sub>, totalizando 5 tratamentos como descrito: T0 = 0 mg L<sup>-1</sup>; T1 = 3 mg L<sup>-1</sup>; T2 = 6 mg L<sup>-1</sup>; T3 = 9 mg L<sup>-1</sup> e T4 = 12 mg L<sup>-1</sup>.

Após a inoculação, as sementes serão mantidas em sala de crescimento a 27 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 25 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Aos 30 dias de cultivo, a porcentagem de sementes germinadas foi analisada. O aspecto do fruto e da semente, bem como das plantas germinadas *in vitro* de nim após 30 dias de cultivo em meio WPM com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, são apresentados na Figura 1.

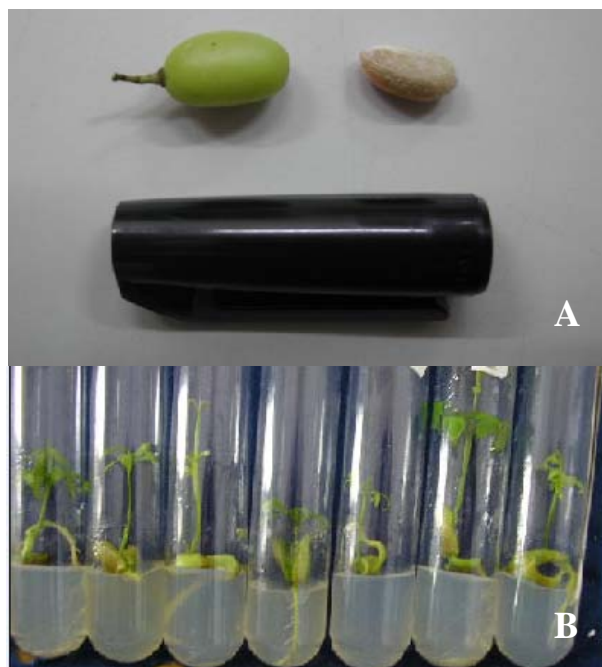


Figura 1. Aspecto do fruto e da semente (A) e das plantas germinadas *in vitro* (B) de nim (*Azadirachta indica* A.Juss) após 30 dias de cultivo em meio WPM, com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final das análises, verificou-se que com o aumento da concentração de GA<sub>3</sub>, a taxa de germinação diminuiu de modo diretamente proporcional, ou seja, as sementes de

nim são inibidas de germinarem quanto maior foi a concentração do regulador de crescimento aplicado.

A maior porcentagem de germinação foi apresentada no meio WPM na ausência de regulador de crescimento, aproximadamente 90%. Na maior concentração de GA<sub>3</sub> utilizada, houve a menor porcentagem de germinação, cerca de 20% (Figura 2).

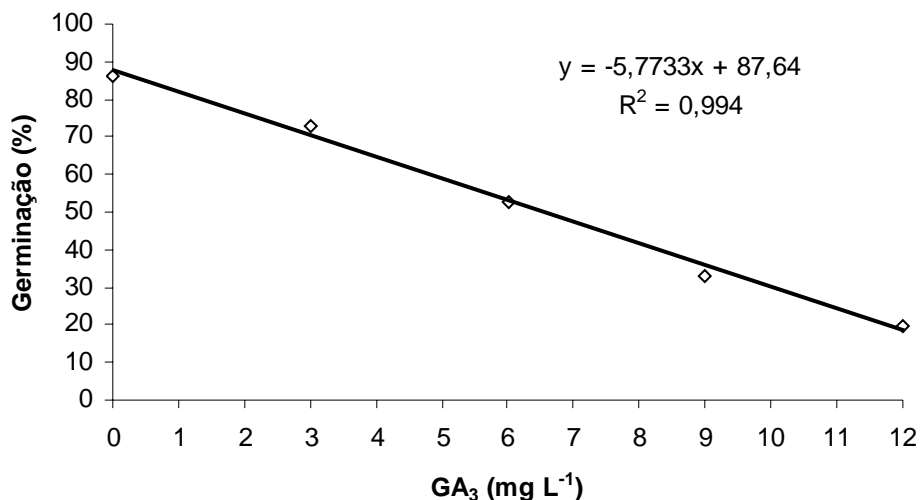


Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de nim (*Azadirachta indica* A.Juss), de acordo com o aumento da concentração de GA<sub>3</sub>.

Uma das explicações para esse fato seria o desbalanço hormonal causado pelo GA<sub>3</sub>. As sementes de nim já possuíam uma concentração hormonal ótima para germinação, portanto, com o aumento da aplicação de GA<sub>3</sub>, o mesmo tornou-se tóxico para as sementes.

Sousa et al. (2002) também verificou que o ácido giberélico não influenciou a germinação de sementes dos porta-enxertos cítricos estudados.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas, conclui-se que o meio de cultura apropriado para germinação *in vitro* de nim é o meio WPM na ausência de GA<sub>3</sub>.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.30-33, maio 1997.

LLOYD, G; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1981.

MARTINEZ, S.S.; LIMA, J. de; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agrônômica e fitoquímica de neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedências em vários locais da região sul e

sedeste do Brasil. **XVII Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Resumo, p.831, agosto 1998.

NEVES, B.P.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (Azadirachta indica A .Juss)** Goiânia:Embrapa, CNPAF; APA,1996.32p. (Circular Técnica,28).

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.12-15, maio 1997.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica* . **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.35, p.271-297, 1990.

SOUSA, H. U. de; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; FERREIRA, E. A.. Efeito do ácido giberélico sobre a germinação de sementes de porta-enxertos de cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 496-499, agosto 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990.433 p .

PALAVRAS-CHAVE:

*Azadirachta indica*, giberelina, cultivo *in vitro*.

## Número de nós e concentrações de AIB influenciando na indução de enraizamento e brotação de *Dendrobium nobile*.

Vilela, Ximena Maira Souza<sup>1</sup>; Pasqual, Moacir<sup>1</sup>; Araújo, Aparecida Gomes<sup>1</sup>; Villa, Fabíola<sup>1</sup>; Ribeiro, Márcia de Nazaré Oliveira.

\* Apoio Financeiro FAPEMIG

<sup>1</sup> Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. Caixa Postal 3037, 37.200-000. email: ximenavilela@yahoo.com.br, mpasqual@ufla.br.

### INTRODUÇÃO

Conhecida como “Olho de Boneca”, a espécie *Dendrobium nobile* da família das Orchidaceae é uma das orquídeas mais cultivadas e colecionadas, destacando-se em nível mundial entre as espécies ornamentais pela facilidade de cultivo, custo relativamente baixo, quando comparado à outras espécies da família e sobretudo pela beleza das flores. Além do largo cultivo, esta espécie atualmente vem sendo muito utilizada para hibridização de orquídeas, existindo cerca de 77 híbridos registrados (Baker & Baker, 1996). *D. nobile* caracteriza-se também por ser uma planta na qual seu cultivo é bastante estudado, conhecido e simples, além disto esta espécie e seus híbridos são extremamente fortes, sobrevivendo a variações de temperatura.

A produção comercial de mudas desta orquídea geralmente é feita por clonagem ou pela separação dos pseudobulbos das touceiras originadas de uma planta matriz, com posterior brotação e enraizamento para formação de mudas, tal produção, também chamada de estaquia, diminui gastos com uso de técnicas de laboratório tornando-a mais viável para pequenos produtores.

A imersão de estacas em auxina promove aumento na relação auxina/citocinina no interior da planta, acarretando uma série de transformações fisiológicas e morfológicas ao desenvolvimento. Dentre as auxinas, as mais conhecidas e utilizadas são o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftaleno acético (ANA) (Paiva & Gomes, 1995).

Com objetivo de otimizar a produção de mudas de *D. nobile*, estudou-se as concentrações de ANA e número de nós da estaca na haste do caule dessa orquídea.

### METODOLOGIA

As estacas foram retiradas de touceiras cultivadas por colecionador particular em tronco de árvore sem nenhum tratamento prévio. As folhas foram cortadas e as estacas imersas em recipiente contendo água por 18 horas, com objetivo de facilitar a remoção das películas esbranquiçadas. Após este período cada estaca foi lavada individualmente em água corrente retirando-se as películas, evitando-se assim a possibilidade de fungos e bactérias se alojarem debaixo dela. Em seguida fez-se a assepsia das mesmas com hipoclorito de sódio comercial (água sanitária 30%) durante 20 minutos. Posteriormente, as estacas foram divididas em estacas contendo um, dois e três nós e armazenadas em bandejas plásticas para secagem da solução de hipoclorito.

No dia seguinte, foi realizada a montagem do experimento com estacas que continham um, dois e três nós e concentrações de ANA (0; 458,1; 916,1 e 1374,1 mg L<sup>-1</sup>). O tempo de imersão das estacas nas concentrações de ANA foi de 3 minutos.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4 (número de nós e concentrações de ANA), totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições de cinco estacas cada. As cinco estacas de cada parcela eram de partes iguais e apesar de todas as estacas não possuírem números iguais de gemas as parcelas foram montadas homogêneas com dezenove gemas.

As repetições foram colocadas em bandejas plásticas sobre substrato casca de arroz carbonizada. As bandejas foram perfuradas nos cantos e no centro para que ocorresse drenagem da água. O experimento foi mantido em casa de vegetação localizada no Departamento de Agricultura da UFLA com irrigação por microaspersão regulada pela umidade do ar.

Três dias após a montagem do experimento foi feita uma pulverização com fungicida Cercobim (1g L<sup>-1</sup>). Decorridos quatro meses da instalação, avaliou-se a porcentagem (%) e comprimento (cm) de brotos e número e comprimento (cm) de raízes. Para análise dos resultados foi utilizado o software Sisvar (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela verifica-se interação significativa a 5% de probabilidade apenas para o comprimento da maior raiz de *Dendrobium nobile*. Nas variáveis número de brotos, número de raízes e comprimento de brotos observou-se significância apenas para número de nós.

Tabela 1. Análise de variância para número de broto, número de raízes, comprimento de brotos e comprimento da maior raiz de estacas de *Dendrobium nobile*, com diferentes número de nós e concentrações de AIB. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrados médios			
		NB	NR	CB	CMR
ANA	3	0,069 <sup>n.s.</sup>	0,1026 <sup>n.s.</sup>	0,0317 <sup>n.s.</sup>	0,0294 <sup>n.s.</sup>
Nós	2	0,133*	0,3688*	1,3917*	0,2010*
ANA x nós	6	0,049 <sup>n.s.</sup>	0,1349 <sup>n.s.</sup>	0,3258 <sup>n.s.</sup>	0,2707*
Blocos	3	0,0381	0,0767	0,1946	0,3004
Erro	33	0,033	0,1198	0,079	0,101
Total	47				
CV		20,90	28,09	27,21	21,73

\* = significativo a 5% de probabilidade; n.s. = não significativo

NB = número de brotos; NR = número de raízes; CB = comprimento dos brotos; CMR = comprimento da maior raiz.

Maior número de brotos de *D. nobile* foram observadas em estacas que continham 2 nós, independente da concentração de ANA utilizada (Tabela 2).

Com relação a variável número de raízes a interação entre os fatores tipos de estaca e concentrações de ANA não foi significativa. Verificou-se significância apenas para número de nós, sendo que o número de raízes na base das estacas não diferiu estatisticamente (Tabela 2). Grande número de fatores, de natureza endógena e exógena, afetam a iniciação e o desenvolvimento de raízes. Entre esse, o tipo de estaca e época de colheita da estaca é apontado como de grande importância para o enraizamento (Chalfun et al., 1997).

Na Tabela 2, observa-se para comprimento de brotos, significância apenas para número de nós nas estacas de *D. nobile*. Maior comprimento de brotos foi verificado em estacas que continham dois e três nós. Em estudos com três espécies de *Passiflora*, Braga et al. (2006) afirmaram que maior comprimento de brotos ocorreram em estacas semi-lenhosas que continham dois ou três nós.

Tabela 2. Número de nós em estacas influenciando o número de brotos, número de raízes e comprimento de brotos de *Dendrobium nobile*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Número de nós/estaca	Número de brotos	Número de raízes	Comprimento de brotos
1	0,793 b	1,092 a	1,282 b
2	0,971 a	1,393 a	1,816 a
3	0,849 b	1,211 a	1,767 a

Valores seguidos de letras minúsculas diferem entre si na coluna.

Na Tabela 1 observa-se interação significativa a 5% de probabilidade para o regulador de crescimento e número de nós, sendo resultados significativos apenas com a utilização de 916,1 e 1374,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA. Dentro de 916,1 mg L<sup>-1</sup> do regulador, o comprimento da maior não diferiu estatisticamente em relação ao número de nós, porém resultados positivos foram observados em estacas que continham três nós. Para maiores

concentrações de ANA (1374,1 mg L<sup>-1</sup>) melhores resultados para essa variável foram verificados em estacas com um ou dois nós presentes.

As auxinas são mencionadas por diversos autores como efetivas não somente na rizogênese em estacas, mas também na melhoria da qualidade do sistema radicular (Lund et al., 1996). Galle (1995) afirma que o uso de reguladores vegetais para enraizamento não foi essencial para a maior parte de cultivares de azaléia, porém, quando na presença desses, induzem a formação de raízes mais rapidamente e com maior uniformidade, como verificado nesse trabalho.

Segundo Zuffellato-Ribas & Rodrigues (2001), a auxina, dependendo da concentração, inibe ou estimula o crescimento e a diferenciação dos tecidos, existindo um nível ótimo para estas respostas fisiológicas, dependendo diretamente dos níveis endógenos dessas substâncias e o tipo de estaca. O que pode explicar o fato de altas concentrações de ANA favorecerem o comprimento das raízes dessa espécie de orquídea.

A estação (coleta e montagem) em que foi conduzido o experimento pode ter influenciado negativamente o desenvolvimento de brotos e raízes das estacas. De acordo com Zuffellato-Ribas & Rodrigues (2001), em estacas herbáceas retiradas durante o verão, os ramos estão em pleno crescimento e apresentam maiores concentrações de auxinas em relação àquelas que são retiradas no outono e inverno. E isso pode indicar que se o experimento fosse conduzido numa estação mais quente os resultados poderiam ser melhores, apresentando médias superiores, como um todo.

Alguns explantes que pertenciam à parte basal das estacas, amarelaram e morreram, não chegando a desenvolver raízes ou brotos, tal fato ocorreu também com ramos apicais de aceroleira com 10 cm, quando se avaliou comprimentos de 10, 15 e 20 cm (Lima, 2006), sugerindo que a morte possa ter ocorrido devido à baixa disponibilidade de reservas nutritivas necessárias para sustentar seu desenvolvimento, já que a estaca de *Dendrobium* é mais fina na base (ao contrário da aceroleira), menos carnoso e com tecido mais lignificado.

Apesar da concentração de 1374,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA aplicada em estacas com dois nós ter apresentado melhores respostas para comprimento da maior raiz (1,755 cm), a sua utilização não é recomendada, já que com de uma menor concentração desse regulador (916,1 mg L<sup>-1</sup>) os resultados foram semelhantes (1,777 cm) utilizando-se estacas com três nós.

## CONCLUSÕES

Estacas com dois nós, sem imersão em AIB, proporcionam resultados mais satisfatórios na obtenção de mudas de *Dendrobium nobile*.

## REFERÊNCIAS

BAKER, C.O.; BAKER, M.L. **Orchid Species Culture: *Dendrobium***. Hardcover, 1996. 850p.

BRAGA, M.F.; SANTOS, E.C.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SOUSA, A.A.T.C.; FALEIRO, F.G.; REZENDE, L.N.; JUNQUEIRA, K.P. Enraizamento de três espécies silvestres de *Passiflora*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.2, p.284-288, 2006.

CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN, A.J.; JESUS, A.M.S. Efeito da auxina e do anelamento no enraizamento de estacas semilenhosas de azaléia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.21, n.4, p. 516-520, 1997.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos, 2000, **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GALLE, F.C. **Azaleas**. Portland: Timber, 1995. 519p.



LIMA, R. de L. S. de; SIQUEIRA, D. L. de; WEBER, O. B.; CAZETTA, J.O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira Fruticultura**. Jaboticabal, v.28, n.1, p.83-86, 2006.

LUND, S.T.; SMITH, A.G.; HACKETT, W.P. Cuttings of tobacco mutant, rac, undergo cell divisions but do not initiate adventitious roots in response to exogenous auxins. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, 372-380, 1996.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 40 p. (Boletim, 322).

ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RODRIGUES, J.D. **Estaquia**: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba: UFPR, 2001. 39p.

PALAVRAS-CHAVE: Orchidaceae, auxina, estaquia, propagação vegetativa.

## **Efeito da sacarose associada com diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> na taxa de germinação *in vitro* de sementes de nim**

Rodrigues, Marcelo<sup>1</sup>, Paiva<sup>2</sup>, Renato; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>3</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>4</sup>; Martinotto, Cristiano<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Graduando de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: [marcel.or.7@hotmail.com](mailto:marcel.or.7@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br).; <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br), <sup>4</sup>Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br), <sup>5</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [cmartinotto@yahoo.com.br](mailto:cmartinotto@yahoo.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

*Azadirachta indica* A. Juss, popularmente conhecida como nim, é uma espécie arbórea nativa da Índia, pertencente a família Meliaceae. Destaca-se por possuir substâncias de ação inseticida, fungicida, bactericida e nematocida (Martinez,1998). Segundo Schmutterer (1995), citado por Pletsch (1997), dentre essas substâncias, estão centenas de princípios ativos.

Entre os compostos químicos presentes no nim com atividade biológica, o mais ativo é a azadirachtina, que por sua vez possui semelhança com o hormônio da ecdise dos insetos, desse modo atua alterando essa transformação, podendo inclusive impedi-la (Martinez, 1998). Apresenta ainda, efeito repelente e intoxicante, afetando a biologia e desenvolvimento, oviposição e a viabilidade dos ovos (Neves & Nogueira, 1996).

A micropropagação oferece muitas vantagens para a prática agrícola, como a maior rapidez na obtenção de um grande número de mudas ou materiais vegetais, e a erradicação de pragas e doenças da cultura (Pletsch, 1997). A clonagem *in vitro* é particularmente útil para conservação de espécies ameaçadas, e a propagação de espécies recalcitrantes ou de ciclo de vida longo. Também pode ser aplicada as espécies vegetais produtoras de princípios ativos úteis a serem explorados economicamente, da mesma forma que a micropropagação de espécies leguminosas, frutíferas, florestais e ornamentais (Kerbaui,1997)

Concluimos que a produção em larga escala de clones, via cultura de tecidos, surge como importante alternativa para a produção de mudas selecionadas e sadias de nim. Essa técnica permite o isolamento asséptico de células ou tecidos da planta-mãe e seu cultivo em condições controladas, sendo que a expressão da totipotencialidade celular permite a regeneração de plantas inteiras idênticas a matriz (Tores & Caldas,1990). A micropropagação apresenta-se com grande superioridade em relação aos métodos vegetativos convencionais por incluir elevadas taxas de multiplicação, produção de material livre de doenças e pequeno espaço requerido para multiplicar um grande número de plantas (Torres & Caldas, 1990).

O presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito do GA<sub>3</sub> e da sacarose na taxa de germinação de sementes de nim e no desenvolvimento das plântulas.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As sementes utilizadas nesse trabalho foram coletadas na cidade de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, as mesmas foram coletadas de 5 árvores diferentes e posteriormente transportadas durante 1 dia, para a cidade de Lavras/MG. Os frutos estavam ainda verdes, porém prontos para o amadurecimento, cada fruto contém apenas uma semente, no qual foram submetidas aos métodos de assepsia, logo depois, para o cultivo *in vitro*. As condições assépticas foram: desinfestação das sementes em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2,0% de cloro ativo durante 10 minutos. Ao final desse

processo, as sementes foram levadas para câmara de fluxo para repetir esse procedimento, porém com imersão no hipoclorito durante 20 minutos, ao final desse período, foram lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada, banhadas no fungicida Derosal e inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultivo previamente autoclavado a 120 C durante 20 minutos. O meio de cultivo utilizado foi WPM (Lloyd & McCown, 1981), solidificado com 0,6% de agar e pH = 5,8. Os tratamentos testados foram: T0 = WPM; T1 = WPM + GA<sub>3</sub>; T2 = WPM + sacarose; T3 = WPM + GA<sub>3</sub> + sacarose. A concentração de GA<sub>3</sub> utilizada foi de 8,0 mg L<sup>-1</sup> e de sacarose 1,5%.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento a 27 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 25 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Aos 30 dias de cultivo, a percentagem de sementes germinadas, bem como o número de brotos, de folhas e de raízes foram analisadas. O aspecto dos frutos e das plantas de nim germinadas *in vitro* são apresentados na Figura 1.

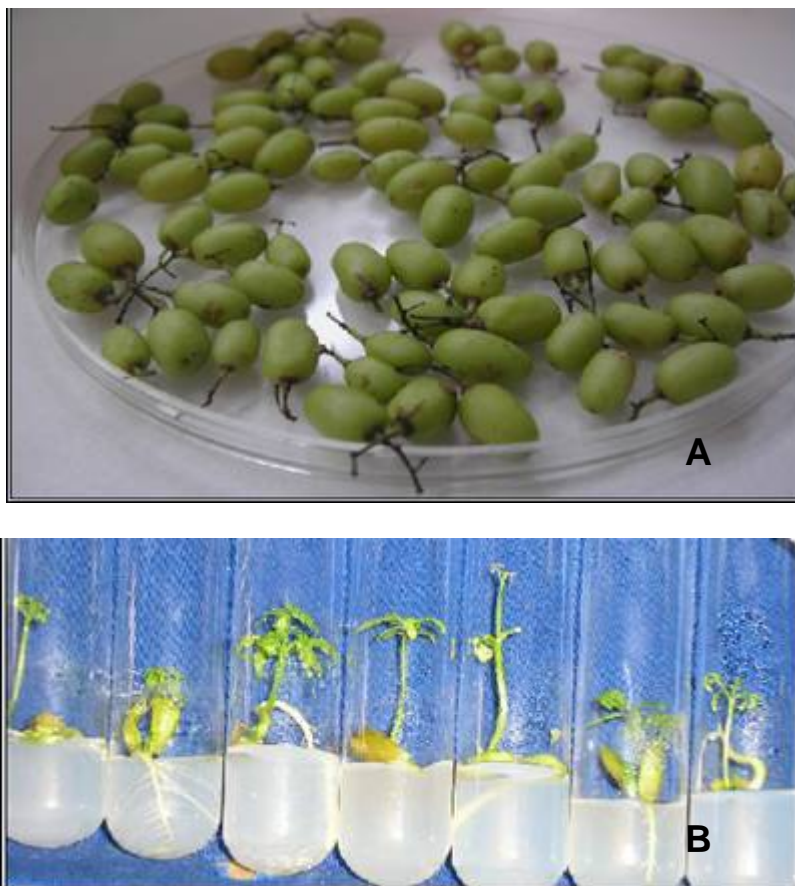


Figura 1. Aspecto dos frutos (A) e das plantas de nim (B) germinadas *in vitro*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou diferença estatística entre os quatro tratamentos. Podemos evidenciar que o tratamento controle possui maior taxa de germinação em relação aos outros tratamentos (aproximadamente, 80%). Além disso, podemos observar que ao associar GA<sub>3</sub> e sacarose, houve uma redução significativa na taxa de

germinação (30%). O GA<sub>3</sub>, provavelmente em alta concentração, causou um desequilíbrio hormonal nas sementes, e a sacarose dificultou o processo osmótico de absorção de água. Quando associados, esses dois fatores promoveram uma redução brusca na taxa de germinação (Figura 2A). As demais variáveis avaliadas são apresentadas na Figura 2B, 2C, 2D e 2E.

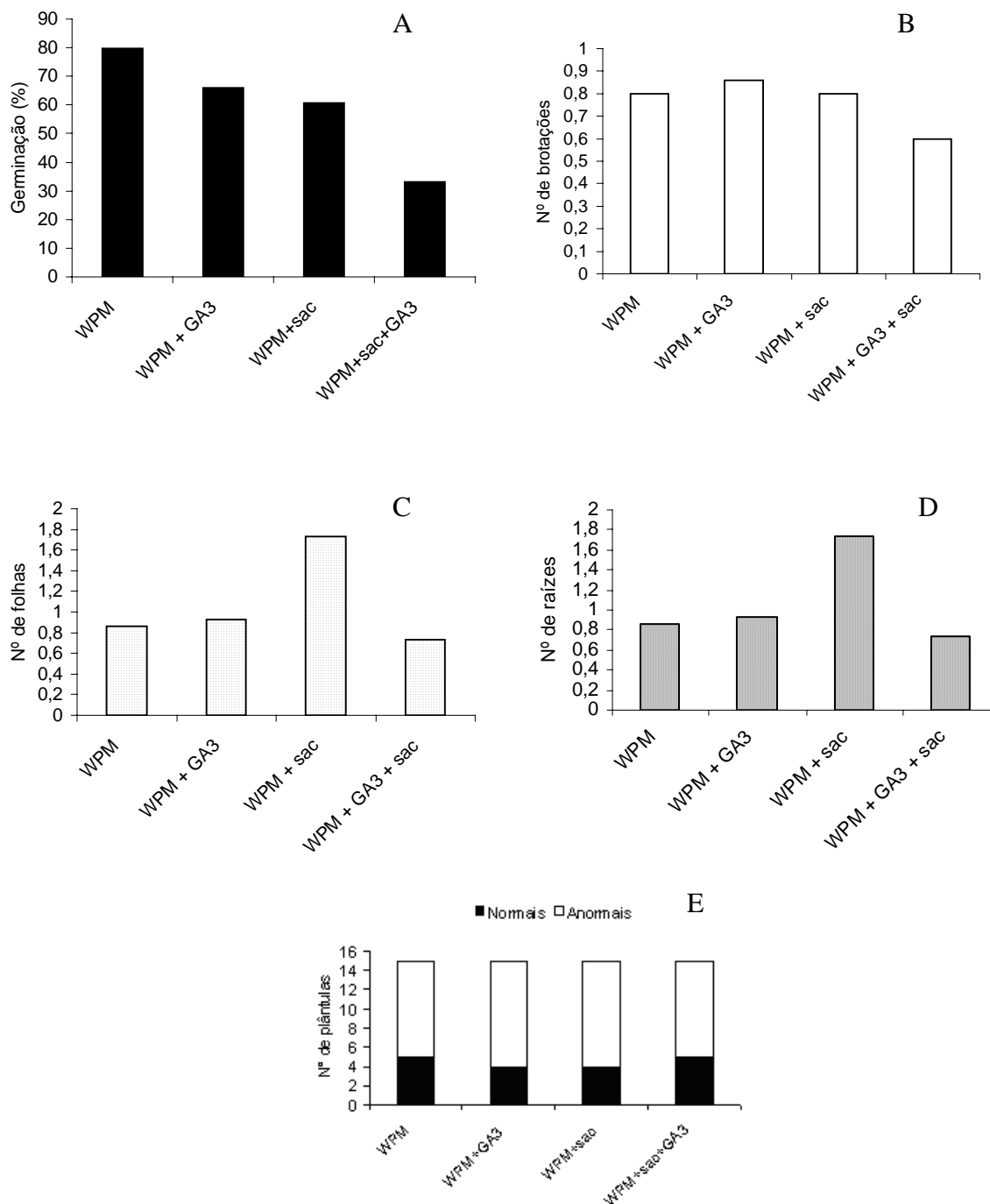


Figura 2. Porcentagem de germinação (A), número de brotações (B), número de folhas (C), número de raízes (D) e ocorrência de plântulas normais e anormais (E) obtidos a partir da

germinação de sementes de nim de acordo com a suplementação com GA<sub>3</sub>, sacarose ou sacarose + GA<sub>3</sub>.

O número de brotação foi maior na presença da giberelina exógena ou na presença de sacarose, em torno de 1 brotação por semente, provavelmente por se tratar de uma espécie que não apresenta poliembrionia.

Já o número de folhas foi maior na presença de sacarose, assim como o número de raízes. A maior formação de órgãos na presença de sacarose sugere que, além das reservas contidas nas sementes, a fonte de carbono exógena provavelmente contribuiu para o maior fornecimento de esqueleto de carbono para incremento de matéria seca.

Nos 80% de germinação, houve a formação de plântulas anormais em quantidades equivalentes em todos os tratamentos.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas, conclui-se que o meio de cultura apropriado para germinação *in vitro* de nim é o meio WPM na ausência de sacarose e GA<sub>3</sub>. No entanto, para formação de maior número de folhas e raízes, causando um aumento da matéria seca da plântula, utiliza-se sacarose no meio de cultivo como observado no tratamento T2.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.30-33, maio 1997.

LLOYD, G; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1981.

MATINEZ, S.S.; LIMA, J. de; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agronomica e fitoquímica de neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedências em vários locais da região sul e sudeste do Brasil. **XVII Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Resumo, p.831, agosto 1998.

NEVES, B.P.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss)** Goiânia: Embrapa, CNPAF; APA, 1996. 32p. (Circular Técnica, 28).

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n<sup>o</sup> 1, p.12-15, maio 1997.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.35, p.271-297, 1990.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990. 433 p.

## PALAVRAS CHAVE

*Azadirachta indica*, giberelina, carboidrato, cultivo *in vitro*.

## Uso de fitorreguladores no enraizamento de estacas de *Codiaeum variegatum* (L.) A. Juss..

Kramer, Daniel Pinto da Silva<sup>1</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro de<sup>2</sup>; Oliveira, Jefferson Anthony Gabriel de<sup>1</sup>; Pereira, Tatiane de Oliveira<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>Discentes de graduação em Agronomia, UNESP, FEIS Avenida Brasil, 56 – Centro 15385-000 Ilha Solteira - SP PABX: (18) 3743-1000; <sup>2</sup>Docente do curso de Agronomia, UNESP, FEIS Avenida Brasil, 56 – Centro 15385-000 Ilha Solteira - SP PABX: (18) 3743-1000 [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br).

### INTRODUÇÃO

A estaquia é uma forma de propagação vegetativa, formando plantas filhas geneticamente idênticas às matrizes. A formação de clones é desejável para a multiplicação de plantas de genótipo selecionado ou a recuperação de espécies em extinção.

Segundo PAIVA (2001) a estaquia consiste em destacar da planta original um ramo, folha ou raiz e colocá-los em meio adequado para a formação do sistema radicular ou da parte aérea. Algumas estacas podem apresentar dificuldades para enraizar. O tratamento de fitorreguladores (hormônios) é um método eficiente para a obtenção de raízes em propágulos de plantas, aumentando a velocidade, uniformidade e quantidade de raízes em estacas de difícil enraizamento (WENDLING et al, 2005).

*Codiaeum variegatum* (L.) A. Juss., caracteriza-se como arbusto grande e semi-lenhoso de dois a três metros de altura, com folhas latescentes espessas e coriáceas, vistosas pelo colorido variado e formato (LORENZI, 2001), utilizando-se estacas para a propagação.

Este trabalho visou avaliar o desempenho de diferentes fitorreguladores comerciais no enraizamento de *C. variegatum*.

### METODOLOGIA

O experimento foi realizado na Casa de Vegetação (climatizada, com Pad & Fan, temperatura ambiente de 25°C) do Campus da Agronomia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira . UNESP, no período de 30/06 a 16/08 de 2005.

Foram utilizadas estacas de *Codiaeum variegatum* (L.) com 20 cm de comprimento e diâmetro médio de 9,04 cm. As estacas foram divididas em quatro tratamentos: T1- testemunha (não tratada); T2- estacas tratadas com Clonigel; T3- estacas tratadas com Raizon 05; T4- estacas tratadas com Radimax.

Clonigel é um produto comercial, possui micronutrientes, vitaminas anti-stress e hormônio AIB. Para realizar o tratamento emergiu-se de meio a um centímetro da base da estaca no gel. Raizon 05 é um fertilizante mineral misto enraizador reforçador de raízes em forma de pó. Umedeceu-se a base das estacas e besuntou-se de um a dois centímetros da base das estacas, retirou-se o excesso com uma leve batida. Radimax é fertilizante mineral misto reforçador radicular. Para a utilização dissolveu-se 0,33 g do produto comercial em um litro de água, imergiu as estacas por sete horas com as bases a sete cm de profundidade, utilizando a solução para fazer a primeira rega das estacas.

As estacas foram plantadas em jardineiras pretas (25cm de largura x 50cm de comprimento x 20cm de profundidade) em substrato comercial Plantimax. O tratamento e plantio foi realizado em 30/06 e as floreiras foram mantidas em Casa de Vegetação até dia 16/08, quando as estacas foram retiradas, e avaliou-se número de brotos e raízes pela tabela classificação de Menzie, conforme citado em CARNEIRO (1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação das raízes foi transformado em porcentagem para a avaliação dos tratamentos, e são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Classificação do sistema radicular segundo Menzie e número de brotos das estacas

	Escore (%)						Número de Brotos por Estaca
	0	2	4	6	8	10	
T1	20	26,66	6,66	40	6,66	-	4,8
T2	17,65	41,18	5,88	23,53	5,88	5,88	5,35
T3	38,88	38,88	11,11	11,11	-	-	5,61
T4	33,33	46,66	13,33	13,33	-	-	4,53

T1: Testemunha não tratada, T2: Estacas tratadas com Clonegel, T3: Estacas tratadas com Raizon 05, T4: Estacas tratadas com Radimax.

Classificação de Menzie das deformações das raízes laterais com escore: 0-raízes laterais em todos os quadrantes, 2-raízes laterais em três quadrantes, 4-raízes laterais em dois quadrantes adjacentes, 6-raízes laterais em dois quadrantes opostos, 8-raízes laterais em um quadrante, 10-sem raízes laterais significantes em qualquer quadrante.

O tratamento T3 apresentou maior porcentagem de estacas com raízes perfeitamente formadas, e nenhuma estaca sem raízes, tendo 77,76% de estacas classificadas como 0 ou 2 (raízes bem formadas, em todos os quadrantes e raízes bem formadas em três quadrantes).

O tratamento T4 também apresentou grande quantidade de raízes perfeitamente formadas ou bem formadas, tendo 79,99% de estacas classificadas como 0 ou 2.

T2 teve uma grande proporção de estacas classificadas com o escore 2, porém teve estacas classificadas como 8 ou 0, sugerindo maior variação dos resultados.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o tratamento T3, estacas tratadas com Raizon 05, foi superior aos demais tanto em enraizamento quanto em brotação.

## BIBLIOGRAFIA

CARNEIRO, J. G. A., **Produção e controle de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF; Campus: UENF, 1995. 451 p.: il.

WENDLING, I.; DE PAIVA, H. N.; GONÇALVES, W. **Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2005. 223p.: il.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M., **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001. 3. ed.

PAIVA, H.N.; GOMES, J.M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 46p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Codiaeum variegatum* (L.); Propagação; Fitorreguladores.

## Efeito de bioestimulante vegetal no cultivo e regeneração *in vitro* de embriões de mamona (*Ricinus communis* L.).

Bertozzo, Fernanda<sup>1</sup>; Machado, Isaac Stringueta<sup>2</sup>; Cantanhede, Ilka South de Lima<sup>3</sup>; Soriano, Leonardo<sup>4</sup>; Barbosa, Luciano<sup>5</sup>; Zanotto, Maurício Dutra<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [bertozzo@fca.unesp.br](mailto:bertozzo@fca.unesp.br); <sup>2</sup>Professor Doutor- (UNESP-FCA)- Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [isaac@fca.unesp.br](mailto:isaac@fca.unesp.br); <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3882-5172, e-mail: [ilkalc@fca.unesp.br](mailto:ilkalc@fca.unesp.br); <sup>4</sup>Graduando do Curso de Engenharia Florestal (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (19) 9141-8231, e-mail: [lsoriano@fca.unesp.br](mailto:lsoriano@fca.unesp.br); <sup>5</sup>Professor Doutor- Instituto de Biociências (UNESP-IBB), Departamento de Bioestatística, Campus Botucatu, Caixa Postal 510, CEP 18618-000, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-6097, e-mail: [lbarbosa@ibb.unesp.br](mailto:lbarbosa@ibb.unesp.br); <sup>6</sup>Professor Doutor- (UNESP-FCA), Departamento de Produção Vegetal, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7161, e-mail: [zanotto@fca.unesp.br](mailto:zanotto@fca.unesp.br).

### INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma espécie oleaginosa originária da Índia, de onde se espalhou por quase todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Seu cultivo apresenta importância socioeconômica crescente, pois o óleo, extraído de suas sementes, presta-se a uma ampla gama de setores da indústria. Representa hoje, devido às suas características físico-químicas, uma das principais alternativas para produção de biodiesel; podendo ser utilizada ainda, como matéria prima da indústria de fármacos e biopolímeros.

Os processos de germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas de mamona são bastante variáveis e podem ser influenciados por uma série de fatores como a cultivar agrônômica, condições edafo-climáticas e as de armazenamento empregadas, entre outros. A germinação pode ser demorada, ultrapassando três semanas, o que acarreta maior susceptibilidade a patógenos ou outras intempéries do ambiente. Com isto, tornam-se relevantes os estudos de métodos alternativos que busquem maior rapidez e segurança que os convencionais.

A técnica de cultivo de eixos embrionários tem sido utilizada para superar a dormência de sementes, em virtude da imaturidade do embrião, ou presença de substâncias inibidoras no endosperma; estudar os aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento do embrião; testar viabilidade de sementes; recuperar híbridos raros de cruzamentos incompatíveis e como fonte de explantes com tecido de elevada totipotência, sendo esta a busca mais freqüente (Hu e Ferreira, 1998). Rocha et al. (2003), estudando a regeneração *in vitro* da mamoneira a partir de diferentes tipos de propágulos, confirmaram ser o eixo embrionário, a melhor fonte de explante.

O Stimulate® (0,009% de cinetina, 0,005% de ácido giberélico e 0,005% de ácido indolbutírico) é um regulador vegetal comercial que vem sendo bastante utilizado como indutor da morfogênese *in vitro* e *ex vitro* de células e tecidos de plantas, em diferentes fases do ciclo de desenvolvimento e em uma grande variedade de espécies vegetais. Foi descrito e testado por Vieira e Castro (2001) em sementes de soja, feijão e arroz, resultando em aumento da germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular, área foliar e produtividade.

Este trabalho teve como principal objetivo a avaliação do efeito da suplementação exógena do produto Stimulate® no estabelecimento do eixo embrionário em cultura asséptica, bem como os processos morfogenéticos de diferenciação e regeneração em parte aérea e raiz *in vitro*.



## METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Ambiental, do Departamento de Recursos Naturais, da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP - Botucatu/SP. De um lote selecionado de sementes da cultivar Sara, foram retirados os tegumentos; lavadas em água corrente e desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo e Tween 20 (1 gota/100ml), por 20 minutos. Posteriormente, enxaguadas 4 vezes em água destilada e deionizada estéril (100ml), sendo então imersas na última água contendo diferentes concentrações de Stimulate®, calculadas segundo o esquema: T1 – 0 (testemunha), T2 - 2.5, T3 - 5.0 e T4 - 10ml/kg de sementes. Foram preparadas 20 sementes para cada tratamento.

Em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, as sementes pré-tratadas foram dissecadas e os eixos embrionários inoculados em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio MS (Murashige & Skoog, 1962) basal, suplementado com 0,250 g/L de PVP e 7 g/L de ágar. O experimento foi inteiramente casualizado, com 20 repetições para cada tratamento, sendo 1 eixo embrionário por frasco.

As culturas foram mantidas em câmara de germinação (B.O.D.), com temperatura constante de 26°C, inicialmente no escuro por 72 horas e, posteriormente, em fotoperíodo de 16 h de luz/8h de escuro e intensidade luminosa de 1000 lux.

O resultado foi avaliado através da porcentagem de morfogênese completa das estruturas anatômicas (parte aérea e raiz), após 18 dias de cultivo. O comportamento fisiológico das plântulas pôde ser analisado pela medição das partes aéreas (H), número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento das raízes (CR), produção de matéria fresca (MF) e seca (MS). Os valores médios dos parâmetros fisiológicos foram comparados estatisticamente através do programa SigmaStat, teste de comparações múltiplas (método Student-Newman-Keuls).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As freqüências de regeneração de plântulas de mamona nos tratamentos empregados podem ser visualizadas na Figura 1, que mostra um efeito inibidor da organogênese *in vitro* nas concentrações de 5 e 10ml do Stimulate® (T3 e T4).

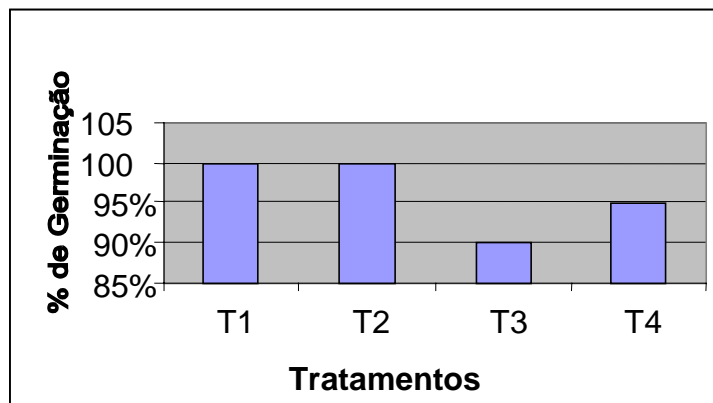


Figura 1. Regeneração de plântulas de mamona (*Ricinus communis*) a partir do cultivo de eixos embrionários estabelecidos *in vitro* e em concentrações crescentes de Stimulate® (T1-0, T2-2,5, T3-5 e T4-10 ml/kg de semente).

Os resultados da morfogênese da parte aérea das plântulas (Tabela 1) revelam que na ausência do produto (T1), o alongamento e a produção de biomassa foram superiores; contudo, o número de folhas diferenciadas foi semelhante ao Tratamento 2. Os valores encontrados nos outros parâmetros fisiológicos mostraram efeito inibidor com o aumento da concentração do Stimulate®.

Tabela 1. Valores médios de altura (H), número de folhas (NF), massa fresca (MF) e massa seca (MS) da parte aérea das plântulas de mamona regeneradas a partir do cultivo de embriões.

	H (cm)	NF	MF (g)	MS (g)
Tratamento 1	5,425 a	2,15 a	0,184040 a	0,00825 a
Tratamento 2	4,520 b	2,40 a	0,148225 ab	0,01540 b
Tratamento 3	3,850 b	1,00 b	0,041710 b	0,00535 b
Tratamento 4	3,715 b	1,25 b	0,127465 ab	0,00640 b

Médias seguidas de letras iguais na vertical, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à influência na rizogênese (Tabela 2), o efeito repressor da morfogênese não foi tão significativo como na parte aérea, pois até o Tratamento 3 a produção de biomassa não diferiu significativamente. Quanto ao comprimento e número de raízes, houve influência inibitória do regulador, em comparação ao tratamento controle (T1).

Tabela 2. Valores médios de comprimento (CR), número (NR), massa fresca (MF) e massa seca (MS) das raízes das plântulas de mamona regeneradas a partir do cultivo de embriões.

	CR (cm)	NR	MF (g)	MS (g)
Tratamento 1	5,750 a	7,15 a	0,168150 a	0,01745 a
Tratamento 2	5,090 ab	5,90 ab	0,099135 a	0,01665 ab
Tratamento 3	3,885 b	2,85 c	0,089115 a	0,00360 b
Tratamento 4	3,450 b	4,00 b	0,049125 b	0,00605 b

Médias seguidas de letras iguais na vertical, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados encontrados estão de acordo com Severino et al. (2004), que utilizaram diferentes concentrações do regulador vegetal Stimulate®, em sementes de mamona (cultivar BRS 149 Nordeste), resultando em uma redução linear na altura das plantas, de acordo com o aumento da concentração do produto. Contudo, Albuquerque et al. (2004) também utilizando sementes de mamona (cultivar BRS 188 Paraguassu) imersas em diferentes concentrações de Stimulate®, por diferentes períodos de tempo, concluíram que o produto não influenciou no crescimento das plantas, porém a dose de 35ml/0,5 kg de semente teve efeito significativo referente à variável área foliar com um aumento de 19% em relação à testemunha.

Os resultados observados por Neto et al. (2004) são discordantes dos encontrados, pois trabalhando com sementes de milho, notaram que o Stimulate® aumentou a produção de grãos. Em adição a isto, Consorte (2006) estudou o efeito do Stimulate® em sementes do tomate 'Micro-Tom' e encontrou aumento significativo na biomassa de raízes e frutos. Em sementes de amendoimzeiro, a mesma autora verificou aumento no número de plântulas normais, maior comprimento do hipocótilo e da raiz primária e teor superior de biomassa total. Ainda neste trabalho, observou em sementes de trigo, aumento da altura e massa seca da parte aérea. Klahold et al. (2006) verificaram que o Stimulate® em sementes de soja apresentou resultados positivos em relação ao número e à massa seca das flores, das raízes e da razão raiz/parte aérea, além de aumentar o número de vagens e de grãos.

## CONCLUSÕES

Concentrações crescentes de Stimulate® na pré-embebição de sementes, dentro da faixa de 2,5 a 10 ml/Kg semente, apresentam efeito inibitório na morfogênese de plântulas de mamona regeneradas a partir de eixos embrionários estabelecidos *in vitro*. O efeito repressor foi mais pronunciado na organogênese da parte aérea do que na rizogênese.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, R. C.; GUIMARÃES, M. M. B.; BELTRÃO, N. E. de M.; JERÔNIMO, J. F. Efeitos do bioestimulante Stimulate em sementes pré-embebidas de mamona (*Ricinus communis* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2004.

CONSORTE, C. S. **Ação do bioestimulante nas culturas do amendoimzeiro, sorgo e trigo e interações hormonais entre auxinas, citocininas e giberelinas**. 2006. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

HU, C. Y.; FERREIRA A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A., Eds. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. p. 371-394.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-85, 2006.

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

NETO, D. D.; DARIO, G. J. A.; JÚNIOR, P. A. V.; MANFRON, P. A.; MARTINS, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPOS, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro.**, v. 11, n. 1, p. 93-102, 2004.

ROCHA, M. S.; OLIVEIRA, K. C.; COSTA, M. N.; CUNHA, A. O.; CARVALHO, J. M. F. C.; SANTOS, J. W. **Rev. Bras. Ol. Fibrós.**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 647-652, 2003.

SEVERINO, L. S.; LIMA, C. L. de; FARIAS, V. de A.; BELTRÃO, N. E. de M.; CARDOSO, G. D. Regulador de crescimento Stimulate aplicado a sementes de mamona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2004.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Rev. Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 222-228, 2001.

PALAVRAS-CHAVE:

*Ricinus communis* L.; cultivo de eixo embrionário; bioestimulante; cultura *in vitro*; sementes.

## **Germinação in vitro de sementes de canela-de-ema ( *Vellozia squamata* Bth)**

Freitas Neto, Olegário Garcia de<sup>1</sup>; Santos, Maria do Desterro Mendes dos<sup>2</sup>; Carvalho, André de<sup>3</sup>; Silva Filho, J.G<sup>4</sup>.; Torres, Antonio Carlos<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UNB), Caixa Postal 218, CEP 70919-970 Brasília, DF, fone (61) 3307-2828, email: [olegariogarcianeto@hotmail.com](mailto:olegariogarcianeto@hotmail.com);

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UNB), Caixa Postal 218, CEP 70919-970 Brasília, DF, fone (61) 3307-2828, email: [maria@cnph.embrapa.br](mailto:maria@cnph.embrapa.br); <sup>3</sup>Bolsista de Iniciação Científica do CNPq, Universidade Católica de Brasília, S7 lote 1, Taguatinga, DF, email: [andre@cnph.embrapa.br](mailto:andre@cnph.embrapa.br); <sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Hortaliças, Br060 Km 09, caixa postal 218, CEP 70359-970, Brasília, DF, fone (61) 3385-9079, email: [torres@cnph.embrapa.br](mailto:torres@cnph.embrapa.br).

A canela-de-ema (*Vellozia squamata* Pohl, sinônimo *Vellozia bicans* Mart. Ex Schult. F.) é uma planta monocotiledônea pertencente a família Velloziaceae, que tem como *habitat* o bioma cerrado. A família velloziaceae engloba várias espécies de valor ornamental, tanto pelas folhagens e arquitetura, quanto pela beleza das flores. Essas espécies são pouco exploradas pela dificuldade de cultivo e por apresentarem crescimento lento. A longevidade das Velloziaceae vem motivando, por mais de duas décadas, estudos fitoquímicos visando encontrar as possíveis substâncias responsáveis por esse comportamento. A canela-de-ema é uma das principais espécies não gramíneas consumidas por bovinos em áreas de pastagens nativas do Distrito Federal. Também, no artesanato, utiliza-se o caule para montagem de arranjos florais e as fibras podem ser usadas para cordoaria ou sacaria. Outra aplicabilidade é seu uso como planta ornamental para composição de jardins. O objetivo do trabalho foi o estabelecimento de plântulas de canela-de-ema via germinação de sementes *in vitro* para serem utilizadas na micropropagação e produção de mudas. As sementes foram coletadas frutos maduros de 10 indivíduos. A germinação foi efetuada em meio básico contendo sais minerais MS, 0,7 % de ágar e, em mg/L: mio-inositol, 100; tiamina.HCl, 0,1; ácido nicotínico, 0,5; piridoxina.HCl, 0,5 e glicina 2,0. A esse meio foram adicionadas, respectivamente, diferentes concentrações de sacarose (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0%). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições. Cada repetição consistiu de uma placa de Petri inoculada com 20 sementes. As placas inoculadas foram mantidas em intensidade luminosa de 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 27°C. Também estudou-se o efeito da temperatura (15, 20, 25, 30 e 35°C) na germinação das semente em meio com 0 e 3% de sacarose. Houve diferença estatística na percentagem de germinação entre as concentrações de sacarose testadas variando de 0 a 4%. Não observou diferenças estatística na percentagem de germinação das sementes nas temperaturas de 25, 30 e 35°C Também foi verificado que algumas sementes apresentaram a formação de duas plântulas, sugerindo a possibilidade de que haja o desenvolvimento de embrião adventício.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Vellozia squamata* ; germinação *in vitro*; produção de mudas.

## **Propagação de cerejeira ornamental (*Prunus serrulata*) por diferentes tipos de enxertias sobre porta-enxerto de pessegueiro (*Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa) associado a diversos métodos de forçamento.**

Dias, Márcia Maria<sup>1</sup>; Chalfun, Nilton Nagib Jorge<sup>2</sup>; Coelho, Silvério José<sup>2</sup>; Oliveira, Dili Luiza<sup>1</sup>; Farias, Johnathan Santos<sup>4</sup>; Curio, Paula Nogueira<sup>4</sup>; Reis, Janaine Myrna Rodrigues<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (UFLA - DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 3829-1329, e-mail: [marciamaridias@yahoo.com.br](mailto:marciamaridias@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professores da Universidade Federal de Lavras (UFLA - DAG), CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 3829-1309 e-mail: [nchalfun@ufla.br](mailto:nchalfun@ufla.br); <sup>3</sup>Engenheira Agrônoma Doutora – Fapemig; <sup>4</sup>Graduandos em Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA - DAG).

### **INTRODUÇÃO**

A cerejeira ornamental *Prunus serrulata*, também denominada cerejeira do Japão (Perez, 1997) destaca-se entre as plantas ornamentais utilizadas na arborização urbana pelo exuberante e abundante florescimento. A espécie é originária do Japão (Lorenzi, 2003), pertence à família das Rosáceas (Perez, 1997) e conta com inúmeras variedades espalhadas pelo Japão e outras regiões do mundo (Roriz, 1996).

A espécie se caracteriza por ser uma árvore caducifólia de pequeno porte que atinge aproximadamente 4 a 6m de altura em habitat de origem (Lorenzi, 2003). Apresenta tronco cilíndrico e curto, folhas simples, ovaladas ou ovalado-lanceoladas com margens serreadas. Os frutos são drupas, vermelho-escuros e pretos quando maduros, de polpa succulenta que envolve uma semente óssea (Lorenzi, 2003). No Brasil, a espécie adaptou-se devido à amplitude de climas e solos do país e propicia uma abundante floração. Porém, apesar da beleza que proporciona, não há dados na literatura sobre a propagação da cerejeira ornamental.

A propagação assexuada é largamente utilizada para a produção de mudas de várias espécies, destacando-se entre os diferentes métodos a enxertia. Em geral, as plantas podem ser propagadas por qualquer processo de enxertia, porém, a prática revela que, conforme a espécie de planta deve-se optar pelo método de enxertia que ofereça melhores resultados (Murayama, 1973).

Desta forma diante da escassez de informações sobre a propagação da cerejeira *Prunus serrulata* e do grande potencial que oferece para ornamentação, este trabalho objetivou avaliar o melhor tipo de enxertia e método de forçamento na porcentagem de pegamento do enxerto de *Prunus serrulata* sobre o porta-enxerto *Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido no setor de fruticultura da Universidade Federal de Lavras – Minas Gerais, sob telado com 50% de retenção da intensidade luminosa.

Para a instalação do experimento utilizou-se como porta-enxertos pessegueiros *Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa. Os porta-enxertos foram obtidos a partir de sementes e utilizados quando atingiram aproximadamente 70 cm de altura e diâmetro de 6 a 8 mm, os quais foram submetidos à toailete (retirada das brotações até uma altura de 40 cm) para facilitar a realização da enxertia. O material vegetal da cerejeira ornamental enxertado foi coletado nos jardins da própria Universidade. Deste material foram retiradas borbulhas com uma gema e garfos contendo duas a três gemas com aproximadamente 5,8 cm de comprimento. As enxertias foram realizadas em dezembro de 2006 a 25 cm de altura do colo da planta.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4x3+1 (dois tipos de enxertia, quatro tipos de forçamento, três períodos de avaliações e um tratamento adicional) com quatro repetições e quatro plantas por parcela. Os tratamentos foram compostos por dois tipos de enxertia de borbulhia (1- enxertia de borbulhia em T invertido e 2- borbulhia em placa), quatro tipos de forçamento (1- testemunha, 2-

encurvamento do ramo, 3- decote parcial a 10 cm da gema e encurvamento e 4- corte após a enxertia a 10 cm da gema enxertada 20 dias após a enxertia), três períodos de avaliações e o tratamento adicional que constituiu da enxertia de garfagem de fenda cheia (Figura 1A).



Figura 1. Pegamento em diferentes tipos de enxertias de cerejeira (*Prunus serrulata*) e forçamentos em porta-enxerto *Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa (A), gema desenvolvida a partir da enxertia de borbulhia em T invertido (B) e gema morta (C) aos 45 dias após as enxertias. Ufla. Lavras-MG. 2007.

A porcentagem de pegamento de enxertia foi avaliada aos 45, 60 e 90 dias após a realização das mesmas. Os dados obtidos foram submetidos aos seguintes Testes: Teste de Dunnett ao nível de 1% de probabilidade, Tukey a 5% de probabilidade e ao teste de regressão. A análise foi realizada com auxílio do programa SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A enxertia de cerejeira *Prunus serrulata* sobre porta-enxerto de pessegueiro *Prunus persica* cv. Okinawa por garfagem resultou no pegamento de 100% das enxertias realizadas. Este resultado foi significativamente superior ao obtido nas enxertias por borbulhia pelo Teste de Dunnett ao nível de 1% de probabilidade.

Semelhantemente Reis (2005), obteve uma alta porcentagem de pegamento das enxertias da cultivar de pêssigo Diamante sobre porta-enxerto *Prunus persica* cv. Okinawa pelo método de garfagem em fenda cheia, o qual correspondeu a 91,25%. No entanto, o mesmo autor, cita não ter constatado influência dos tratamentos (enxertia de garfagem de fenda cheia e as borbulhias em T normal e em placa), sobre a porcentagem de pegamento das enxertias e obteve 91,94% de pegamento independente do tipo de enxertia.

O índice de pegamento obtido por Reis (2005), para as borbulhias foi superior ao observado neste trabalho, em que a borbulhia em T invertido apresentou porcentagem média de 56,18% e a borbulhia em placa (12,54%), diferindo entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. Possivelmente a baixa porcentagem de pegamento nestes tratamentos deve-se a não ocorrência da soldadura das borbulhas que resultou na morte das gemas (Figura 1B e C), uma vez que, um dos detalhes que diferenciam os tratamentos (garfagem e borbulhia) é o tipo de encaixe ou união entre a parte enxertada e o porta-enxerto.



A enxertia por borbulhia em T invertido após as seqüentes avaliações apresentou uma redução da porcentagem de pegamento (Figura 2), que foi significativa ao nível de 1% de probabilidade. Este decréscimo pode ser resultante da não soldadura das borbulhas, que inicialmente se desenvolveram a partir da reserva presente na parte enxertada e com o esgotamento desta reserva não sobreviveram.

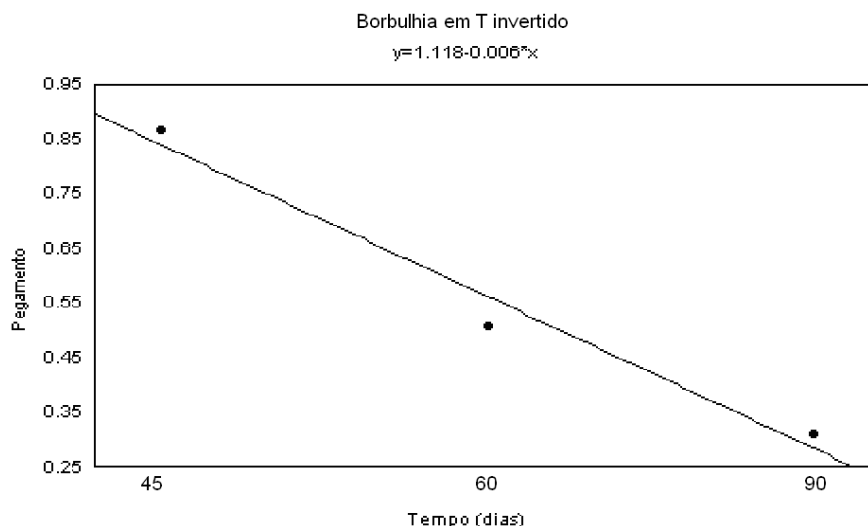


Figura 2. Porcentagem de pegamento da enxertia de borbulhia em T invertido de cerejeira ornamental *Prunus serrulata* sob porta-enxerto *Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa aos 45, 60 e 90 dias após as enxertias. Ufla. Lavras-MG. 2007.

Quanto ao forçamento do ramo do porta-enxerto para estímulo do desenvolvimento da gema enxertada de cerejeira ornamental não houve diferença significativa, bem como para a interação Enxertia x forçamento e a interação tripla enxertia x forçamento x tempo.

Para a interação forçamento x tempo nos tratamentos com forçamentos: 2- encurvamento do ramo e 3- decote parcial a 10 cm da gema e encurvamento houve um declínio da porcentagem de pegamento significativo ao nível 5% (Figura 3 e 4).

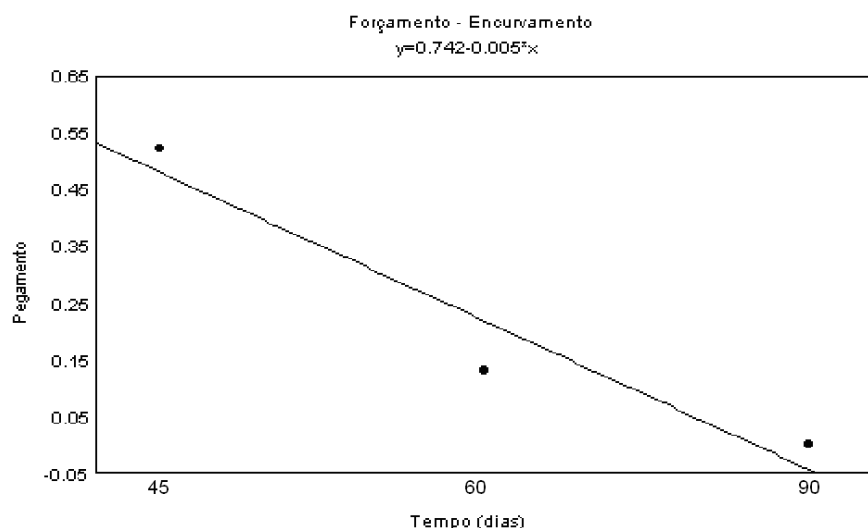


Figura 3. Porcentagem de pegamento dos enxertos de cerejeira ornamental *Prunus serrulata* em função do encurvamento do ramo do porta-enxerto *Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa aos 45, 60 e 90 dias após as enxertias. Ufla. Lavras-MG. 2007.

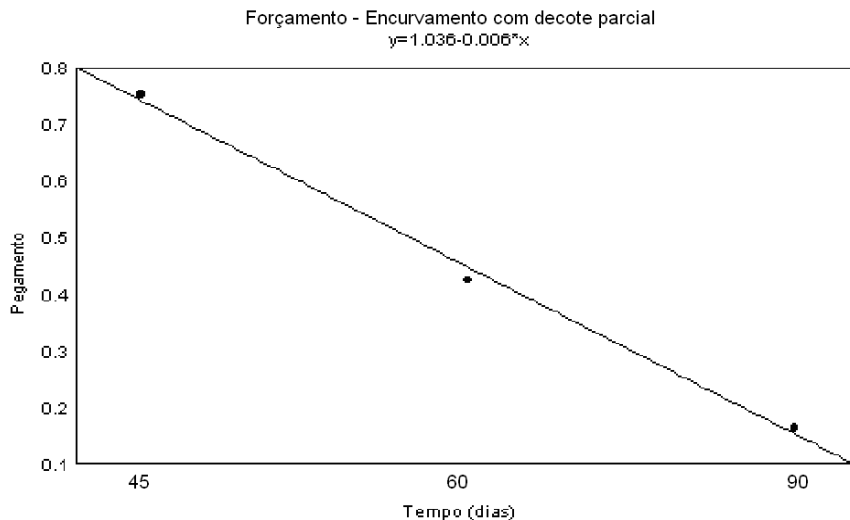


Figura 4. Porcentagem de pegamento dos enxertos de cerejeira ornamental *Prunus serrulata* em função do encurvamento com decote parcial do ramo do porta-enxerto *Prunus persica* Batsch (L.) cv. Okinawa aos 45, 60 e 90 dias após as enxertias. Ufla. Lavras-MG. 2007.

Resultados superiores foram obtidos por Auras (1990) ao realizar a enxertia da cultivar Diamante sobre o porta-enxerto *Prunus persica* cv. Okinawa. O autor obteve 79% e 38,6% de pegamento aos 160 dias após as enxertias nos tratamentos de decote parcial com tombamento e decote total.

#### CONCLUSÃO

O melhor tipo de enxertia para a propagação da cerejeira ornamental *Prunus serrulata* sobre o porta-enxerto *Prunus persica* cv. Okinawa sob as condições em que foi realizado o experimento é através do método da garfagem.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AURAS, N. E. **Métodos de forçamento da brotação do enxerto e aplicação de reguladores de crescimento na produção de mudas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch)**. 1990. 47p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LORENZI, Harri. **Árvores exóticas do Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003, 368p.

MURAYAMA, Shizuto. **Fruticultura**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1973, 385p.

PEREZ, S. As lendárias cerejeiras do Japão. **Revista Natureza**. São Paulo, a.10, n.7, e. 115, p.16-19, ago. 1997.

REIS, J. M. R. **Propagação do pessegueiro em diferentes condições**. 2005. 98p. Dissertação (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RORIZ, A. Árvores ornamentais. **Revista Natureza**. São Paulo, edição especial, p.59, 1996.

**Palavras-chave** *Prunus serrulata*, Rosaceae, cerejeira ornamental, enxertia, forçamento

Agradecimentos ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.



## Indução de Brotações em *Eucalyptus Urograndis*.

Abbade, Leticia Caravita<sup>1</sup>; Paiva, Patricia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>; Centofante, Agda Rabelo<sup>1</sup>; Stein, Vanessa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG), Campus da UFLA, CEP 37200-000 Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821-0521, email: [a.centofante@uol.com.br](mailto:a.centofante@uol.com.br); <sup>2</sup>Professora Associada do Departamento de Agricultura da UFLA; <sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia da UFLA; <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG)

### INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* inclui a maioria das espécies florestais utilizadas no estabelecimento de plantações em áreas tropicais e subtropicais. Atualmente a micropropagação do eucalipto tem sido utilizada no rejuvenescimento de clones, visando à formação e manutenção de microjardim clonal, que constitui a base para a produção de mudas. A micropropagação de eucalipto tem sido utilizada como técnica promissora para o desenvolvimento clonal por meio da produção de gemas e estacas (Handley & Becwar, 1995). Por meio da micropropagação, há redução no tempo de produção da muda, uniformidade no cultivo e maior controle da sanidade do material micropropagado (Cardim, 2006).

Diante das propostas tecnológicas oferecidas pela micropropagação e da importância dos reguladores de crescimento no estabelecimento das culturas in vitro, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do BAP e ANA no desenvolvimento de brotações de eucalipto, clone SD2002, da variedade Urograndis.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Lavras, MG. Foi utilizado o clone de eucalipto SD2002, variedade Urograndis.

Os segmentos caulinares para indução de brotações foram retirados de plantas matrizes, deixados em água corrente por 1 hora e levados à câmara de fluxo laminar, imersos em álcool 70% por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2% de cloro ativo por 20 minutos. Ao final deste tempo, lavou-se em água destilada autoclavada por três vezes e inoculados, em meio MS com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g.L<sup>-1</sup> e pH a 5,8, acrescido dos reguladores de crescimento, BAP (0; 0,5; e 1 mg.L<sup>-1</sup>) e ANA (0; 1; 2, 4 e 5 mg.L<sup>-1</sup>) em todas as combinações possíveis, totalizando-se 15 tratamentos, com 10 repetições, em fatorial de 3X5, e mantidos em sala de crescimento. A avaliação foi realizada aos 45 dias após a incubação.

Após a inoculação, o material foi mantido em sala de crescimento com temperatura média de 25±2°C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 36 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, sendo a avaliação realizada aos 30 dias após a implantação do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os dados obtidos foram submetidos à regressão para análise.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA, na ausência de BAP proporcionou a formação de maior número de brotações em explantes caulinares (Figura 1).

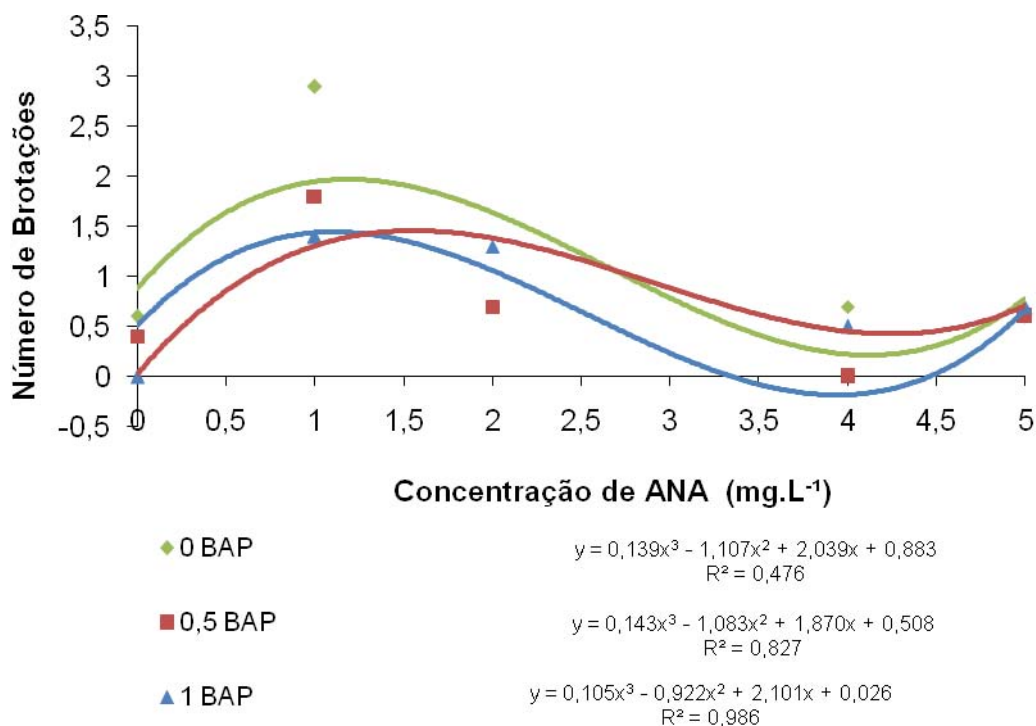


Figura 1. Número de brotações obtidos in vitro, em explantes de eucalipto var. Urograndis inoculado em diferentes concentrações de ANA e BAP.

Estes resultados concordam com os obtidos por Cantagallo et al. (2005), Al-Khayri e Al-Bahrany (2001) em limão-taiti (*Citrus Aurantifolia*), Pasqual & Ando (1989) micropropagando *Citrus sinensis*, Pereira et al. (1995) em espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*) e Pasqual & Ando (1989) para *Poncirus trifoliata*, que observaram que brotações provenientes de meio de cultura com concentrações menores de reguladores de crescimento apresentaram desenvolvimento vegetativo superior. Mohanty et al. (1998) também relataram a importância da citocinina na indução de brotações de *C. sinensis*, no entanto, diferem dos resultados encontrados, pois estes autores observaram redução no estímulo às brotações de gemas axilares em meios com concentrações de BAP superiores a 1,0 mg.L<sup>-1</sup>.

Verificou-se que, com o aumento dos níveis de BAP para todas as concentrações de ANA, houve redução na altura média das brotações, concordando com Lane (1979) e Leshem et al. (1988), que mencionam ser tóxico o uso de citocinina em níveis elevados. Ponte et al. (2001), cultivando *Eucalyptus globulus* oriundos de sementes em meio de cultura MS com BAP (0,2 mg.L<sup>-1</sup>) observaram a formação de maior número de brotações por explante, quando comparado as culturas mantidas em meio de cultura suplementados com níveis mais elevados de BAP.

Para a formação de folhas, a concentração de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA combinado com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP proporcionou maior número de folhas por explante (Figura 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Alves et al. (2004), em que a concentração de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP apresentou melhor performance para *Eucalyptus grandis*.

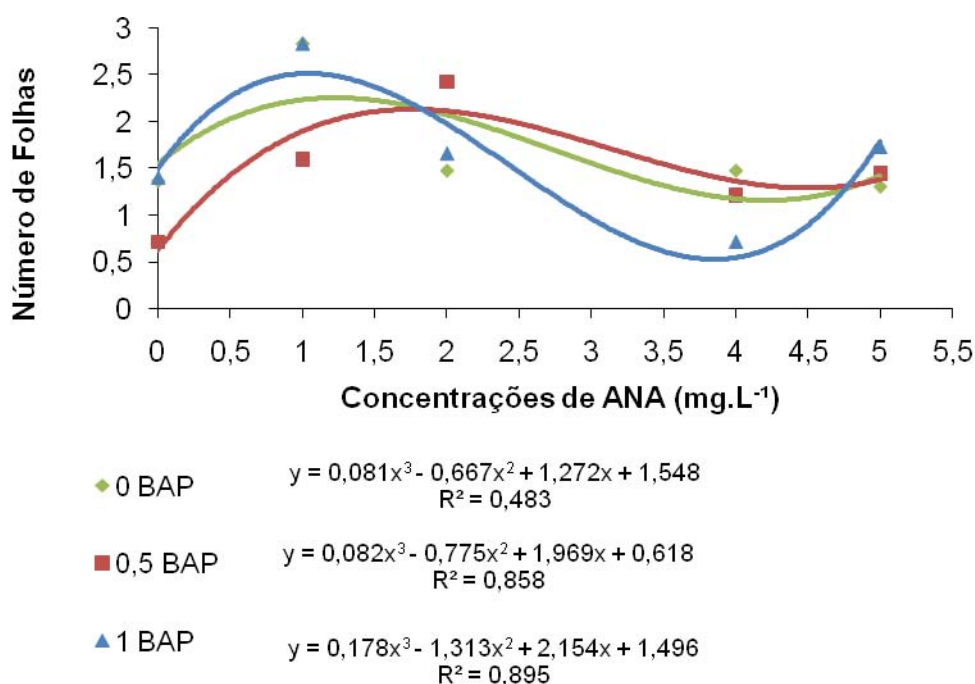


Figura 2. Número de folhas obtidos *in vitro* em explantes de eucalipto var. *Urograndis* inoculado em diferentes concentrações de ANA e BAP.

#### CONCLUSÕES

A concentração de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA proporcionou maior número de brotações e maior número de folhas foi obtido com a combinação de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP para o clone de eucalipto, SD2002, variedade *Urograndis*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-KHAYRI, J.M.; AL-BAHRANY, A.M. *In vitro* micropropagation of *Citrus aurantifolia* (lime). **Current Science**, Bangalore, v.81, n.9, p.1242-1246, 2001.

ALVES, E. C. S. C.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Organogênese *in vitro* a partir de explantes caulinar na regeneração de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden X *E. urophylla* S. T. Blake. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.28, n.5, p.643-653, 2004.

CANTAGALLO, F. S.; AZEVEDO, F. A.; SCHINOR, E. H.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MENDES, B. M. J. Micropropagação de citrumelo 'swingle' pelo cultivo *in vitro* de gemas axilares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 1, p. 136-138, Abril 2005.

CARDIM, D. C. Crescimento e desenvolvimento de brotações de progênies de *Eucalyptus grandis* *in vitro*. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006, 45p.

HANDLEY, L.W.; BECWAR, M.R. *et al.* Research and development of commercial tissue culture systems in loblolly pine. **Tappi Journal**, Atlanta, v.78, n.5, p. 169-175, 1995.

LANE, W.D. Regeneration of pear plants from shoot meristem-tips. **Plant Science Letters**, Limerick, v.16, p.337-342, 1979. LESHEN, B., WERKER, E., SHALEV, D. P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, p.271-276, 1988.

MOHANTY, S.; DEKA, P.C.; BHATTACHARYA, S. Micropropagation of *Citrus sinensis* cultivar Musambi. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 68, n.2, p.113-116, 1998.

PASQUAL, M.; ANDO, A. Micropropagação da laranja 'Valência' através da cultura de gemas axilares *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, n.6, p.723-726, 1989a.

PEREIRA, A.M.S.; MORO, J.R.; CARDEIRA, R.M.M.; FRANÇA, S.C. Effect of phytohormones and physiological characteristics of the explants on micropropagation of *Maitenus ilicifolia*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.42, p.295-297, 1995.

PONTE, E.M. Del; MATTEI, V.L.; PETERS, J.A.; ASSIS, T. F. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus globulus* subesp. *globulus* Labill. *Revista Arvore*, Viçosa, MG, v. 25, n. 1, p. 1-8, 2001.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Eucalyptus urograndis*; brotações; ANA; BAP; *in vitro*

#### AGRADECIMENTOS

À empresa S&D florestal pela concessão mudas do clone SD 2002, para serem utilizadas neste trabalho.

## Desinfestação de sementes de Ipê-Branco (*Tabebuia roseo-alba*) para estabelecimento *in vitro*.

Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2</sup>; Abbade, Letícia Caravita<sup>1</sup>; Centofante, Agda Rabelo<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>3</sup>;

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA-MG), Campus da UFLA, CEP 37200-000 Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821-0521, e-mail: [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br); <sup>2</sup>Professora Associada do Departamento de Agricultura da UFLA;

<sup>3</sup>Professor Adjunto do Departamento de Biologia da UFLA.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Tabebuia roseo-alba*, conhecida popularmente como ipê-branco, é uma espécie arbórea utilizada no paisagismo para a arborização urbana, além de ser indicada em trabalhos de restauração de áreas degradadas. Embora seja uma espécie de grande valor, existem poucas informações a respeito das características de suas sementes e germinação (Lorenzi, 1992). De acordo com Kageyama e Marques (1981), espécies do gênero *Tabebuia* são pioneiras e, como tal, desenvolveram mecanismos adaptáveis que favorecem a dispersão e o rápido estabelecimento, possuindo pequena quantidade de reserva o que implica em curto período de viabilidade das sementes.

As sementes do ipê-branco são poucas e apresentam baixa germinação, diferentemente da *Tabebuia serratifolia*, produzidas em grande quantidade. Gemaque (1999) observou flutuações na porcentagem de germinação ao longo do armazenamento e Oliveira (2004) verificou que a germinação era afetada pela quantidade de compostos fenólicos produzidos em condições de estresse.

Uma possibilidade para a obtenção de plantas matrizes, para serem usadas como fonte de explantes em experimentos de cultura de tecidos, é a germinação *in vitro*. Enquanto o estabelecimento da cultura utilizando material oriundo do campo ou de casa de vegetação traz o problema da contaminação endógena severa, esta pode ser a única fonte de material asséptico. Segundo Gricoletto (1997), a obtenção dos explantes a partir de plântulas de sementes germinadas *in vitro* evita a contaminação do material vegetal e a baixa resposta morfo genética dos tecidos arbóreos adultos.

As espécies lenhosas apresentam limitações para o estabelecimento *in vitro*, principalmente se for utilizado material vegetal proveniente de plantas adultas, pois podem apresentar infestação interna ou externa por microrganismos. Devido a isso, a utilização de plântulas germinadas *in vitro*, em condições assépticas, torna-se vantajosa (SKIRVIN, 1981). Segundo Corder e Borges Junior (1999), vários fatores podem afetar o vigor germinativo das sementes e promover a formação de plântulas anormais ou sua morte, entre eles a dormência e a presença de microrganismos, sobretudo de fungos e bactérias. Por isso, os métodos de desinfestação devem ser eficazes, para que a plântula sirva de fonte de explante livre de fungos e bactérias.

Diante desse exposto, o objetivo deste trabalho é identificar a melhor assepsia para o estabelecimento de sementes de ipê-branco para cultivo *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal Lavras, utilizando-se sementes de plantas de *Tabebuia roseo-alba* cedidas pelo Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências desta universidade.

O meio de cultura utilizado foi o MS suplementado com 30,0 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e solidificados com 0,6% de Agar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Inicialmente, as sementes foram lavadas em água corrente e ficaram sob imersão em água corrente por 1 hora, depois, foram imersas em solução de etanol a 70% (v/v) nos seguintes tempos: 30 e 60 segundos. Em seguida, passaram para a imersão em solução de hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por diferentes tempos: 10 e 20 minutos, resultando em 4

tratamentos: T1, T2, T3 e T4 (Tabela 1). Em seguida, as sementes foram lavadas em água destilada autoclavada por três vezes e inoculadas.

Tabela 1. Tabela dos tratamentos das sementes de ipê-branco em álcool e posteriormente sob hipoclorito 2%.

Tratamento	Tempo Álcool (Segundos)	Tempo Hipoclorito (Minutos)
T1	30	10
T2	30	20
T3	60	10
T4	60	20

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de  $36 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $25\pm 2^\circ\text{C}$ . O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento. A avaliação após 10 dias da inoculação. Considerou-se como semente viável a que não apresentou contaminações e nem oxidações. Os resultados foram analisados estatisticamente através de uma análise de variância e, para os casos em que houve significância, pelo teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o gráfico, podemos observar que o aumento no tempo de exposição diminui a contaminação, mas aumenta a oxidação (Figura 1). As sementes que foram imersas em álcool por 30 segundos e hipoclorito 2% por 10 minutos apresentaram a melhor média de sementes normais, por isso é considerado o melhor tratamento.

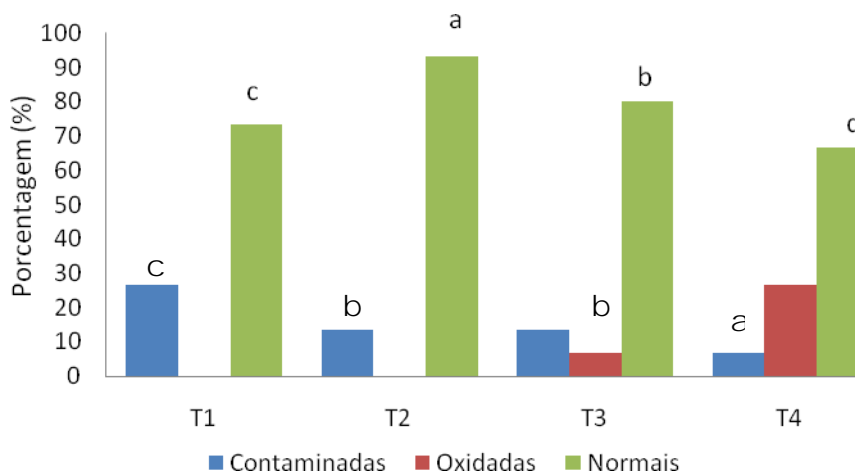


Figura 1. Porcentagem de desinfestação das sementes de ipê-branco.

O resultado deste estudo está de acordo com o de Andrade et al. (2000), que desinfestaram sementes de *Myracrodruon urundeuva* em álcool 70% por 30 segundos, seguido de hipoclorito de sódio 1% por 10 minutos, e as lavaram três vezes com água destilada, as quais não apresentaram nenhum tipo de contaminante.

## CONCLUSÃO

A desinfestação mais recomendada, nas condições deste experimento, para as sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba*) é deixá-las em álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito por 10 minutos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.

GEMAQUE, R. C. R. **Maturação, tolerância à dessecação e alterações na qualidade fisiológica em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) envelhecidas artificialmente**. 1999. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRIGOLETTO, E. R. **Micropropagação de *Hancornia speciosa* Gomez (Mangabeira)**. 1997. 76p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Brasília, Brasília, 1997.

KAGEYAMA, P.Y.; MARQUEZ, F.C.M. Comportamento de sementes de curta longevidade armazenadas com diferentes teores de umidade inicial: gênero *Tabebuia*, **Publicación Especial Instituto Nacional de Investigaciones Forestales**, v. 35, p. 347-352, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

## PALAVRAS-CHAVES

*Tabebuia roseo-alba*; desinfestação; contaminação; *in vitro*; sementes



## **Crescimento *Vriesea flammea* L. B. Smith em diferentes substratos.**

Stringheta, Ângela Cristina Oliveira<sup>1</sup>; Venegas, Victor Hugo Alvarez<sup>2</sup>, Silva, Derly José Henriques da<sup>3</sup>; Magalhães Jr., José Luiz Pinto<sup>4</sup>., Barbosa, José Geraldo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Professores da Universidade Federal de Viçosa (UFV) Departamento de Fitotecnia, Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-1116, e-mail: [angelaco@ufv.br](mailto:angelaco@ufv.br); <sup>2</sup> Professor da Universidade Federal de Viçosa Departamento de Solos; <sup>3</sup> Professor da Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia; <sup>4</sup> Estudante de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

### **INTRODUÇÃO**

A família Bromeliaceae possui distribuição geográfica neotropical, com apenas uma espécie representada fora do continente americano (Mc Williams, 1974). No Brasil encontra-se distribuída em todo território nacional, desde as caatingas aos campos de altitude, passando pelos campos rupestres (Leme e Marigo, 1993), sendo que, ao Leste do país, as espécies de bromélias são mais abundantes na Mata Atlântica (Reitz, 1983).

A Mata Atlântica é o ecossistema que possui maior diversidade e número de espécies endêmicas de bromélias do planeta. Entretanto, a exploração de grande parte destas plantas é feita mediante extrativismo.

Grandes quantidades destas bromélias são coletadas para serem comercializadas no mercado e para exportação a colecionadores e produtores europeus e norte americanos. A coleta com a finalidade comercial, é, geralmente, a que maiores danos traz a natureza, uma vez que, as quantidades coletadas são maiores (Carvalho, 2001).

Desta forma, a produção de bromélias em escala comercial se mostra uma atividade viável, podendo amenizar o problema da extração de plantas das matas ou reservas florestais.

Embora muitas vezes, a coleta possa salvar espécies de populações ameaçadas, em outras situações, onde o interesse é a comercialização ou o desejo de se colecionar plantas, corre-se o risco de destruir determinadas espécies (Carvalho, 2001).

Com relação aos substratos empregados, plantas epífitas, como bromélias, exigem substratos de baixa densidade, alta permeabilidade e aeração (Stringheta et al., 2001).

A fibra de xaxim é um material tradicionalmente utilizado como substrato no Brasil. O resíduo é proveniente da indústria de fabricação de vasos de xaxim e é empregado no cultivo de plantas epífitas (Backes, 1988). Esta samambaia apresenta crescimento lento, leva entre 15 a 18 anos para atingir o estágio ideal para extração (Lorenzi & Souza, 2001), portanto deve ser protegida e seu uso reprimido diante do risco de extinção da espécie.

Devido à extração indiscriminada e predatória, o xaxim foi incluído na Lista Oficial da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção (Portaria – IBAMA, nº 37/92), tendo hoje em dia sua comercialização proibida.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e a qualidade visual de plantas de *Vriesea flammea* L. B. Smith em diferentes substratos em substituição ao xaxim, fertilizadas ou não com o fertilizante B&G.

### **MATERIAL E MÉTODOS:**

Este experimento foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, no período de 03/09/2005 a 20/03/2007.

Selecionaram-se mudas originadas de propagação vegetativa da espécie *Vriesea flammea* L. B. Smith em estágio vegetativo com diâmetro entre 13 a 17 cm (aproximadamente 1/3 do tamanho da planta matriz). Fez-se a *toilet* das mudas com remoção das folhas senescentes, podas das raízes e do caule deixando-o com cerca de 1cm. As plantas selecionadas foram posteriormente distribuídas em vasos contendo 900 ml de substrato. Foram estabelecidos 10 substratos diferentes *versus* 2 formas de aplicação de fertilizantes (substratos com plantas fertilizadas e substratos com plantas não



fertilizadas). As mudas foram fertilizadas a cada 15 dias com aplicação de aproximadamente 4,17g de adubo B&G por vaso (total de 158,32g de adubo por vaso durante todo o experimento). Para constituição dos substratos estudados foram usados: casca de arroz carbonizada, pó de xaxim, brita 0 e cinazita (granulometria média 1 cm). Os tratamentos foram baseados em proporção volumétrica, deixando fixo 1/3 de casca de arroz carbonizada (CA) ou 1/3 de pó de xaxim (X), variando os restantes 2/3 em porcentagem de brita (B) e cinazita (C):

- |                         |                          |
|-------------------------|--------------------------|
| 1) CA + B(0%) + C(100%) | 6) X + B(0%) + C(100%)   |
| 2) CA + B(25%) + C(75%) | 7) X + B(25%) + C(75%)   |
| 3) CA + B(50%) + C(50%) | 8) X + B(50%) + C(50%)   |
| 4) CA + B(75%) + C(25%) | 9) X + B(75%) + C(25%)   |
| 5) CA + B(100%) + C(0%) | 10) X + B(100%) + C(0%). |

Cada um dos tratamentos foi estudado com plantas fertilizadas e não fertilizadas, como descrito anteriormente.

O crescimento das plantas foi avaliado quantificando-se produção de matéria seca das folhas, diâmetro médio e altura média das brotações.

A qualidade visual foi avaliada pelo vigor, pela coloração e pelo aspecto geral das plantas. No presente experimento entendeu-se como aspecto geral das plantas o conjunto de características: brilho, consistência das folhas e distribuição espacial das folhas na roseta, conjuntamente. Para as características visuais foram dadas notas de 1 a 5, sendo 5 representando desempenho excelente, 4 ótimo, 3 bom, 2 regular e, 1, ruim. A avaliação visual das plantas foi realizada por cinco profissionais ligados a pesquisa na área de produção de flores ou plantas ornamentais.

O experimento foi desenvolvido em esquema fatorial 2x 5x2, (sendo dois substratos fixos, 5 substratos variáveis e a forma fertilizada e não fertilizada) com delineamento em blocos casualizados com 4 repetições. Os resultados foram comparados estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste experimento revelaram efeito significativo da fertilização (Tabela 1) e não significativo do substrato variável para todas as características analisadas. Na avaliação do substrato fixo houve efeito significativo para as características: vigor, aspecto geral e matéria seca das plantas, assim como para diâmetro médio das brotações (Tabela 2).

Nas plantas fertilizadas pelo fertilizante B&G observaram-se resultados superiores para todas as características avaliadas (Tabela 1 e Figuras 1 e 2) .

Na avaliação do substrato fixo, quando houve diferença estatística significativa entre as características estudadas, as plantas cultivadas em xaxim observaram-se médias superiores àquelas cultivadas em casca de arroz carbonizada.

Tabela 1 - Efeito da fertilização nas características: cor, vigor, aspecto geral e matéria seca das plantas, e na média do diâmetro e na altura das brotações de *V. flammea*.

	Cor	Vigor	Aspecto geral	Matéria seca (g)	Média do diâmetro brotações(cm)	Média altura brotações (cm)
<b>Fertilizadas</b>	4,35 a	3,66 a	3,78 a	7,1 a	21,45 a	6,49 a
<b>Não fertilizadas</b>	2,21 b	2,52 b	2,42 b	5,39 b	18,13 b	7,08 b

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Efeito do substrato fixo nas características: cor, vigor, aspecto geral e matéria seca das plantas, e na média do diâmetro e na altura das brotações de *V. flammea*.

	Cor	Vigor	Aspecto geral	Matéria seca (g)	Média do diâmetro brotações(cm)	Média altura brotações (cm)
<b>Substrato fixo 1 (xaxim)</b>	3.35 a	3,34 a	3,38 a	6,58 a	21,00 a	6,75 a
<b>Substrato fixo 2 (Casca de arroz carbonizada)</b>	3,21 a	2.83 b	2.82 b	5.90 b	18.57 b	6.81 a

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.



Figura 1 : Vista panorâmica do experimento.

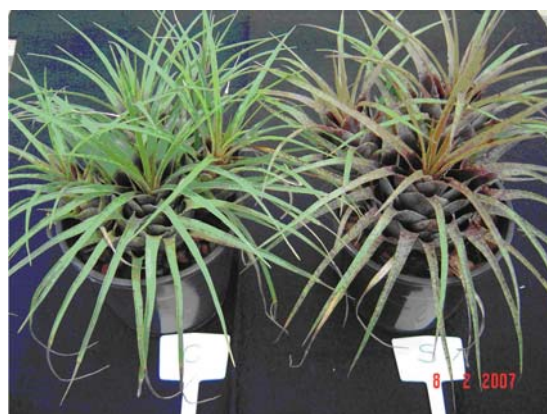


Figura 2 : À esquerda planta fertilizada e à direita planta não fertilizada de *Vriesea flammea*.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas, concluiu-se que plantas da espécie *Vriesea flammea* têm melhor crescimento e qualidade visual quando fertilizadas com adubo B&G, podem ser cultivadas em substratos contendo qualquer proporção de brita e cinazita

e que a casca de arroz carbonizada não é um substrato indicado para a substituição do xaxim.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACKERS, M. A.; KÄMPF, A. N.; BORDAS, J. M. **Substratos para produção de plantas em viveiros** In. Congresso Florestal Estadual, 6, Nova Prata, 1988. **Anais....** Nova Prata: Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, 1988.

CARVALHO, V. L. Conservação e coleta: enfoque ético/ ecológico. **Bromélia**, Rio de Janeiro, v.6, p.25-26, 2001.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais renováveis. Portaria nº 37, publicada em 03/04/1992.

LEME, E. M. C. & MARIGO, L. C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo, Comunicação Visual, 1993. 183 p.

LORENZI, H. & SOUSA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 3 ed. Nova Odessa: Plantarum. 2001. 1087 p.

MC WILLIAMS, E. L. Evolutionary ecology. In: **Flora Neotropica, Monograph 14, Pitcairnioideae (Bromeliaceae)**. New York: Hafner Press. 1974. p.40-64.

REITZ, R. **Bromeliáceas e a Malária Endêmica**. 1983, Itajaí - SC. 808p.

STRINGHETA, A. C. O.; SILVA, D. J. H.; CARDOSO, A. A.; PINTO, S. A.; BARBOSA, J. G. **Avaliação do crescimento e desenvolvimento de mudas de bromélias (*Tillandsia tenuifolia*) com segmentos de caule de diferentes comprimentos** In. Congresso Brasileiro de Fruticultura e Plantas Ornamentais, XIII, São Paulo, 2001. **Anais....** Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais, 2001.

PALAVRAS CHAVES: *Vriesea flammea*, Bromélia, Propagação, Plantas ornamentais, Substratos.

## **Eficiência de enraizamento de estacas apicais de Tango, submetidas a diferentes substratos**

Muniz, Moisés Alves<sup>1</sup>, Sá, Perciane Gonçalves<sup>2</sup>, Barbosa, José Geraldo<sup>3</sup>, Barbosa, Mauricio Soares<sup>4</sup>, Yumbra, Maria Orbes<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000 e-mail: mmuniz76@yahoo.com.br, <sup>2</sup> Mestranda Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000 e-mail: percianedesa@yahoo.com.br; <sup>3</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia (UFV) Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000, tel. (31)3899-2615, e-mail: jgeraldo@ufv.br, <sup>4</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000 e-mail: mausbarbosa@yahoo.com.br, <sup>5</sup> Mestranda Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFV), Campus UFV, Viçosa-MG, CEP: 36570-000 e-mail: maryo79@yahoo.com

O tango (*Solidago canadensis* L.), da família Asteraceae, é uma planta ornamental herbácea e que, devido à beleza de suas inflorescências, é comercializado como flor de corte. Apesar de muito cultivada nas mais variadas regiões do país, pouco estudo tem sido realizado sobre a propagação vegetativa desta planta. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de AIB e de diferentes substratos no enraizamento de estacas de tango. Estacas de 5 cm de comprimento, foram coletada e tiveram 1 cm da sua base imersa em AIB, 2000 ppm, na formulação de pó e em água e colocadas para enraizar em 11 substratos, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x11, com 5 repetições. Foram utilizados os substratos Pó de coco, casca de arroz carbonizada, carvão de cana, vermiculita, fibra de coco, vermiculita+pó de coco, carvão de cana +vermiculita, perlita +fibra de coco, vermiculita +perlita, Vermiculita+perlita +pó de coco, fibra de coco + pó de coco. Todas as misturas foram feitas na proporção 1:1 em volume. Após 15 dias avaliou-se o número de estacas enraizadas, número de raiz, comprimento da maior raiz e peso de matéria seca de raiz. Não houve efeito de hormônio para numero de raiz/estaca, comprimento da maior raiz e numero de estacas enraizadas. Observou-se interação entre hormônio e peso de matéria seca de raiz onde o substrato casca de arroz carbonizada possibilitou maior produção (57,7 mg), enquanto o substrato perlita +fibra foi o menos eficiente, com 0,6 mg. Maior número de raízes/estacas foi obtido no substrato casca de arroz carbonizada (20,7), sendo o menor obtido no substrato perlita +fibra de coco (2,4). Houve 100% de enraizamento para todos os substratos, exceto fibra de coco onde o mesmo não ocorreu.

## Propagação por estaquia das plantas ornamentais lantana e tapete-inglês em diferentes substratos.

Petry, Claudia <sup>1</sup>; Nienow, Alexandre A <sup>1</sup>; Wegher, Fernanda N <sup>2</sup>; Albrecht, Cristiane <sup>2</sup>; Schillo, Reginaldo <sup>2</sup>; Calvete, Eunice Oliveira<sup>1</sup>;

1. Universidade de Passo Fundo (UPF), Professores da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), Programa de pós-graduação em Agronomia (PPG-Agro). Caixa Postal 611, Passo Fundo, 99001-970, RS ([petry@upf.br](mailto:petry@upf.br)); 2. Acadêmicos do curso de Agronomia (FAMV/UPF)

### INTRODUÇÃO

O arbusto cambará (*Lantana camara* L.) é uma espécie nativa do Brasil, com amplo uso em paisagismo, devido a floração prolongada que atrai avifauna local. A *Polygonum capitatum* Buch.-Ham, o exótico tapete-inglês, tem alto valor ornamental como forração, mas com uso restrito pela falta de oferta de mudas. Ambas apresentam alta rusticidade e fácil adaptação em diferentes ambientes e tipos de substratos, possibilitando seus cultivos tanto em vasos como em jardins (Lorenzi & Sousa, 2001). Podem ser utilizadas como cobertura de solo, evitando a erosão, sobretudo em áreas declivosas e degradadas.

A *Lantana camara* é um arbusto perene, ramificado, de textura semi-herbácea, florífero, piloso, originário das Antilhas até o Brasil, de 0,50 m a 2,0 m de altura, de ramos eretos ou reclinados, às vezes com espinhos, possuindo folhas hirsutas (Lorenzi & Souza, 2001). A espécie *Polygonum capitatum* é uma herbácea perene, reptante, originária do Himaláia e Índia, de 15-20 cm de altura, com ramagem fina e cor castanha, com folhas providas de desenhos angulares marrom-arroxeados. Apresenta inflorescências curtas, globosas e densas, com numerosas flores pequenas rosas, formadas durante quase o ano todo e costuma aparecer espontaneamente em fendas de muros, paredes e pisos, por semeadura espontânea. Sendo uma espécie rústica e que aprecia baixas temperaturas, ela adapta-se perfeitamente ao clima e solos da região do Planalto Médio gaúcho. Segundo Lorenzi & Souza (2001), multiplica-se facilmente pelos ramos já enraizados em contato com o solo e por divisão da planta, podendo ser efetuada em qualquer época do ano. Embora essas possibilidades de propagação, ainda não se encontram fornecedores de mudas e um protocolo de produção definido para a espécie.

Segundo Grolli (2000), o método por estaquia é um dos processos mais utilizados, em razão do grande aproveitamento do material vegetativo proporcionado pela planta matriz. As estacas podem ser retiradas das mais variadas partes das plantas, como ramos, caules, folhas e raízes. Estacas de caules podem ser tomadas de diferentes porções da planta e classificadas quanto à consistência e à localização na planta, como no caso da lantana, subdividindo-se em estacas apicais e medianas. As herbáceas são retiradas das pontas dos ramos em crescimento, normalmente com folhas. Baseado neste princípio, a espécie tapete-inglês pode fornecer estacas a partir da segmentação de ramos em seções menores, que contenham ao menos uma gema.

Portanto, para uma melhor utilização destas plantas, busca-se através da propagação vegetativa por estacas, a obtenção rápida de mudas de alta qualidade, com bom sistema radicial formado, promovendo a adaptação das mudas quando usadas na seqüência em paisagismo. Isto é facilitado ao utilizar-se como condicionador o mesmo solo mineral do local de implantação da muda a campo. Portanto, buscou-se avaliar o processo de estaquia destas duas espécies, submetidas a três substratos, em estufa com nebulização.

### MATERIAL E METODOS

Realizou-se na primavera de 2005 dois experimentos, um para cada espécie, em estufa com nebulização intermitente, localizada no Setor de Horticultura da FAMV/UPF, Brasil (latitude de 28° 15' 41" S, longitude de 52° 24' 45" W e altitude média de 709 m). A

estufa utilizada era com estrutura de alumínio galvanizado, teto em arco, revestida com polietileno de baixa densidade, com aditivo anti-ultravioleta e espessura de 150 micras, dotada de cortinas laterais móveis, com tela de sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente (10 segundos a cada 10 minutos), que permitia formar uma lâmina de água sobre as estacas evitando a desidratação das mesmas.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental de quatro blocos casualizados, com 12 estacas por parcela. Os três substratos avaliados foram: casca de arroz carbonizada (CAC); mistura de solo mineral (latossolo vermelho distrófico) e composto orgânico (1:1); e areia. No experimento com a lantana foi adotado o esquema de parcela subdividida, com substratos nas parcelas e tipos de estacas (apicais e medianas) nas subparcelas.

As estacas de *Lantana camara* foram coletadas em 1° de setembro, de arbustos de um ano e meio, que compõem uma cerca-viva no sentido leste-oeste, em Passo Fundo, RS. No mesmo dia, após a padronização com 5 cm de comprimento, deixando apenas duas folhas do nó superior, as estacas foram enterradas 2 cm em bandejas de isopor de 72 células, contendo os diferentes substratos. Os segmentos de *Polygonum capitatum* foram retirados no mesmo local e no mesmo dia, e padronizados também com 5 cm de comprimento.

Avaliou-se o percentual de estacas vivas (PV), mortas (PM) e enraizadas (PE); comprimento da maior raiz (CMR) e massas fresca (MF) e seca (MS) do sistema radicial (SR) e da parte aérea (PA), submetendo os dados à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a lantana, a análise estatística dos resultados obtidos, após o período de enraizamento de 78 dias, demonstrou que os diferentes substratos e tipos de estacas não influenciaram os parâmetros avaliados (Tabela 1), com exceção do comprimento da maior raiz, que variou significativamente conforme o tipo de estaca. Nas estacas apicais o comprimento médio foi de 10,4 cm, enquanto que nas estacas medianas de 8,4 cm.

Tabela 1 - Resumo do quadro de análise de variância (quadrado médio/QM, graus de liberdade/GL e coeficiente de variação/CV) para a percentagem de plantas mortas, vivas, enraizadas, com brotos e comprimento de maior raiz (cm), em *Lantana camara* submetida a três substratos e dois tipos de estacas. Passo Fundo/RS, 2006.

Causas da Variação	GL	QM				Comprimento maior raiz
		% plantas				
		mortas	vivas	enraizadas	brotadas	
Bloco	4	2439,88*	2439,88*	2439,88*	2259,11*	4.64
Substrato(S)	2	37,04	37,04	37,05	342,52	7.82
Resíduo 1	8	384,27	384,27	384,27	377,33	4.66
Tipo estaca (TE)	1	37,06	37,09	37,09	9,26	31.33*
Int. S x TE	2	1148,17	1148,16	1148,16	398,13	10.51
Resíduo 2	12	615,64	615,64	615,64	523,10	5.83
TOTAL	29					
Média		35,6 %	64,4 %	64,4 %	53,9 %	9,38 cm
C.V. 1 (%)		55,13	30,42	30,42	36,05	23.01
C.V. 2 (%)		69,78	38,50	38,50	42,44	25.76

C.V.= Coeficiente de variação; \*Significância a 5%.

Os diferentes substratos não influenciaram, portanto, no processo de enraizamento de estacas de lantana após 78 dias. Das estacas avaliadas, morreram 35,6 % e a totalidade

das que permaneceram vivas enraizaram (64,4 %). Houve brotação em metade das estacas vivas. Ehlert et al (2003), trabalhando com propagação vegetativa da alfavaca-cravo em diferentes substratos e diferentes tipos de estaca, verificou altas porcentagens de enraizamento nas estacas medianas sem folhas e nas apicais com folhas. No caso da lantana, o tipo de estaca afetou apenas o comprimento da maior raiz, com as maiores raízes surgindo no material menos lignificado (as estacas apicais).

Também não houve influência dos substratos na produção de biomassa e massa seca das estacas de lantana (Tabela 2). A produção total de biomassa (6,73 g) e de massa seca (1,58 g) indicam que 77 % do material é composto por água, e que se houver a compartimentação desta nos dois órgãos vegetais, 58,8 % estará na parte aérea e 41,2 % nas raízes formadas, demonstrando a importância de se manter um ambiente com nebulização intermitente e um substrato poroso com água facilmente disponível.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para as massas fresca e seca (g) da parte aérea e do sistema radicial, em *Lantana camara* submetida a três substratos e dois tipos de estaca (UPF, Passo Fundo, RS, 2006)

Causas da Variação	GL	Quadrado Médio (QM)			
		Parte aérea		Parte radicial	
		MF	MS	MF	MS
Bloco	4	7,61*	0,39	11,83	0,64
Substrato (S)	2	6,22	0,07	4,54	0,52
Resíduo 1	8	1,55	0,09	3,69	0,33
Tipo de estaca (TE)	1	3,86	0,17	0,97	0,69
Int. S x TE	2	0,65	0,11	4,97	1,04
Resíduo 2	12	3,30	0,20	3,79	0,29
TOTAL	29				
Média (g)		3,96	0,93	2,77	0,65
C.V. 1 (%)		31,44	31,75	69,48	88,90
C.V. 2 (%)		45,82	47,63	70,40	83,70

MF= Massa Fresca; MS= Massa seca; C.V. = coeficiente de variação; \* Significância em nível de 5%.

Por ser um arbusto nativo e rústico, a *Lantana camara* possui ampla capacidade de desenvolvimento por propagação vegetativa, permitindo a propagação por estaquia em diferentes substratos e estacas de diferentes partes dos ramos, viabilizando o aumento da produção de mudas em relativo curto espaço de tempo.

Já, para a herbácea tapete-inglês, de acordo com a análise de variância, não houve diferença significativa entre os substratos para o número de plantas mortas, vivas, enraizadas e com brotos (Tabela 3). Também o comprimento da maior raiz e o número de flores, não apresentaram respostas aos tipos de substratos avaliados. Aos 105 dias de condução do experimento, 93,3 % das estacas apresentavam-se vivas, enraizadas e com brotações. O comprimento da maior raiz ultrapassou 14 cm.

Tabela 3 – Resumo da análise da variância de variáveis morfológicas de estacas (E) de *Polygonum capitatum*, submetidas a diferentes substratos (UPF, Passo Fundo, RS, 2006)

Causas da variação	GL	Quadrado Médio (QM)				CMR
		E. mortas	E. vivas	E. c/ raiz	E. c/brotos	
Blocos	4	0,60	0,60	0,60	0,60	1,79
Substrato	2	0,60	0,60	0,60	0,60	3,75
Erro	8	0,60	0,60	0,60	0,60	0,94
Total	14					
Média		6,7%	93,3 %	93,3 %	93,3 %	14,1cm
C.V. (%)		96,82	6,92	6,92	6,92	6,90

CMR = comprimento da maior raiz; C.V.= Coeficiente de variação.

Aos 105 dias, a altura das plantas, a produção de biomassa e de massa seca da parte aérea e sistema radicular foram superiores com o substrato obtido com a mistura de solo mineral e composto orgânico (Tabela 4). As flores, no entanto, produziram de forma semelhante nos substratos casca de arroz carbonizada e na mistura solo + composto.

Tabela 4 – Massa fresca da raiz (MFR) e da parte aérea (MFPA); massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR); altura da parte aérea (cm) e quantidade de flores de estacas de *Polygonum capitatum* submetidas a três diferentes substratos (UPF, Passo Fundo, RS, 2006)

Substratos	MFR	MFPA	MSPA	MSR	Altura (cm)	Nº de Flores
	(g)					
SM : CO (1:1)	4,64 a	18,85 a	3,07 a	0,55 a	29,61 a	8,6 ab
CAC	1,57 b	7,85 b	1,51 b	0,15 b	20,31 b	9,2 a
Areia	0,94 b	4,46 c	1,18 b	0,25 b	17,35 b	7,6 b

SM= Solo mineral; CO= Composto orgânico; CAC = Casca de arroz carbonizada; Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5% de significância.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que para as duas espécies, o ambiente de nebulização permitiu o enraizamento. Para estacas de lantana, substratos elaborados com solo + composto orgânico (1:1), casca de arroz carbonizada e areia, propiciaram satisfatório enraizamento. Para o enraizamento e desenvolvimento do tapete-inglês, o melhor substrato foi a mistura de solo mineral local + composto orgânico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS:

EHLERT, P.A. D.; LUZ, J.M.Q.; INNECCO, R. Propagação vegetativa da alfavaca-cravo utilizando diferentes tipos de estacas e substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p.10-13. 2004.

GROLLI, P.R. Propagação de plantas ornamentais. In: PETRY, C. (org.) **Plantas ornamentais: aspectos para a produção**. Passo Fundo: Ediupf, 2000. p.41-52.

LORENZI, H.; SOUSA, H.M.; **Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, S.P: Plantarum, 2001.869 p.

## PALAVRAS- CHAVE

*Lantana camara* L.; *Polygonum capitatum* Buch.-Ham.; propagação vegetativa; estacas.



## Propagação e desenvolvimento de grama-preta em diferentes substratos.

Petry, Claudia<sup>1</sup>; Rech, Juliano<sup>2</sup>; Vanin, Jucelaine<sup>2</sup>; Bortoluzzi, Edson Campanhola <sup>1</sup>; Calvete, Eunice Oliveira<sup>1</sup>;

1. Universidade de Passo Fundo (UPF), Professores da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPG-Agro). Caixa Postal 611, Passo Fundo, 99001-970, RS ([petry@upf.br](mailto:petry@upf.br)); 2. Acadêmicos do curso de Agronomia (FAMV/UPF).

## INTRODUÇÃO

*Ophiopogon japonicus* Ker-Gawl é uma angiosperma da família Liliaceae, planta herbácea estolonífera perene originária da China e Japão, com 20-30 cm de altura, acaule e com folhas lineares, finas e verde-escuras recurvadas. Observa-se também a forma variegada e folhas verdes amareladas, bem como anãs, ambas ainda raras, e que não florescem (Lorenzi e Souza, 1995). Mesmo havendo cerca de quatro mil espécies encontradas em quase todo o mundo, desde as zonas mais quentes até as temperadas (Gemtchújnicov, 1976), ainda são mais comuns e importantes no antigo continente que no americano (Schultz, 1990). A grama-preta é uma espécie bem adaptada tanto a pleno sol, quanto a meia sombra e é utilizada em bordadura e forração; não suporta pisoteio, multiplicando-se por divisão de touceiras.

Nesse método divide-se a planta matriz em mudas que contenham parte aérea e raiz que podem ser podadas ou não, como forma de estimular a brotação. Os brotos novos, normalmente surgem lateralmente na touceira a cada estação de crescimento e no processo de propagação, descarta-se a parte central, mais velha (Hartmann et al., 2002). Herbácea perene, a touceira de grama-preta pode ser dividida manualmente em diversas mudas, compatíveis com o tamanho da planta matriz. Para Nau (1996), o sucesso da divisão de touceira dependerá da identificação da melhor época e idade da planta, para obter o maior número possível de mudas e da definição do tamanho da muda para cada espécie. As mudas devem ser replantadas na mesma profundidade da planta original (Arbury et al., 1997). Embora esse método seja prático e rentável, ele pode ser de longa duração na escala comercial.

Para favorecer uma emissão rápida de raízes, Lemaire et al. (1989) sugerem que o substrato tenha alta disponibilidade de água e porosidade total, além de baixa resistência à penetração mecânica de raízes. Em *Pelargonium*, estes autores encontraram velocidades maiores de emissão de raízes nos substratos contendo vermiculita e turfa isolada, em relação à mistura de turfa e areia, e quando usada areia pura, portanto substratos mais leves e menos densos proporcionaram a maior emissão de raízes. Usualmente, a comercialização de grama-preta ainda é por caixas com substrato argiloso, mais prático, onde as mudas estão sob condições limitadas de espaço, volume e talvez a qualidade do substrato, o que restringe seu desenvolvimento inicial, mesmo apresentando um desenvolvimento normal após o transplante. Em função do exposto o presente trabalho buscou avaliar a viabilidade da propagação vegetativa por touceiras e o desenvolvimento de variedades da grama preta, *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawl. quando submetidas a diferentes substratos, que variam de textura leve mais orgânica até textura mais argilosa.

## MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos realizados na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF com duração de 12 semanas foram conduzidos em estufa com nebulização intermitente (10 segundos a cada 10 minutos) de setembro a dezembro de 2005. Nesses experimentos, avaliou-se: a) a variedade anã (mais rara) e b) a de porte padrão (mais comum), sendo estas submetidas a três substratos: i) Solo mineral (SM) franco-argiloso (Latossolo Vermelho distrófico); ii); Mistura orgânica 3:1:1 (3 partes de composto orgânico: 1 parte de SM : 1 parte

de areia); iii) Casca de arroz carbonizada (CAC). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com arranjo bifatorial (3 X 5 com 4 repetições), com parcelas subdivididas no tempo (5 épocas). Os resultados das análises físicas dos três substratos avaliados podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Densidade (D), densidade de partículas (Dp), porosidade total (PT), porosidade de aeração (PA) em distintas tensões, e água facilmente disponível às plantas (AFD) de três substratos utilizados em ensaio com grama-preta propagada por divisão de touceiras (UPF, Passo Fundo, 2005)

Substrato	D	Dp	PT	Tensão PA (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )			Tensão AFD (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )	
	(g/cm <sup>3</sup> )	(m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )	(m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )	Saturado	a 10cm <sup>2</sup>	a 50cm	Saturado de 10 a 50cm	de 10 a 50cm
SM <sup>1</sup>	1,011	2,235	0,548	-0,045	-0,006	0,217	0,262	0,223
Mix	1,026	2,235	0,541	-0,029	0,007	0,247	0,275	0,240
CAC	0,233	4,524	0,948	0,145	0,297	0,779	0,634	0,482

1) SM = solo mineral; Mix = mistura (3 composto orgânico : 1 solo mineral : 1 areia); CAC = Casca de arroz carbonizada. 2) Magnitude métrica determinado em mesa de tensão o qual corresponde a uma tensão de água aplicada ao solo.

A Tabela 2 apresenta os resultados da composição granulométrica e da distribuição de areia do material a base de solo mineral utilizado no ensaio.

Tabela 2 – Composição granulométrica do solo determinada pelo método do densímetro, a base de massa de solo seco e distribuição das frações de areia do material determinada pelo método do peneiramento (UPF, Passo Fundo, 2005)

	Argila	Silte	Areia	Fração Areia (diâmetro em mm)				
				Muito grossa >1	Grossa 0,5-1	Média 0,25-0,5	Fina 0,105-0,25	Muito fina 0,105-0,053
	%			% da fração areia total				
SM <sup>1</sup>	50,4	16,0	33,6	1,15	3,08	20,04	57,70	18,04
Mix	15,3	4,4	80,3	8,61	27,0	48,94	12,83	2,61

1) SM = solo mineral; Mix = mistura (3 composto orgânico : 1 solo mineral : 1 areia);

Os resultados da análise química completa do solo mineral e do substrato Mix se encontram na Tabela 3, a seguir.

Tabela 3 – Resultados da análise química completa do solo mineral e do substrato mix, utilizados no ensaio com grama-preta propagada por divisão de touceiras (Laboratório de Solos, FAMV, UPF, Passo Fundo, RS, 2005)

	pH	P	K	M.O.	Al	Ca	Mg	H+Al	CTC	Saturação %			S	B	Mn	Zn	Cu
	SMP	mg	dm <sup>3</sup>	%	-----cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----					Bases	Al	K	-----mg/dm <sup>3</sup> -----				
SM <sup>1</sup>	5,6	4	100	2,7	1,9	1,9	1,2	6,9	10,3	33	36	2,5	15	0,4	19	1,1	2,2
Mix	6,6	47	494	5,2	0,0	8,4	3,5	2,2	15,4	86	0	8,2	42	>2,3	7	6,5	0,6

1) SM = solo mineral; Mix = mistura (3 composto orgânico : 1 solo mineral : 1 areia); Arg.= argila; M.O.= matéria orgânica; CTC= capacidade de troca de cátions.

A parcela foi formada por 20 mudas com 5 folhas cada, sendo que na implantação, cada muda recebeu uma poda leve da parte aérea e das raízes existentes, buscando a padronização do tamanho de muda e também gerar um estímulo à brotação. Nesse material analisou-se a biomassa e a massa seca das raízes e da parte aérea na implantação e na 3<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup> e 12<sup>a</sup> semanas seguintes, visando obter a curva de crescimento ao longo deste

período. Aplicou-se teste F, análise de regressão para dados quantitativos e teste Duncan 5% para dados qualitativos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se um crescimento linear das duas variedades, contudo a variedade padrão apresentou um crescimento de raízes maior que o da parte aérea. A partir da 9ª semana, o substrato (i) mistura orgânica proporcionou para essa variedade uma maior massa seca da parte aérea, não diferindo em produção, na 12ª semana, do substrato SM (Tabela 4). Essa resposta pode estar relacionada aos valores de pH 6,6 e 5,6, respectivamente para os dois substratos e a maior disponibilidade de nutrientes. O pH está relacionado principalmente com a disponibilidade de nutrientes e elementos tóxicos, decomposição da matéria orgânica, fixação biológica de nitrogênio e crescimento das raízes (Floss, 2004). Em pH baixo há mais alumínio disponível e segundo Kaminski et al. (1989), este elemento inibe a alongação das células do eixo principal, tornando as raízes engrossadas, inchadas, com coloração marrom, menor número de ramificações, quebradiças e ocasionalmente com manchas necróticas. Talvez o pH mais elevado da mistura orgânica auxilie também a explicar o melhor desempenho da massa seca das mudas de grama-preta comum neste substrato.

Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) de grama-preta (*Ophiopogon japonicus*) variedade comum produzida por divisão de touceiras em três substratos: casca de arroz carbonizada (CAC); mistura orgânica (Mix) de composto orgânico, solo mineral e areia na proporção 3:1:1; e solo mineral (SM) franco-argiloso, em 4 avaliações ao longo de 12 semanas (UPF, Passo Fundo, 2006)

Substratos	MSPA (g)			
	3ª semana	6ª semana	9ª semana	12ª semana
CAC	0,36	0,70	0,73 b	0,75 b
Mix	0,26	0,73	0,95a	0,95a
SM	0,36	0,65	0,75 b	0,87ab

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo teste Duncan a 5% de significância.

Para a variedade anã, os substratos não afetaram as produções de biomassa e de massa seca das touceiras (Figura 1). Nas duas variedades, as raízes apresentaram maiores massas d'água e com crescimento linear mais ascendente em relação à parte aérea.

Isto denota um comportamento rústico e agressivo da espécie, visto que na prática ela apresenta um sistema radicular que se prolifera rapidamente no canteiro após a implantação.

Provavelmente, as raízes brancas e engrossadas encontradas nessas plantas, bem como a sua capacidade de armazenar água, que explicam sua alta resistência ao estresse hídrico em períodos de estiagem. Para a produção de mudas por touceira de grama preta, os resultados estatísticos permitem inferir que é possível utilizar, qualquer um destes substratos, estando eles disponíveis, assim pode utilizar critérios outros como a disponibilidade de material e o seu custo. Entretanto, sempre que possível optar pelo substrato que apresentar melhor fertilidade (Fermino & Bellé, 2000), visando a obtenção de mudas com melhor qualidade para o uso em paisagismo.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que os substratos avaliados não afetaram a resposta quanto a propagação por touceiras de grama preta anã na primavera, e a partir da 9ª semana de cultivo, substratos com solo mineral e composto orgânico favoreceram o crescimento da grama preta comum. Essas respostas permitem inferir na possibilidade de combinação de substratos, em função da disponibilidade local de condicionadores, auxiliando a produção de grama preta com a

obtenção de mudas aptas a serem utilizadas em paisagismo a partir da 3ª semana de cultivo de plantas oriundas de touceiras.

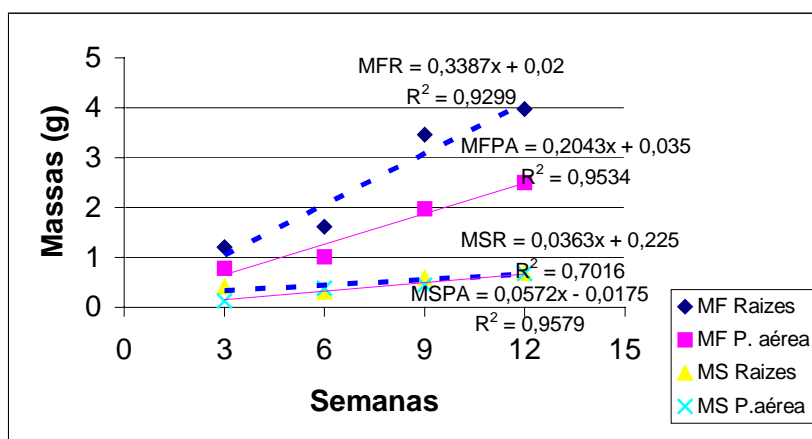


Figura 1 - Massas fresca (MF) e seca (MS) das raízes (R) e da parte aérea (PA) de grama-preta (*Ophiopogon japonicus*) variedade anã produzidas por divisão de touceiras em função de diferentes substratos (UPF, Passo Fundo, RS, 2006).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ARBURY, J.; BIRD, R.; HONOUR, M.; INNES, C.; SALMON, M. **The complete book of plant propagation**. Newtown: The Taunton Press, 1997. 224p. il.
- FERMINO, M. H.; BELLÉ, S. Substratos horticolas. In: PETRY, C. (org.) **Plantas ornamentais, aspectos para a produção**. Passo Fundo: Editora UPF, 2000. p.29-40.
- FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas: O Estudo que está por trás do que se vê**. Passo Fundo: Editora UPF, 2004. 528 p.
- GEMTCHÚJNICOV, I. D.; **Manual de taxonomia vegetal**. 16 ed. São Paulo: Ceres, 1976, 368 p. il.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.; DAVIES Jr., F.T.; GENEVE, R.L. **Hartmann and Kester's Plant propagation, principles and practices**. 6ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. 880p. il.
- KAMINSKI, J.; VOLKWEISS, S.J.; BECKER, F.C. **Corretivos da Acidez do Solo**. Santa Maria: Imprensa Universitária - UFSM, 1989.
- LEMAIRE, F.; DARTIGUES, A.; RIVIERE, L.M.; CHARPENTIER, S. **Cultures en pot et conteneurs: principes agronomiques et applications**. Paris: INRA, 1989.184p. il.
- LORENZI, H.; SOUSA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum;1 995; 720p. il.
- NAU, J. **Ball Perennial manual: propagation and production**.Illinois: Ball publishing. 1996. 487p. il.
- SCHULTZ, A.; **Introdução à botânica sistemática**. 6 Ed. Porto Alegre: Sagra, 1990, 414 p. il.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Ophiopogon japonicus* Ker-Gawl.; divisão de touceiras; propagação vegetativa;

## Germinação de sementes de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb. Clusiaceae)

Pereira, Leandro Barradas<sup>1</sup>, Marcolino, Karina Guimarães<sup>2</sup>, Castilho, Regina Maria Monteiro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Avenida Brasil nº 56, CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (18) 3743-1000, e-mail: [lbpereira@aluno.feis.unesp.br](mailto:lbpereira@aluno.feis.unesp.br), <sup>2</sup>Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, e-mail: [kgmarcolino@aluno.feis.unesp.br](mailto:kgmarcolino@aluno.feis.unesp.br)  
<sup>3</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – UNESP/Campus de Ilha Solteira, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br).

### INTRODUÇÃO

*Calophyllum brasiliensis* Camb. (Clusiaceae), popularmente conhecida como guanandi, jacarúba, pau-de-santa-maria, é uma árvore de 20 a 30 m de altura e 40 a 50 cm de DAP (diâmetro na altura do peito). No Brasil, sua ocorrência abrange os estados do Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo, Tocantins e Distrito Federal (Carvalho, 1994; Lorenzi, 1992). É indicado para reposição de mata ciliar em locais sujeitos a inundações periódicas de média a longa duração, bem como em solos encharcados por períodos que variam entre três e quatro meses anualmente. Apresenta potencial paisagístico, sendo utilizada em arborização de praças, ruas e avenidas (Marques, 1994).

As sementes de guanandi apresentam dormência tegumentar, que pode ser superada por escarificação mecânica ou estratificação em areia úmida por 60 dias. Sem aplicação de tratamentos para superação de dormência, a germinação pode demorar até seis meses (Carvalho, 1994). A semente é extraída por maceração, retirando-se epicarpo e mesocarpo, permanecendo o endocarpo aderido à testa (Marques & Joly, 2000). Lorenzi (1992) sugere a utilização direta do fruto como semente, sem despulpá-lo. As sementes de guanandi armazenadas apresentaram viabilidade por oito meses (Espinosa et al., 1981).

Sementes despulpadas por morcegos não necessitam de tratamento pré-germinativo, já que a remoção do pericarpo pelos morcegos acelera a protusão da radícula (Marques, 1996).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação de sementes de guanandi interagindo a escarificação mecânica com diferentes tempos de embebição.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido sob telado 50%, na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Engenharia – UNESP, Campus de Ilha Solteira, com latitude 20°25' S, longitude 51°21' W e altitude de 330m, no Município de Ilha Solteira – SP, no período de 08/10/05 a 03/12/05..

As sementes foram distribuídas em jardineiras de plástico preto, preenchidas com areia grossa.

Os tratamentos (T) foram: T1 - Testemunha; T2 - escarificação mecânica; T3 - imersão em água por 24 horas e T4 - escarificação mecânica e imersão em água por 24 horas. As sementes foram escarificadas na região do hilo, com o auxílio de um esmeril.

A germinação das sementes foi avaliada em intervalos de 8 dias, sendo realizadas um total de cinco avaliações.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 repetições/tratamento, sendo 26 sementes por repetição.

Os resultados foram avaliados através do programa ESTAT – Sistema para Análises Estatísticas. Obteve-se a análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, para comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

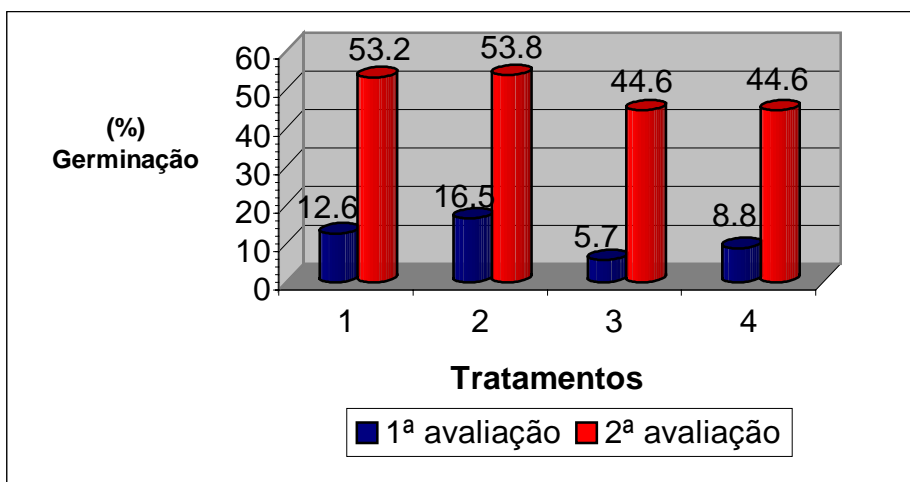
**Tabela 1:** Número de sementes germinadas e porcentagem (%) de germinação de *Calophyllum brasiliense* Camb. em quatro diferentes tratamentos.

Tratamentos	Número médio de sementes germinadas	Porcentagem de germinação
1- Testemunha	13,83 A	53,26
2- Escarificação mecânica	14,00 A	53,8
3- Imersão em água por 24 horas	11,60 A	44,6
4- Escarificação mecânica e imersão em água por 24 horas	11,66 A	44,6
CV %	24,44	
DMS	5,05	

CV % - Coeficiente de variação.

DMS – Diferença mínima significativa.

Com relação à Tabela 1, observa-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para a variável número médio de sementes germinadas e porcentagem (%) de germinação. Portanto, a embebição em água e a escarificação mecânica não influenciaram a germinação.



**Gráfico 1 :** Porcentagem de germinação na primeira e última avaliação.

Pelo Gráfico 1, observa-se que a porcentagem de germinação na primeira avaliação, feita na data 03/11/2005, foi maior no tratamento 2 (escarificação mecânica),

mantendo maior até a quinta avaliação, realizada na data 03/12/2005. A menor porcentagem de germinação ocorreu no tratamento 3 (imersão em água por 24 horas), observadas na primeira e quinta avaliação. A imersão em água (tratamento 3) e a escarificação mecânica com imersão em água destilada (tratamento 4) não apresentaram melhores resultados que a escarificação mecânica (tratamento 2).

A porcentagem e início de germinação está dentro dos limites verificados por MARQUES et al., 2000, sendo bastante variável (15 a 95%) para a porcentagem, e a germinação, que no presente trabalho ocorreu aos 27 dias após a semeadura, podendo ocorrer em até 145 dias.

## CONCLUSÃO

A escarificação mecânica, imersão em água destilada e a imersão em água destilada com escarificação mecânica não mostraram diferença na germinação do guanandi.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Colombo: Embrapa-CNPQ, 1994, 640p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. 640p.

ESPINOSA, C.V.; VALERA, F.P.; PACHECO, A.A.R. Viabilidade de semillas en 72 especies forestales tropicales almacenadas al medio ambiente. In: REUNIÓN SOBRE PROBLEMAS EN SEMILLAS FORESTALES TROPICALES, 1980, México. **Reunion ...** San Felipe: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, 1981. v.1, p.325-346. (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Publicación Especial, 35).

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

MARQUES, M.C.M. **Estudos auto-ecológicos do guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb. Clusiaceae) em uma mata ciliar do Município de Brotas, SP.** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1994. 92p. Dissertação Mestrado.

MARQUES, M.C.M.; FISCHER, E. Quiropterocoria em *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47., 1996, Nova Friburgo. **Resumos.** Rio de Janeiro: Sociedade Botânica do Brasil, 1996. p.417.

MARQUES, M.C.M.; JOLY, C.A. Germinação e crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de florestas inundadas. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.14, n.1, p.113-120, 2000.

## PALAVRAS-CHAVE

*Calophyllum brasiliense* Camb.; germinação; sementes.



## Germinação de sementes de *Trimezia juncifolia* Benth & Hook (Iridaceae) em diferentes substratos e condições armazenamento

Duarte, Edson Ferreira<sup>1</sup>; Carrijo, Núbia Sousa<sup>2</sup>; Carvalho, Leticia Renata<sup>3</sup>; Salles, Neusa Siqueira Carvalho<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Professor do Instituto de Ciências Biológicas (UFG-ICB), Campus Samambaia, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1068, email: [efduarte@zipmail.com.br](mailto:efduarte@zipmail.com.br); <sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal da Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior de Mineiros (FIMES-FACIMI), email: [florestabuba@yahoo.com.br](mailto:florestabuba@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Professor da Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior de Mineiros (FIMES-FACIMI), Caixa Postal 104, CEP 75830-000, Mineiros, Goiás, fone (64) 3661-1970, email: [drleticia2005@yahoo.com.br](mailto:drleticia2005@yahoo.com.br), [neusa@fimes.edu.br](mailto:neusa@fimes.edu.br).

### INTRODUÇÃO

Os cerrados têm sido considerados por diversos especialistas como um bioma rico em biodiversidade, formado sobre solos antigos e intemperizados e que apresentam elevados teores de alumínio (Reatto et al, 1998). Climaticamente se caracterizam por apresentar uma estação chuvosa e uma seca (Ribeiro et al, 1998). Dessa forma, a vegetação nativa que se desenvolve nessas condições tornou-se altamente adaptada, com estratégias, estruturas morfológicas e metabólicas que necessitam serem melhores compreendidas.

As sementes das espécies ocorrentes no Cerrado, usualmente são dispersas na estação seca ficando sobre o solo até o início do período chuvoso. Entretanto, nem sempre ocorre o estabelecimento das novas plantas devido a fatores adversos, tais como, interrupção das chuvas, pragas e doenças. Desse modo, o conhecimento do processo de germinação e de suas necessidades torna-se importante para o entendimento da dinâmica vegetacional (Fenner, 1993). A identificação do substrato adequado para a germinação, bem como das condições necessárias à sobrevivência das sementes são pré-requisitos que podem auxiliar em avaliações ecofisiológicas das espécies, bem como em sua conservação e possível aproveitamento *ex-situ*.

Dentre as diversas famílias botânicas encontradas no Cerrado, as Iridaceae formam um grupo que compõem o extrato herbáceo. Apresentam inflorescência geralmente cimosa, às vezes reduzida a uma única flor formando frutos do tipo cápsula e, devido à presença de flores grandes e vistosas a família apresenta elevado potencial ornamental (Souza & Lorenzi, 2005).

*Trimezia juncifolia* é uma espécie herbácea vulgarmente conhecida como ruibarbo, possuindo bela flores amarelas (Guarim Neto & Morais, 2003). Assim como para outras espécies da flora nativa brasileira, foram encontradas poucas informações. Desse modo, objetivou-se caracterizar as sementes avaliar o efeito de substratos para realização de testes de germinação, bem como avaliar duas condições para armazenamento de sementes.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes do Instituto de Pesquisas Agropecuárias da Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior (IPAF/FIMES), no município de Mineiros, Goiás, Brasil.

Utilizou-se um lote composto por sementes obtidas de frutos amarelo-esverdeados fechados e secos à sombra sobre papel, coletados entre os meses de maio e julho de 2006, em áreas de ocorrência natural com fitofisionomia do tipo cerrado rupestre, no município de Portelândia, Goiás, Brasil.

Os frutos foram secos à sombra ocorrendo deiscência natural, quando então procedeu-se a extração manual das sementes, as quais foram acondicionadas em recipientes de papel, até o início das avaliações.

Procedeu-se a caracterização das sementes, avaliando o comprimento, a largura e a espessura, utilizando-se uma amostra de 50 sementes, medidas com auxílio um



paquímetro, expressando-se as medidas em milímetros. Foi realizada a avaliação da massa de 100 sementes frescas, utilizando-se oito repetições de 100 sementes (Brasil, 1992).

Avaliou-se o teor de água e massa da matéria seca das sementes, através do método da estufa  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas (Brasil, 1992), com quatro repetições de 100 sementes.

O estudo constou de dois experimentos, o primeiro foi composto por três tratamentos: T1= Semeadura sobre papel; T2= Semeadura entre areia; T3= Semeadura entre vermiculita. Os substratos foram umedecidos com água destilada, utilizando-se 3,40 ml para o papel, 70,00 ml para a areia e 85,00 ml para a vermiculita. Todos os tratamentos constaram de 4 repetições de 100 sementes, com semeadura em caixas plásticas Gerbox, sendo mantidos em câmara germinadora a  $25^{\circ}\text{C}$ .

As avaliações foram feitas a cada 12 dias até a estabilização do processo de germinação, sendo consideradas como sementes germinadas, aquelas cujo epicótilo apresentasse 0,50 cm de comprimento e ou quando emergisse do substrato. Os dados foram expressos porcentagem.

Calculou-se o índice de velocidade de germinação (IVG) através da metodologia proposta por Maguire (1962). Avaliou-se o vigor da plântulas através da avaliação do comprimento do epicótilo e das raízes, apresentando-se os valores em centímetros.

O segundo experimento foi realizado 90 dias após a instalação do primeiro, testando-se duas condições de armazenamento das sementes. Utilizou-se sementes armazenadas em embalagens permeáveis, mantidas em duas condições de armazenamento: 1. condições ambientais de laboratório (A1) e 2. condições refrigeradas à temperatura  $8^{\circ}\text{C}$  (A2). Avaliou-se a germinação e o vigor das plântulas do mesmo modo que no primeiro experimento, com quatro repetições de 100 sementes, realizando-se a semeadura apenas sobre papel.

Os dados da germinação foram transformados em arco-seno  $\sqrt{x/100}$  e submetidos à análise de variância, em um delineamento inteiramente casualizado (Santana & Ranal, 2004). As médias das variáveis foram comparadas pelo Teste Student Newman Keuls (SNK) a 5% de probabilidade (Sampaio, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização das sementes de *T. junciolia* indica que essas apresentam entre 2,67 mm e 3,43 mm de comprimento, enquanto a largura apresenta dimensões ligeiramente menores, variando de 1,69 mm e 2,35 mm, sendo a espessura das sementes a característica mais variável com medidas entre 1,03 mm e 1,99 mm (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização das sementes de *Trimezia juncifolia* Benth & Hook (Iridaceae).

Variável	Média <sup>1</sup>
Comprimento (mm)	3,05±0,38
Largura (mm)	2,02±0,33
Espessura (mm)	1,51±0,48
Teor de água (%)	11,86±1,66
Massa da matéria fresca de 100 sementes (g)	0,39±0,05
Massa da matéria seca de 100 sementes (g)	0,34±0,02

<sup>1</sup> Média mais ou menos o desvio padrão.

As sementes apresentaram em média 11,86% de teor de água, creditando-se a variação entre as amostras como resultado da amplitude do tempo de coleta e secagem, uma vez que o processo de frutificação e maturação em condições naturais se deu entre maio e julho. A deiscência dos frutos auxilia na desidratação das sementes, porém, o teor de água das sementes pode ter efeito na sua qualidade e conservação (Carvalho & Nakagawa, 2000; Fonseca & Silva, 2005), uma vez que sementes mais úmidas podem metabolizar suas reservas. A massa da matéria seca das sementes apresentou média de 0,34 g enquanto que a massa da matéria fresca de 100 sementes foi de 0,39 g (Tabela 1).

A germinação das sementes de *T. juncifolia* foi baixa em todos os substratos testados, estabilizando-se após 80 dias da sementeira e não houve efeito do tipo de substrato empregado, sobre a germinação das sementes (Tabela 2). Já o IVG das sementes germinadas sobre papel foi significativamente maior que o daquelas germinadas em vermiculita e na areia. Alguns estudos indicam não haver efeitos do substrato sobre a germinação de espécies nativas a 25°C, porém, o efeito do substrato acentua-se quando as temperaturas para realização dos testes de germinação são mais elevadas (Abreu et al., 2005; Andrade et al., 2006), evidenciando a necessidade de estudos adicionais para as sementes de *T. juncifolia*.

Tabela 2. Germinação e vigor sementes e de plântulas de *Trimezia juncifolia* Benth & Hook (Iridaceae) em diferentes substratos.

Variável	Substrato		
	Papel	Vermiculita	Areia
Germinação (%)	56,50±11,10 a	45,00±3,36 a	38,75±12,76 a
IVG	3,81±0,81 a	1,49±0,16 b	1,28±0,51 b
Epicótilo (cm)	5,26±2,49 b	5,27±2,43 b	9,53±3,21 a
Raiz (cm)	0,84±0,77 b	1,93±1,64 a	0,99±0,39 b

<sup>1</sup> Médias mais ou menos o desvio padrão e, seguidas por letras distintas, nas linhas, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

A avaliação do vigor das plântulas indicou maiores médias para a parte aérea de plântulas obtidas no substrato areia, enquanto que as raízes mostraram maior crescimento entre vermiculita (Tabela 2). Dessa forma, a avaliação do vigor das plântulas não mostrou-se eficaz na distinção do tratamentos aplicados às sementes de *T. juncifolia*.

Após o armazenamento de 90 dias, as sementes mostraram ligeira queda na taxa de germinação, entretanto, não houve diferenças significativas para a maioria das variáveis analisadas nas sementes submetidas às condições de armazenamento (Tabela 3). Apenas o epicótilo das plântulas obtidas sementes mantidas em condições naturais, mostrou-se maior (p 0,05) nas plântulas obtidas de sementes armazenadas em condições ambientais.

Tabela 3. Teor de água e massa da matéria seca de sementes de *Trimezia juncifolia* Benth & Hook (Iridaceae), após 90 dias de armazenamento em condições ambientais (A1) e em condições refrigeradas à 8 °C (A2).

Variável	Condição de armazenamento <sup>1</sup>	
	A1	A2
Germinação (%)	41,50±3,90 a	44,75±3,80 a
IVG	2,56±0,32 a	2,90±0,26 a
Epicótilo (cm)	8,40±2,11 a	7,59±2,36 b
Raiz (cm)	1,65±0,79 a	1,51±0,80 a

<sup>1</sup> Médias mais ou menos o desvio padrão e, seguidas por letras distintas, nas linhas, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

Em síntese, a germinação das sementes de *T. juncifolia* obtidas de condições naturais mostrou-se lenta e baixa, podendo sofrer variação no vigor das sementes e plântulas de acordo com o substrato, porém não foram observados efeitos das condições de armazenamento testadas.

Desse modo, verifica-se que o presente estudo representa uma contribuição ao conhecimento acerca da flora do Cerrado, estabelecendo parâmetros iniciais para realização de testes de germinação em *T. juncifolia*, sendo necessário a realização de estudos complementares para identificação de temperaturas adequadas à germinação dessa espécie, bem como, estudos de maturação das sementes e a ampliação das condições e tempo de armazenamento.

## CONCLUSÕES

As sementes apresentaram maior velocidade de germinação quando semeadas sobre papel, contudo o vigor das plântulas é prejudicado nessa condição.

As condições de armazenamento testadas não apresentaram efeitos sobre a germinação das sementes nem sobre o vigor das plântulas de *Trimezia juncifolia*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. C. S.; PEREIRA, T. S.; FERNANDES, M. J.; CRUZ, A. P. M.; CARVALHO, A. S. R. Substrato, temperatura de germinação e desenvolvimento pós-seminal de sementes de *Dalbergia nigra*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 41, n.3, p.517-523, 2006.

ABREU, D. C. A.; NOGUEIRA, A. C.; MEDEIROS, A. C. S. Efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers. Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 149-157, 2005.

BRASIL, M.A.R.A. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Coordenação de Laboratório Vegetal, Departamento de Defesa Vegetal, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, 1992. 365 p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

FENNER, M. **Seed ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. 151 p.

FONSECA, S. C. L.; SILVA, W. R. Conservação de sementes de maracujá-amarelo: inferências do teor de água das sementes e da temperatura de armazenamento. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 273-289, 2005.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo biogeográfico. **Acta Botânica Brasilica**. v. 17, n. 4, p. 561-584 2003.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

REATTO, A.; CORREIA, J. R.; SPERA, S. T. Solos do bioma cerrado: aspectos pedológicos. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Eds.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 45-86.

RIBEIRO, J. F. R.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 89-166.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Estudos e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília, Editora da Universidade de Brasília, 2004. 248 p.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora Brasileira, baseado na AGP II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005, 640 p.

## PALAVRAS-CHAVES

nativa, armazenamento, Cerrado.

## Qualidade fisiológica de sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) em função do estágio de maturação dos frutos<sup>1</sup>.

Duarte, Edson Ferreira<sup>2</sup>; Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>3</sup>; Silva, Natan Fontoura<sup>3</sup>.

<sup>2</sup> Professor do Instituto de Ciências Biológicas (UFG-ICB), Campus Samambaia, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1068, email: [efduarte@zipmail.com.br](mailto:efduarte@zipmail.com.br); <sup>3</sup> Professor da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [iraides@agro.ufg.br](mailto:iraides@agro.ufg.br), [natan@agro.ufg.br](mailto:natan@agro.ufg.br).

### INTRODUÇÃO

As bromélias são plantas quase exclusivamente americanas, sendo utilizadas para fins ornamentais e, em alguns casos como alimento, produção de fibras e, ou medicinais. A produção de mudas da maioria das espécies comercialmente exploradas para fins ornamentais se dá a partir de sementes (Andrade & Dematte, 1999) ou da cultura de meristema.

*Dyckia goehringii* Gross & Rauh é uma espécie nativa do Cerrado, destacando-se pelo seu elevado potencial ornamental, seja pela arquitetura da planta, forma e rigidez da roseta foliar e dos espinhos e, principalmente, pela abundância de tricomas peltados ou escamas nas folhas e espinhos, o que lhes confere um aspecto prateado. Para a propagação sexuada da espécie, torna-se necessário o conhecimento acerca da melhor época para a coleta de suas sementes. Além da aplicação dos resultados obtidos para fins comerciais essas informações poderão ser aplicadas, também, em coleções e bancos de germoplasma, auxiliando na conservação da flora nativa do Cerrado.

Para a maioria das espécies vegetais o ponto de colheita depende da ocorrência da maturidade fisiológica da semente, o que em muitos casos coincide com a máxima acumulação de matéria seca (Popinigis 1985). Quando as sementes alcançam essa fase, geralmente seu potencial para germinação e vigor se eleva (Piña-Rodrigues, 1988). Em espécies que exibem frutos com diferentes estádios de maturação, a escolha da época de colheita é mais difícil (Carvalho & Nakagawa, 2000), devendo-se levar em consideração a época em que a planta apresenta maior quantidade de sementes fisiologicamente maduras ou fazer colheitas parceladas.

Tendo em vista que a antese floral de *D. goehringii* Gross & Rauh é acrópeta e que os cachos apresentam frutos com diferentes estádios de maturação, objetivou-se neste trabalho a determinação das alterações físico-fisiológicas que ocorrem em suas sementes em função do estágio de maturação dos frutos.

### MATERIAL E MÉTODOS

No mês de maio de 2006, cápsulas com diferentes estádios de maturação de *D. goehringii* Gross & Rauh foram colhidas de várias plantas em uma população natural ocorrente no município de Portelândia, Goiás, Brasil. Ao mesmo tempo fez-se o acompanhamento do desenvolvimento dos frutos originados de flores previamente marcadas anotando-se as características dos frutos e sementes aos 7, 25 e 45 dias após a antese floral.

Após a coleta, os frutos foram destacados do escapo floral e agrupados em cinco estádios de maturação, segundo seu desenvolvimento, cor e aspecto dos frutos e sementes. Dos cinco estádios, três mantiveram as características dos frutos marcados e dois apresentavam características intermediárias, sendo estimada suas idades (Tabela 1).

Após a extração manual das sementes foram feitas as seguintes avaliações: 1. teor de água (%) – pelo método da estufa 105±3°C por 24 horas, utilizando quatro repetições de 100 sementes; 2. massa de matéria seca (g) - pelo método da estufa 105±3°C por 24 horas; utilizando quatro repetições de 100 sementes cada (Brasil, 1992); 3. % de germinação - utilizando quatro repetições de 100 sementes, semeadas sobre duas folhas de papel mata-

---

<sup>1</sup> Agradecimentos ao CNPq pela concessão de bolsa de doutorado ao primeiro autor.

borrão, pré-umedecidas com água destilada em caixas plásticas tipo Gerbox, mantidas em câmara germinadora à temperatura de 30°C. A avaliação foi diária, considerando germinadas as sementes que protruíram a bainha cotiledonar; 4. índice de velocidade de germinação (IVG) – calculado segundo Maguire (1962);

Foram feitos os ajustes das equações que representassem os modelos biológicos das variáveis estudadas, calculando-se também o coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

Tabela 1. Caracterização visual dos frutos e sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) em cinco estádios de maturação.

Estádio do fruto	Aspectos do fruto			Aspectos da semente		DAA <sup>1</sup>
	Pericarpo	Coloração do carpelo		Integumentos	Endosperma	
		Dorsal	Ventral			
1	íntegro	1/2 da região distal verde-escuro	Região proximal verde-claro	Externo e interno: translúcidos	translúcido	7
2	íntegro	4/5 da região distal verde-escuro	1/5 da região proximal verde-claro	Externo e interno: hialinos	translúcido	15
3	íntegro	região mediana e distal verde-escuro e ou acastanhado	verde-escuro e ou verde-acastanhado	Externo e interno: hialinos	hialino	25
4	íntegro	enegrecido ou castanho-esverdeado	castanho-esverdeado	Interno e externo: hialinos a rosado	hialino	35
5	início de deiscência	castanho e ou enegrecido	castanho-claro a creme-claro	Externo: castanho-claro Interno: rosado e reluzente	hialino	45

<sup>1</sup> Estimativa de dias após a antese floral (DAA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes utilizadas apresentaram alterações físico-fisiológicas em função do estágio de maturação dos frutos. Na Figura 1 são apresentadas as curvas obtidas para a massa de matéria seca (MS), teor de água, germinação e índice de velocidade de germinação das sementes. A máxima MS foi atingida próximo do estágio 4, enquanto que a germinação e o IVG iniciaram sua estabilização no estágio 4 (Figura 1). Os resultados da germinação confirmam que a MS é uma característica que pode ser aplicada para detectar a maturidade fisiológica de sementes de *D. goehringii*, já que o maior acúmulo de MS se deu entre os estádios 4 e 5, pontos esses em que a germinação também foi mais elevada. A maior % de germinação (75,75%) foi obtida no estágio 4, enquanto que nos estádios 1, 2 e 3 foi mínima ou nula.

Em *Bixa orellana* a máxima acumulação de reservas, principalmente na forma de amido, coincide com a maturidade fisiológica das sementes, o que possibilita a máxima germinação (Amaral et al., 2001). Em outras espécies a germinação pode ser tardia, ou seja, posterior ao período de máxima acumulação de matéria seca, estando associada a uma possível dessincronia entre o desenvolvimento embrionário e o restante dos tecidos, conforme foi verificado por Duarte (2001) em sementes de *Xylopia aromatica*, nas quais ocorreu germinação quando o endosperma estava finalizando a deposição das reservas. Em outras espécies, a MS e o tamanho das sementes não se mostram adequados para a avaliação da maturidade fisiológica das sementes, como em *Copaifera langsdorffii* (Barbosa et al., 1992), e *Mimosa caesalpiniiifolia* (Alves et al., 2005), cujas sementes atingiram a maturidade de massa antes da máxima germinação.

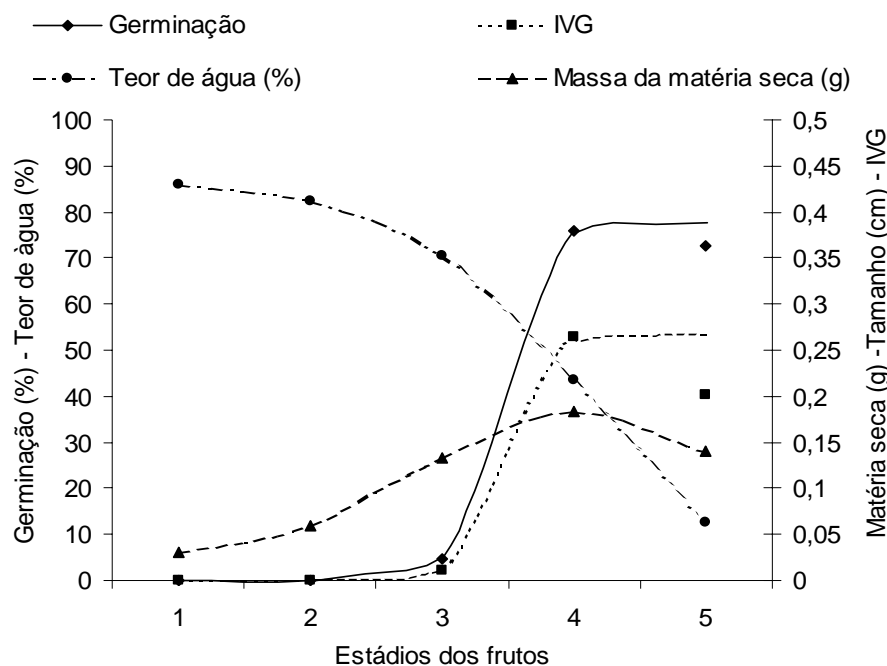


Figura 1. Alterações físico-fisiológicas em sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) obtidas de frutos em cinco estádios de maturação. Teor de água:  $y = -4,99x^2 + 11,42x + 79,73$  ( $R^2 = 0,99$ ); Massa de matéria seca:  $y = -0,01x^2 + 0,10x + 79,73$  ( $R^2 = 0,88$ ); Germinação:  $y = 74,12 / (1 + \exp(81,28 - (26,18x)))$ ; ( $R^2 = 0,99$ ); Índice de velocidade de germinação (IVG):  $y = 46,59 / (1 + \exp(75,20 - (24,06x)))$ ; ( $R^2 = 0,97$ ).

Na prática, o teor de água das sementes pode ser um indicativo da maturidade fisiológica, embora esse comportamento seja variável com a espécie. O teor de água das sementes de *D. goehringii* no estágio 4 atingiu, em média 43,57% e 12,53% no estágio 5. Espécies como *Pterogyne nitens* atingem a maturidade fisiológica com teores de água mais elevados, entre 60,00% e 65,00% (Carvalho et al., 1980), outras como *Caesalpinia echinata*, teores médios, entre 30,00% e 40,00% (Borges et al., 2005) e *Enterolobium cortortisiliquum*, teores mais baixos, próximos a 22,00% (Borges et al., 1980).

Ocorreu deiscência dos frutos no estágio 5, o que favoreceria a secagem e a dispersão das sementes. Carvalho & Nakagawa (2000) afirmam que, uma vez que a semente atinge a máxima acumulação de MS, ela passa a não receber mais fotossintetizados da planta e, nesse ponto o teor de água geralmente é elevado, oscilando entre 30,00% e 50,00%. Para promover a rápida desidratação das sementes, a planta aciona um ou vários mecanismos, como por exemplo, a deiscência dos frutos.

O IVG apresentou comportamento similar ao da germinação, estabilizando-se após o estágio 4 dos frutos (Figura 1), o que vem confirmar que nesse estágio as sementes apresentavam elevado potencial fisiológico, caracterizando o ponto de colheita de *D. goehringii*. Não se recomenda a colheita quando o teor de água é muito elevado, pois poderiam ocorrer injúrias nas sementes ou predispô-las à deterioração (Marcos-Filho, 2005).

## CONCLUSÃO

A máxima massa de matéria seca das sementes de *Dyckia goehringii* indica a maturidade fisiológica das sementes.

A coleta de frutos no estágio 4 proporciona a obtenção de sementes com maior potencial fisiológico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. U.; SADER, R.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U. Maturação fisiológica de sementes de sabiá. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 1-8, 2005.

AMARAL, L. I. V.; PEREIRA, M. F. D. A.; CORTELAZZO, A. L. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). **Acta Botânica Brasilica**, v. 5, n. 1, p. 125-132, 2001.

ANDRADE, F. S. A.; DEMATÊ, M. E. S. P. Estudo sobre produção e comercialização de bromélias nas regiões sul e sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 5, n. 2, p. 97-110, 1999.

BARBOSA, J. M.; AGUIAR, I. B.; SANTOS, S. R. G. Maturação de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2º, **Anais...**, São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p. 665-674.

BORGES, E. E. L.; BORGES, R. C. G.; TELES, F. F. F. Avaliação da maturação de sementes de orelha de negro. **Revista Brasileira de Sementes**, n. 2, p. 29-32. 1980.

BORGES, I. F. GIUDENDE NETO, J. Del; BILIA, D. A. C. FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; BARBEDO, C. J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 6, p. 851-861, 2005.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4ª ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CARVALHO, N. M.; SOUZA FILHO, J. F. S.; GRAZIANO, T. T.; AGUIAR, I. B. Maturação fisiológica de sementes de amendoim-do-campo. **Revista Brasileira de Sementes**, n. 2, p. 23-28, 1980.

DUARTE, E. F. **Anatomia, maturação e dormência de sementes de *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae)**. 2001. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, 2001.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

PALAVRAS-CHAVES

*Dyckia goehringii*, germinação, vigor, bromélia, Bromeliaceae.

## Comportamento físico-fisiológico de sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas<sup>1</sup>.

Duarte, Edson Ferreira<sup>2</sup>; Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>3</sup>; Silva, Natan Fontoura<sup>3</sup>; Guimarães, Noga Neve Ribeiro<sup>3</sup>.

<sup>2</sup> Professor do Instituto de Ciências Biológicas (UFG-ICB), Campus Samambaia, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1068, email: [efduarte@zipmail.com.br](mailto:efduarte@zipmail.com.br); <sup>3</sup> Professor da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [iraides@agro.ufg.br](mailto:iraides@agro.ufg.br), [noga@agro.ufg.br](mailto:noga@agro.ufg.br), [natan@agro.ufg.br](mailto:natan@agro.ufg.br).

### INTRODUÇÃO

*Dyckia goehringii* Gross & Rauh é uma bromélia encontrada na Serra do Caiapó, município de Portelândia, Goiás, Brasil, tendo sido descrita em 1991 por Werner Rauh e Elvira Gross (Braum & Pereira, 2004). Apresenta potencial ornamental elevado devido à densa pubescência que recobre suas folhas, tornando-a prateada, além da forma e rigidez da roseta foliar, disposição das folhas e presença de espinhos proeminentes.

Estudos sobre a propagação de espécies com alto risco de extinção devem ser prioritários, com vistas ao repovoamento de seus habitats, assim como para a comercialização de tais espécies, o que proporcionaria redução do extrativismo. Dada a quantidade de sementes produzidas por esta espécie, deve-se conhecer o seu potencial fisiológico. Alguns fatores como o tamanho das sementes (Fenner, 1993), a matéria seca, a época de coleta e o armazenamento das sementes podem afetar o seu vigor. Sementes maiores, com maiores quantidades de reservas nutritivas, geralmente apresentam vantagens em relação às menores, pois, germinam mais rapidamente e são mais vigorosas, promovendo um rápido crescimento das raízes (Pollock & Roos, 1972).

Poucos são os trabalhos realizados com germinação de sementes de bromélias, entretanto a maioria das espécies cultivadas exige temperaturas entre 20°C e 30°C para germinação de suas sementes (Marcos Filho, 2005), fato comprovado também para as bromélias da restinga, *Aechmea nudicaulis* e *Streptocalyx floribundus*. Pinheiro & Borghetti (2003) trabalhando com estas espécies obtiveram melhor germinação das sementes entre 20°C e 30°C, na presença de luz.

O presente estudo objetivou avaliar o comportamento físico-fisiológico de sementes de *Dyckia goehringii*, durante a fase de germinação, sob diferentes temperaturas, bem como determinar parâmetros térmicos e o tempo necessário para a realização de testes de germinação.

### MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh, coletadas de frutos fechados, de coloração marrom, no mês de junho de 2005, no município de Portelândia, Goiás, Brasil, foram utilizadas no presente trabalho. Após secagem dos frutos à sombra, ocorrendo o processo de deiscência natural, as sementes foram armazenadas em recipientes plásticos dotados de tampa, à temperatura e luz ambientes, durante três meses.

As avaliações constaram de:

1. comprimento, largura e espessura (cm) de sementes pequenas e grandes. Sementes grandes foram consideradas aquelas retidas em peneiras com malha de 3,76 mm e as restantes, aquelas retidas em peneiras com malha de 1,00 mm foram consideradas pequenas – média de 20 sementes de cada lote;
2. teor de água na base úmida (%) e massa de matéria seca – pelo método da estufa a 105°C ± 3 °C, utilizando-se quatro repetições de 100 sementes;
3. massa de 100 sementes – média de oito repetições;

---

<sup>1</sup> Agradecemos ao CNPq pela concessão de bolsa de doutorado ao primeiro autor.



4. porcentagem (%) de germinação - utilizou-se um esquema fatorial 2x4 (tamanho da semente x temperatura), utilizando-se sementes pequenas (>1,00mm e ≤3,76mm) e grandes (>3,76mm), colocadas para germinarem em temperaturas de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 100 sementes por tratamento. Fez-se a semeadura em caixas plásticas tipo Gerbox, contendo duas folhas de papel mata-borrão pré-embecidas com água destilada e estas foram mantidas em câmaras germinadoras. As sementes foram consideradas germinadas quando apresentaram protrusão da bainha cotiledonar;
5. índice de velocidade de germinação (IVG);
6. primeira contagem da germinação, aos sete dias (%);
7. comprimento da parte aérea e das raízes (cm);
8. massa de matéria fresca da parte aérea e das raízes (g).

Os dados da germinação foram transformados em arco-seno  $\sqrt{x/100}$  e submetidos à análise de variância, segundo o esquema experimental adotado. As variáveis da germinação e do vigor foram comparadas pelo Teste Student Newman Keuls (SNK) a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *D. goehringii* são elipsoidais, sofrendo variação de forma e tamanho de acordo com sua posição no fruto. No presente experimento as sementes apresentaram comprimentos médios de 0,33 cm e 0,47 cm e larguras médias de 0,35 cm a 0,54 cm, para sementes pequenas e grandes, respectivamente. A espessura média foi de 0,07 cm, tendo ocorrido uma variação significativa apenas para largura e comprimento médios (Tabela 1).

Tabela 1. Dimensões, teor de água, massa de matéria seca e fresca de 100 sementes de lotes de sementes pequenas (>1,00mm e ≤3,76mm) e grandes (>3,76mm) de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae).

Variáveis	Lote 1	Lote 2	
Dimensões (cm) <sup>1</sup>	Comprimento	0,33±0,07 b	0,47±0,05 a
	Largura	0,35±0,09 b	0,54±0,05 a
	Espessura	0,07±0,04 a	0,07±0,01 a
Teor de água (%) <sup>2</sup>	9,32 a	9,48 a	
Massa de matéria seca de 100 sementes (g) <sup>2</sup>	0,09 b	0,26 a	
Massa de matéria fresca de 100 sementes(g) <sup>2</sup>	0,10 b	0,30 a	

<sup>1</sup>Médias seguidas dos desvios padrões e por letras distintas, nas linhas, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

<sup>2</sup>Médias seguidas por letras distintas, nas linhas, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

Os teores de água foram semelhantes para ambos os lotes, atingindo cerca de 9,00% (Tabela 1), sendo considerado adequado para a conservação das sementes, pois, quando essas são desidratadas seu metabolismo é reduzido a níveis mínimos, o que lhes permite sobreviver a estresses ambientais (Castro et al., 2004).

A germinação das sementes de *D. goehringii* iniciou-se aos quatro dias após a semeadura e foi do tipo cripto-epigeal. Mayer & Poljakoff-Mayber (1963) informam que, quando a germinação é do tipo ocorrido, os cotilédones podem ser fonte de reservas ou drená-las do endosperma. Segundo Smith & Downs (1974), durante a germinação de sementes de bromélias da subfamília Pitcairnioideae as sementes não se mantêm unidas aos cotilédones por muito tempo.

As sementes menores germinaram melhor à temperatura de 25°C, enquanto que as sementes maiores à temperatura de 30°C. Em sementes pequenas a estabilização da germinação se deu aos 14 dias após a semeadura (DAS) para a maioria das temperaturas testadas, com exceção da temperatura de 20°C, para a qual não foi detectada uma estabilização até o final do experimento (Figura 1A). Sementes maiores tiveram a

estabilização da germinação aos 17 DAS (Figura 1B). Esses resultados concordam com aqueles obtidos por Pinheiro & Borghetti (2003) para bromélias da restinga.

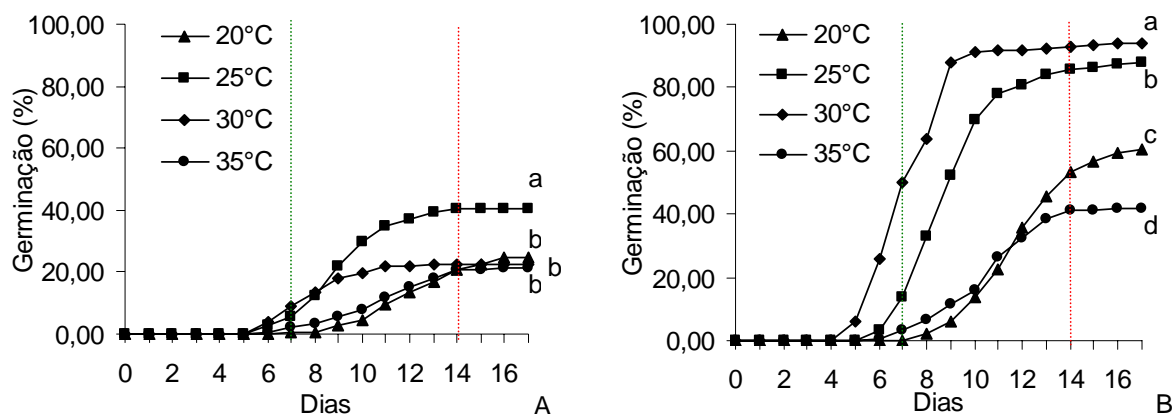


Figura 1. Comportamento germinativo das sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) ao longo do tempo, em temperaturas de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. A. Sementes pequenas (>1,00mm e ≤3,76mm); B. Sementes grandes (>3,76mm). Médias seguidas por letras distintas na última avaliação, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

Considera-se que em testes laboratoriais de sementes de *D. goehringii* a avaliação final poderá ser realizada aos 14 DAS. A avaliação da primeira contagem aos 7 DAS, também poderá ser utilizada, pois mostrou-se sensível ( $p \leq 0,01$ ) às diferenças de germinação dos tratamentos testados (Tabela 2).

A maior germinação de sementes maiores (>3,76mm) se deu nas temperaturas de 25°C (87,75%) e 30°C (94,00%) (Figura 1B). Muraro (2006) verificou germinação máxima de 40,50% para *Vriesea incurvata*, em condições naturais, com a temperatura média do ar variando entre 15°C e 30°C, mantendo-se acima de 20°C na maioria do período.

Tabela 2. Vigor de sementes e de plântulas de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) obtidas de sementes pequenas (>1,00mm e ≤3,76mm) e grandes (>3,76mm), germinadas em diferentes temperaturas.

Variável	Lote*	Temperatura <sup>1</sup>			
		20°C	25°C	30°C	35°C
Germinação na primeira contagem (%)	1	0,50 Ac	5,75 Bb	9,25 Ba	2,00 Abc
	2	0,00 Ad	13,50 Ab	50,25 Aa	3,50 Ac
Índice de velocidade de germinação	1	10,20 Bb	28,01 Ba	18,95 Bb	11,41 Bb
	2	25,64 Ac	62,20 Ab	86,94 Aa	23,08 Ad
Comprimento da parte aérea da plântula (cm)	1	0,29 Ad	0,87 Ab	1,11 Ba	0,63 Ac
	2	0,31 Ad	0,85 Ab	1,19 Aa	0,56 Bc
Comprimento da raiz da plântulas (cm)	1	0,14 Ac	0,26 Aa	0,28 Ba	0,23 Bb
	2	0,13 Ac	0,28 Ab	0,37 Aa	0,27 Ab
Massa da matéria fresca da plântula (g)	1	0,0060 Bc	0,0112 Bb	0,0157 Ba	0,0103 Ab
	2	0,0079 Ad	0,0126 Ab	0,0195 Aa	0,0096 Ac

\* 1 = sementes pequenas (>1,00mm e ≤3,76mm); 2 = sementes grandes (>3,76mm).

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

O vigor das sementes e das plântulas de *D. goehringii* foi afetado pela temperatura e pelo tamanho das sementes (Tabela 2), tendo ocorrido diferenças significativamente superiores para a germinação das sementes do lote 2 aos 7 DAS (primeira contagem), para o IVG, para o comprimento da maior raiz e para a massa de matéria fresca total, aos 17

DAS. Os melhores resultados para os testes de vigor foram obtidos à temperatura de 30°C para todas as variáveis analisadas. Possivelmente as plântulas foram mais vigorosas devido à aceleração no metabolismo respiratório das reservas durante o processo germinativo (Melo et al., 2004).

## CONCLUSÃO

Para obtenção de maiores percentagens de germinação e plântulas mais vigorosas de *D. goehringii* devem ser utilizadas sementes maiores que 3,76 mm, à temperatura de 30°C. As avaliações dos testes de germinação podem ser feitas aos sete e quatorze dias após a sementeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAUM, P. J.; PEREIRA, E. E. Zur klärung der herkunft von *Dyckia goehringii* E. Gross & Rauh. **Die Bromelie**, v. 3, p. 64-65, 2004.

CARVALHO, N. M; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 51-67.

FENNER, M. **Seed ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. 151 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of the seeds**. v. 3, Oxford: Pergamon Press, 1963. 236 p.

MELO, F. P. L.; AGUIAR NETO, A. V.; SIMABUKURO, E. A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 237-250.

MURARO, D. **Germinação em substratos alternativos ao xaxim e aspectos fenológicos e reprodutivos de *Vriesea incurvata* Gaudich.**: Subsídios à produção sustentável. 66 p. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias – Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

PINHEIRO, F.; BORGHETTI, F. Light and temperature requirements for germination of seeds of *Aechmea nudicaulis* (L.) Griesbach and *Streptocalyx floribundus* (Martius ex Schultes F.) Mez (Bromeliaceae). **Acta Botânica Brasilica**, v. 17, n. 1, p. 27-35, 2003.

POLLOCK, B. M.; ROOS, E. E. Seed and seedling vigor. Cap. 6. In: KOZLOWSKI, T. T. (ed.). **Seed biology**. v. 1. New York: Academic Press, 1972. p. 313-377.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Flora neotropica: Pitcairnioideae (Bromeliaceae)**. Monograph n° 14. Part 1. New York: OFN-Halfner Press, 1974. 658p.

## PALAVRAS-CHAVE

*Dyckia goehringii*, germinação, vigor, Bromeliaceae, bromélia.

## **Germinação de sementes de gérbera (*Gerbera jamesonii* Bollus) em temperaturas controladas e condições naturais no Submédio São Francisco.**

Souza, Joselita Cardoso<sup>1</sup>; Menezes, Anna Cristina Passos<sup>2</sup>; da Paz, Cristiane Domingos<sup>3</sup>; Monte Santo, Jose Silva<sup>4</sup>; Santana, Carmem V. Silva<sup>5</sup>; Santos, Márcia A. Carvalho<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Professor Adjunto da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS, CEP – 48 900 – 000, Juazeiro – BA, fone 74 3611 7363, e-mail: [jocsouza@uneb.br](mailto:jocsouza@uneb.br); <sup>2</sup>Professor Assistente da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS, e-mail: [amenezes@uneb.br](mailto:amenezes@uneb.br); <sup>3</sup>Professor Adjunto da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS, e-mail: [cpaz@uneb.br](mailto:cpaz@uneb.br); <sup>4</sup> <sup>5</sup> <sup>6</sup>Aluno graduação Agronomia da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) - Campus III – DTCS.

A propagação sexuada é importante em programas de melhoramento por promover a recombinação genética e, dessa forma o surgimento de novos fenótipos. Na gérbera (*Gerbera jamesonii* Bollus), a germinação das sementes requer condições especiais de temperatura e umidade. Este trabalho, teve como objetivo, avaliar condições para germinação de sementes de gérbera no semi-árido, de forma a fornecer subsídios ao melhoramento genético da espécie, na região. O experimento foi conduzido no Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais - DTCS/UNEB em Juazeiro – BA, no delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. Sementes, da variedade 'Kozak', obtidas de hibridação artificial, foram colocadas em caixas tipo gerbox contendo substrato comercial para hortaliças acrescido de 40% de vermiculita, previamente autoclavado e umedecido com água destilada. As caixas foram colocadas nos ambientes: 1. viveiro telado com 50% de sombreamento; 2. germinador com temperatura de 25°C, 80% de umidade e iluminação artificial por 12 horas; 3. germinador com temperatura de 30°C, 80% de umidade e iluminação artificial por 12 horas. No viveiro, a temperatura média no período foi de 30,5°C, o umedecimento do substrato foi realizado por borrifação de água destilada uma vez ao dia e as caixas foram mantidas tampadas para manutenção da umidade. Foram avaliados: velocidade de germinação (VG); índice de velocidade de germinação (IVG) e percentagem de germinação. Os dados foram analisados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O percentual de germinação não diferiu estatisticamente nas três condições avaliadas. A VG e o IVG foram superiores na condição de germinador com temperatura de 25°C e não diferiram estatisticamente nos demais tratamentos.

### **PALAVRAS – CHAVES**

*Gerbera jamesonii*; germinação; sementes.

## **Propagação vegetativa de *Ruscus hypoglossus* L. através de divisão de rizoma.**

Mônica Spier<sup>1</sup>; César Góis Prestes<sup>1</sup>; Sergio Francisco Schwarz<sup>1</sup>; Paulo Vitor Dutra de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Agronomia – Departamento de Horticultura e Silvicultura. Av. Bento Gonçalves, 7712. CEP 91540-000 Porto Alegre RS Fone: (51) 3308 6020. E-mail: monicaspier@hotmail.com; cesar.prestes@ufrgs.br; schwarz@ufrgs.br; pvdsouza@ufrgs.br

### **INTRODUÇÃO**

*Ruscus hypoglossum* L. pertence à família Ruscaceae (IPNI, 2007). Trata-se de um subarbusto compacto, perene, com até 50 cm de altura, levemente pendente e pouco lenhoso. Apresenta cladódios com 7 a 10 cm de comprimento e 2,5 a 4 cm de largura. As flores são pequenas, amarelas e situadas na axila de uma bráctea na parte superior central do cladódio (Graf, 1963). As hastes vêm sendo utilizadas amplamente como folhagem de corte, comercializadas em molhos e classificadas conforme comprimento em curtas, médias e compridas. O volume médio comercializado no Rio Grande do Sul situa-se por volta de 300 molhos por semana. As plantas de *Ruscus* são dióicas e diferem quanto ao hábito de crescimento, de modo que as plantas masculinas apresentam um maior número de brotações (Halada & Erdelska, 2005), sendo, portanto, preferidas para o cultivo. A propagação do *Ruscus* pode ser feita por sementes, quando se possui plantas femininas disponíveis (Stamps, 2001), mas o desenvolvimento das plantas, nesse caso, é lento, podendo levar de cinco a seis anos para atingir um porte que permita a colheita de hastes para comercialização (Bajaj, 1992). Tradicionalmente tem-se utilizado a propagação vegetativa por divisão de rizoma (Bajaj, 1992; Hartmann & Kester, 1997; Stamps, 2001). Dentre as desvantagens desse método de propagação destaca-se a pequena quantidade de mudas obtidas no processo. Uma planta com dez a doze anos pode dar origem à não mais que três a quatro plantas (Bajaj, 1992). O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o número e a qualidade de brotações emitidas por segmentos de rizoma de *R. hypoglossum* cultivados em diferentes substratos.

### **METODOLOGIA**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação situada junto ao Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul no período de 13 de fevereiro de 2007 a 09 de maio de 2007. Rizoma de duas plantas matrizes foram divididos em frações de aproximadamente dois centímetros e classificados em segmentos apicais ou basais. As plantas matrizes utilizadas eram oriundas de ambientes distintos. A primeira encontrava-se em cultivo ao ar livre, em substrato com elevado teor de argila. A segunda era cultivada em casa de vegetação em substrato arenoso. As duas fontes de material vegetativo, juntamente com os dois tipos de segmento e dois substratos distintos (areia e casca de arroz carbonizada) deram origem a oito tratamentos. Foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados, com três repetições e seis frações por parcela. Após 85 dias de cultivo as plantas foram avaliadas segundo o número de brotações emitidas por fração de rizoma, comprimento dessas brotações, número de folhas e área foliar (determinada em medidor de área de modelo CI 202 – Área Meter). Comprimento, número de folhas e área foliar deram origem a uma avaliação qualitativa, com notas variando de 1 a 9 conforme o grau de desenvolvimento da brotação. Rizomas sem brotação receberam nota 1, com brotações visíveis, mas sem folhas receberam nota 3. Os rizomas que apresentaram brotações com folhas receberam notas 5, 7 ou 9, conforme aumentavam o comprimento, número de folhas e área foliar. As observações foram transformadas segundo raiz quadrada de  $(x+1)$  e submetidas à análise de variância através do programa Sanest utilizando-se teste de Duncan para a comparação entre médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pôde-se perceber, ao final dos oitenta e cinco dias de cultivo, que 70% dos fragmentos não emitiram brotações, 26,5% emitiram uma brotação e apenas 3,5% emitiram duas brotações por fragmento de rizoma. Este fato pode ser consequência do reduzido período de tempo decorrido entre a implantação e a avaliação do experimento. Segundo Hartmann & Kester (1997), o procedimento de divisão pode ser realizado tanto no início da estação de crescimento, quanto no final do verão. Apesar de ter sido efetuada a propagação em um período recomendado para a espécie observou-se que as condições de temperatura e luminosidade na casa de vegetação onde o experimento foi conduzido foram reduzindo ao longo do período, tornando-se inadequadas para o desenvolvimento das plantas e indicando que não haveria vantagem em estender o prazo previamente determinado para avaliação dos resultados. O sombreamento excessivo conduz a formação de um número reduzido de brotações em *Ruscus hypoglossum* (Stamps, 2001).

Houve diferença significativa para número de brotações entre fragmentos do ápice e da base dos rizomas, independentemente da planta matriz utilizada e do substrato de cultivo (Tabela 1). Mesmo apresentando valores de densidade diferentes, 1.557 kg/m<sup>3</sup> para a areia e 189 kg/m<sup>3</sup> para a casca de arroz carbonizada, os substratos não conduziram a resultados distintos para os parâmetros avaliados. Possivelmente devido à capacidade de adaptação do *Ruscus* que se desenvolve melhor em substratos de textura mediana e com boa retenção de água, mas tolera uma ampla gama de substratos distintos (Stamps, 2001).

Tabela 1. Número de brotações emitidas por fragmento de rizoma de *Ruscus*.

Número de brotações	Matriz casa de vegetação				Matriz ar livre			
	Areia		CAC		Areia		CAC	
	Ápice	Base	Ápice	Base	Ápice	Base	Ápice	Base
	0,44 a	0,28 b	0,50 a	0,28 b	0,55 a	0 b	0,44 a	0,17 b

CAC= casca de arroz carbonizada. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram entre si a 1% de probabilidade.

A diferença observada entre segmentos basais e apicais pode ser explicada pela dificuldade das gemas laterais existentes na fração mais velha do rizoma, que se encontram latentes, em brotar (Hartmann & Kester, 1997). Apesar da divisão eliminar a dominância apical, uma grande parte das gemas laterais não brotaram espontaneamente, o que sugere a utilização de algum regulador de crescimento para otimizar o processo (Pereira et al., 2001).

Para o comprimento das brotações emitidas não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados. Houve, no entanto, diferença para a avaliação qualitativa realizada (Tabela 2), em que o comprimento das brotações foi um dos critérios utilizados para compor a nota, em conjunto com o número de folhas e a área foliar. Segmentos apicais do rizoma originaram brotações de melhor qualidade que os segmentos basais. Foram encontradas brotações maiores e com maior número de folhas devido, provavelmente, ao fato destas terem tido um período maior de desenvolvimento, por terem brotado antes.

Tabela 2. Avaliação qualitativa do desenvolvimento de brotações em fragmentos de rizoma de *Ruscus*.

Avaliação qualitativa	Matriz casa de vegetação				Matriz ar livre			
	Areia		CAC		Areia		CAC	
	Ápice	Base	Ápice	Base	Ápice	Base	Ápice	Base
	2,44 a	1,56 b	2,00 a	1,94 b	2,78 a	1,00 b	2,22 a	1,78 b

CAC= casca de arroz carbonizada. Médias seguidas pela mesma letra não diferiram entre si a 5 % de probabilidade.

Os resultados obtidos no experimento sugerem que sejam feitos trabalhos complementares, em outra época do ano e de modo a estender o período para o desenvolvimento de brotações. A utilização de reguladores de crescimento para induzir a brotação das gemas laterais também deveria ser testada, uma vez que se trata de uma espécie com ampla aceitação no mercado de folhagens de corte e que até o momento tem tido na dificuldade de obtenção de mudas um dos principais entraves à produção em larga escala.

## CONCLUSÕES

Nas condições em que foi conduzido o presente experimento a obtenção de mudas a partir de fragmentos de rizoma demonstrou ser pouco eficiente no que se refere ao número e à qualidade de mudas formadas. Fragmentos apicais de rizoma de *Ruscus hypoglossum* originam maior número de brotações quando comparados aos segmentos basais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y. P. S. **Biotechnology in agriculture and forestry 20: high-tech and micropropagation IV**. Springer, Heidelberg, 1992. 497 p.

GRAF, A. B. **Exótica 3: pictorial cyclopedia of exotic plants**. Roehrs Company, Rutherford, 1963. 1823 p.

HALADA, L. & ERDELSKA, O. Reproductive biology of *Ruscus hypoglossum* L. In Slovakia. **Acta Biologica Cracoviensa**, Cracóvia, v. 47, n. 1, p. 213-217, 2005.

HARTMANN, H.T. & KESTER, D.E. **Propagación de plantas: principios e practicas**. Compañia Editorial continental, México, 1997. 760p.

IPNI. **The international plant names index**. Disponível em: <<http://www.ipni.org>>. Acesso em 12 de maio de 2007.

PEREIRA, L. V. et al.. Efeitos do BAP e do TDZ na produção de mudas de bananeira 'Maçã' através da propagação rápida "in vivo". **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n. 2, p. 230-233, 2001.

STAMPS, R. H. **Florida/Holland/Israeli Ruscus production and use**. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu>>. Acesso em 15 de maio de 2007.

## PALAVRAS CHAVE

*Ruscus hypoglossum*, propagação vegetativa.

## Propagação vegetativa de *Sansevieria trifasciata* Herb.

Taís Tostes Graziano<sup>1</sup>; Monalisa Benevides Queiroz Pellegrini<sup>2</sup>; Ana Paula Marconi<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadora do Instituto Agrônomo, Centro de Horticultura, Caixa Postal 28, CEP 13012-970, Campinas, SP, fone: (019) 3241-9091, e-mail: [tais@iac.sp.gov.br](mailto:tais@iac.sp.gov.br); <sup>2</sup> Engenheira Agrônoma, Mestre em Agricultura Tropical e Subtropical – IAC, R. João Atilho Zampieri, 711, Comobi, CEP 97105-000, Santa Maria, ES, fone: (55) 8114-6450, e-mail: [monalisapellegrini@Yahoo.com.br](mailto:monalisapellegrini@Yahoo.com.br); <sup>3</sup>Estagiária do Instituto Agrônomo - Centro de Horticultura, e-mail: [apmarconi@iq.com.br](mailto:apmarconi@iq.com.br).

### INTRODUÇÃO

A indústria da floricultura tem como característica básica a permanente busca por novidades. Um grupo de plantas bastante promissor para o mercado, e até agora com produção pouco expressiva comparada ao seu potencial de uso, é o das espécies de *Sansevieria* (Liliaceae), popularmente conhecidas por espada e lança-de-São Jorge. Muitas delas e suas cultivares são por excelência de caráter ornamental, cultivadas comercialmente como folhagens (HENLEY et al., s/d). São plantas extremamente rústicas, adaptando-se muito bem ao sol ou à sombra, ao calor e ao frio, sensíveis apenas ao encharcamento do solo e ao frio excessivo (BLOSSFELD, 1963).

Embora muitas espécies possam ser propagadas por sementes, essa técnica é pouco utilizada devido a grande quantidade necessária para atender a produção comercial (HENLEY et al., s/d). O método de propagação adotado depende da variedade e da morfologia de cada planta. O mais empregado comercialmente é a propagação vegetativa, por divisão de touceiras e por estaquia, tanto de rizomas como de folhas (HERWIG, 1976). A divisão de touceiras consiste na separação das novas brotações que surgem do rizoma subterrâneo. As plantas obtidas dessa forma atingem a máxima produção entre um ano e meio a dois anos depois do plantio, dependendo dos tratamentos culturais dispensados (HENLEY et al., s/d). Devem ser retiradas com um número de folhas suficiente para que possam alcançar o máximo desenvolvimento em menor tempo (MEJIAS & RUANO, 1990). Algumas espécies produzem brotações bem próximas da planta original, apresentando um crescimento mais adensado, enquanto outras mais distanciado, ocupando áreas maiores.

As estacas podem ser de rizomas e folhas. Na estaquia por rizomas são utilizados segmentos contendo pelo menos uma gema lateral, com tamanho variável dependendo da espécie ou cultivar, uma vez que há grande variação no seu comprimento e diâmetro em função do seu hábito de crescimento. Estacas de folhas podem ser feitas de folhas inteiras ou segmentadas, com cerca de 10 a 15 cm de comprimento. Sob condições favoráveis, dentro de 20 dias, desenvolvem-se pequenas raízes fibrosas e novas plantas surgirão de 70 a 90 dias. Cada estaca foliar pode originar de uma a oito plantas (MEDINA, 1959). O tamanho das estacas é determinado pelo hábito de crescimento da planta. Para as cultivares anãs, como *Sansevieria trifasciata* 'Hahnii', são utilizadas folhas inteiras de 7,5 a 10 cm de comprimento, enquanto as plantas de folhas maiores são cortadas em seções de 10 a 20cm. Quanto menores as porções, maior o tempo necessário na propagação (HENLEY et al., s/d).

Assim, visando dar sustentação à sua produção comercial, o trabalho teve como objetivo estudar métodos de propagação vegetativa de *Sansevieria trifasciata* como forma de obter técnicas mais eficientes e rápidas e que produzam mudas com melhor qualidade. Como objetivos específicos procurou-se avaliar o efeito da idade das folhas e da posição de retirada das estacas na brotação e no desenvolvimento de mudas; o desenvolvimento de mudas (enraizamento e brotação) a partir de estacas de rizoma, plantadas em duas posições: enterradas horizontalmente e inclinadas, e o desenvolvimento de mudas a partir do plantio de brotos laterais, partindo de brotos de tamanhos e idades diferentes.



## METODOLOGIA

O experimento foi montado em viveiro, coberto com tela (clarite), equipado com sistema de irrigação por aspersão suspensa. O plantio foi feito em sacos plásticos pretos, preenchidos com substrato comercial Rendmax – Floreiras, da Eucatex Agro, dispostos em bancadas. A *S. trifasciata* foi escolhida para o estudo por ser a espécie com maior disponibilidade de material para obtenção de estacas, dentro da coleção do IAC. Como material de propagação foram utilizadas estacas de folhas inteiras, obtidas de brotações laterais com 20 cm (novas) e 30 cm (velhas), aproximadamente, e segmentadas, estas com 10 cm, obtidas das porções basal, mediana e apical; estacas de rizomas e brotações laterais de plantas adultas constituídas por folhas e porção do rizoma na base. Para estacas foliares e brotações laterais foram testados dois estádios de desenvolvimento, consideradas novas e velhas. Estacas de rizomas, também de 10 cm, foram plantadas em duas posições.

O plantio das estacas foliares segmentadas foi realizado enterrando-se 1/3 das folhas, enquanto as de folhas inteiras, aproximadamente 5cm. Estacas de rizoma foram plantadas de duas formas: a) enterradas, horizontalmente, a 1 - 2 cm de profundidade e b) plantadas de forma inclinada, enterrando cerca de 3/4 da estaca. As brotações laterais foram fixadas no substrato, a 2-3 cm de profundidade, encobrendo a base caulinar.

Os parâmetros avaliados foram: a) tempo para o aparecimento da primeira brotação; b) número de brotos formado por estaca, e c) desenvolvimento da brotação quanto à altura, e d) massa de matéria seca.

Foram montados três experimentos: o primeiro com delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 4x2, com 8 tratamentos de estaquia foliar, onde foram avaliados os efeitos do tipo (4) de estaca e da idade (2) das folhas utilizadas: 1) estaca apical nova; 2) estaca apical velha; 3) estaca mediana nova; 4) estaca mediana velha; 5) estaca basal nova; 6) estaca basal velha; 7) folha inteira nova e 8) folha inteira velha. No segundo ensaio avaliou-se o efeito da posição de plantio do rizoma (inclinado e deitado) na formação de nova brotação. Os tratamentos constaram de 10 repetições, com 1 estaca por parcela. Posteriormente foi feita uma análise conjunta dos experimentos comparando-se os resultados obtidos com a brotação obtida no plantio de brotos laterais. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 permitem observar diferenças entre os tipos de estacas foliares somente em relação ao número e à massa de matéria seca de brotos formados, onde estacas de folhas inteiras produziram, em média, maior número de brotos (1,8), conseqüentemente, maior massa de matéria seca que as estacas basais, não diferindo das apicais e medianas. Quanto ao estágio de desenvolvimento (idade), as estacas obtidas de folhas mais velhas, apesar de serem mais rápidas na emissão da brotação, formam menor número de brotos e com menor massa seca. Estacas basais foram as que apresentaram os piores resultados, independente da idade da folha utilizada. Quanto ao tempo para o início da brotação, apesar de não significativo estatisticamente, variou de 100 a 150 dias, mostrando que as estacas apicais são bem mais rápidas, iniciando o processo cerca de um mês antes que as demais, o que é uma vantagem pois o ganho no tempo reflete no crescimento, produzindo brotos maiores no mesmo tempo.

Pelo desdobramento da interação entre tipo de estacas e estágio de desenvolvimento da folha (tabela 2), pode-se observar que a idade das folhas só interferiu no número de brotos nas estacas apicais e de folhas inteiras, sendo as mais novas as mais indicadas. Estacas de folha inteira, no geral, são mais indicadas que as segmentadas como material de propagação, seguidas das apicais e medianas. Quanto à massa de matéria seca, só foi observado efeito da idade da folha em estacas de folha inteira, sendo as mais novas melhores. Quanto ao tipo de estaca, a folha nova inteira foi superior às estacas segmentadas. Um outro fator a ser

considerado é a % de estacas brotadas (tabela3). Cerca de 70 a 80% das estacas obtidas de folhas novas brotaram, mostrando um rendimento bem superior ao observado para estacas de folhas mais velhas (20-60%).

Analisando a brotação obtida nas estacas de rizomas, plantadas em duas posições (Tabela 4), observam-se diferenças significativas somente em relação ao comprimento médio. Embora o tempo para o início da brotação não ser significativo, os 13 dias, em média, de diferença entre os tratamentos pode ter contribuído para esse resultado. A porcentagem de estacas enraizadas em ambos tratamentos foi de 60%.

Tabela 1. Brotação de estacas foliares de *Sansevieria trifasciata* em relação ao tempo para o início do seu aparecimento; número, comprimento médio e massa de matéria seca.

Fator	Variável	Início da brotação (dias)	Nº médio de brotações	Comprimento médio (cm)	Massa de matéria seca (g)
<b>Tipos de estacas (T)</b>	Apical	99,85 a	1,20 ab	4,89 a	0,37 bc
	Mediana	135,20 a	1,52 ab	6,83 a	0,84 b
	Basal	147,55 a	0,85 b	2,44 a	0,27 c
	Inteira	150,94 a	1,80 a	2,72 a	1,46 a
<b>Estádio (E)</b>	Novas	160,6 a	1,89 a	5,18 a	1,15 a
	Velhas	106,4 b	0,80 b	3,27 a	0,33 b
<b>F (T)</b>		2,31 <sup>ns</sup>	4,16*	2,40 <sup>ns</sup>	17,22*
<b>d.m.s.</b>		11,76	0,15	0,98	0,10
<b>F (E)</b>		12,25*	28,93*	2,15 <sup>ns</sup>	38,57*
<b>d.m.s.</b>		4,89	0,06	0,41	0,04
<b>F (T x E)</b>		0,58 <sup>ns</sup>	4,10*	0,55 <sup>ns</sup>	13,47*
<b>CV (%)</b>		51,94	67,19	66,19	78,94

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si (Tukey 5%); ns: não significativo a 5% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade; d.m.s. = diferença mínima significativa.

Tabela 2. Comparação entre médias de tipos de estacas e estágio de desenvolvimento da folha na formação de brotos de *S. trifasciata*.

Variáveis		Apical	Mediana	Basal	Inteira	d.m.s (Teste Tukey)
<b>Nº Brotos</b>	<b>E1 (nova)</b>	2,10 aAB	1,66 aAB	1,10 aB	2,70 aA	0,40
	<b>E2 (velha)</b>	0,30 bA	1,40 aA	0,60 aA	0,90 bA	
<b>Massa Seca</b>	<b>E1 (nova)</b>	0,71 aB	0,95 aB	0,35 aB	2,56 aA	0,26
	<b>E2 (velha)</b>	0,04 aA	0,75 aA	0,19 aA	0,35 bA	

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, ou mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Porcentagem de estacas foliares brotadas em função do tipo e da idade das folhas.

Variáveis	Apical	Mediana	Basal	Inteira
<b>E1 (novas)</b>	80%	80%	40%	70%
<b>E2 (velhas)</b>	20%	60%	30%	30%

A análise, comparando os três tipos de material vegetativo utilizados no ensaio, mostra diferenças em todos os parâmetros analisados (tabela 5). Os brotos laterais e estacas de rizoma são mais rápidos na emissão de brotos que as estacas foliares, muito embora o número de brotos formados nos rizomas seja menor que na brotação lateral. A diferença de 100 dias, aproximadamente, e o menor número de brotos de certa forma refletiram em maior crescimento.

Tabela 4. Brotação de estacas de rizomas de *Sansevieria trifasciata* em relação ao tempo para o início do seu aparecimento; número, comprimento médio e massa de matéria seca.

Tratamentos	Início da brotação (dias)	Nº de brotações	Comprimento médio das brotações (cm)	Massa de matéria seca (g)
Rizomas deitados	73,00 a	1,00 a	6,23 b	0,14 a
Rizomas inclinados	59,83 a	1,16 a	14,78 a	0,16 a
Teste F	0,84 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	5,87*	0,067 <sup>ns</sup>
d.m.s.	13,01	0,15	3,21	0,09
CV (%)	37,31	26,11	58,15	88,42

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si (Tukey 5%); ns: não significativo a 5% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade; d.m.s. = diferença mínima significativa.

Tabela 5. Comparação da brotação entre os três tipos de material utilizado na propagação vegetativa de *S. trifasciata*.

Tratamentos	Início da brotação (dias)	Nº de brotações	Comprimento médio das brotações (cm)	Massa de matéria seca (g)
<b>Estacas</b>	165,43 b	1,43 ab	8,08 b	0,84 b
<b>Brotações</b>	65,12 a	1,75 a	15,84 a	6,60 a
<b>Rizomas</b>	66,41 a	1,08 b	10,50 ab	0,15 b
d.m.s.	6,84	0,12	1,57	0,47
Teste F	50,04 *	4,52 *	4,27 *	39,00 *
CV (%)	31,20	39,91	62,88	79,80

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si (Tukey 5%); ns: não significativo a 5% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade; d.m.s. = diferença mínima significativa.

## CONCLUSÃO

Todo material vegetativo testado é passível de utilização na propagação da sansevieria, mas a brotação lateral mostrou-se mais eficiente por emitir maior número de novos brotos e de forma mais rápida, sem interferir no tamanho e na massa de matéria seca, garantindo mudas de maior tamanho e qualidade, em menor tempo.

Para obtenção de estacas foliares, sejam segmentadas ou de folhas inteiras, deve-se dar preferência por folhas em estágio inicial de desenvolvimento e, para as segmentadas, optar por aquelas obtidas das regiões apical e mediana, como forma de obter maior eficiência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLOSSFELD, H. **Jardinagem**. São Paulo: Edições Melhoramentos, 1963. p.123.
- HENLEY, R. W.; CHASE, A. R.; OSBORNE, L. S. **Sansevieria production guide**. Apopka: University of Florida, (s/d).
- HERWIG, R. **Viva o verde: o livro das plantas**. São Paulo: Círculo do Livro, 1976. p.159.
- MEDINA, J. C. **Plantas fibrosas da flora mundial**. Campinas: Instituto Agrônomo Campinas, 1959. p.269-270.
- MEJIAS, R. J.; RUANO, M. C. **El cultivo industrial de plantas en maceta**. Reus: Ediciones de Horticultura SL, 1990. p.244-246.

## PALAVRAS-CHAVE

*Sansevieria trifasciata*, Liliaceae, estaquia, brotação.

## Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de tamarindo (*Tamarindus indica* L.).

Sousa, Danielle Marie Macedo<sup>1</sup>; Dornelas, Carina Seixas Maia<sup>2</sup>; Rêgo, Mailson Monteiro<sup>3</sup>; Rêgo, Elizanilda R<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFPB), Campus II, Areia-PB e-mail:daniellemariem@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFPB), Campus II, Areia-PB, e-mail:cacasmd@yahoo.com.br; <sup>3</sup> Professor do Depto. de Fitotecnia (UFPB) Campus II, Areia-PB, email: mailson@cca.ufpb.br

### INTRODUÇÃO

O tamarindo (*Tamarindus indica* L.) pertence à família Leguminosae, é nativo da África tropical, de onde se dispersou por todas as regiões tropicais do mundo. No Brasil, as plantas foram introduzidas da Ásia e, mostram-se bem adaptadas e subespontâneas em vários Estados, além de serem cultivados em quase todos (Silva et al., 2000).

Mesmo não sendo nativo do Nordeste, devido a sua grande adaptação, o tamarindeiro é considerado como planta frutífera típica da região. Árvore economicamente importante, que se desenvolve largamente em regiões tropicais e subtropicais, sendo uma cultura ideal para regiões semi-áridas, especialmente nas áreas com eminência de seca prolongada, visto que pode tolerar 5 a 6 meses nessas condições (Alves et al., 1993).

A utilização dessa frutífera dá-se, principalmente, a partir da polpa, no preparo de doces, sorvetes, licores, sucos concentrados e ainda como tempero para arroz, carnes, peixes e outros alimentos. Embora tenha sido geralmente, utilizado para fins culinários, representa um inegável potencial industrial e comercial (Silva et al., 2000).

Grande parte das espécies lenhosas são basicamente constituídas pelas espécies frutíferas, como maçã, pêra, sapoti, manga, citrus, etc. A propagação das espécies de fruteiras é feita em sua maioria via enxertia, como também pode ser feita via sementes. As sementes são eficientes meios de disseminação e transmissão de patógenos, sendo assim, fontes de contaminação.

As espécies lenhosas apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente se for utilizado material vegetal proveniente de plantas adultas, pois podem apresentar infestação interna ou externa por microrganismos. Por isso, a utilização de plântulas germinadas *in vitro*, em condições assépticas, tornase mais vantajosa (SKIRVIN, 1981). Segundo Corder e Borges Junior (1999), vários fatores podem afetar o vigor germinativo das sementes e promover a formação de plântulas anormais ou sua morte, entre eles a dormência e a presença de microrganismos, sobretudo de fungos e bactérias. Por isso, os métodos de desinfestação devem ser eficazes, para que a plântula sirva de fonte de explante livre de fungos e bactérias.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo determinar um protocolo para desinfestação das sementes de tamarindo em meio de cultura, determinando a melhor concentração e tempo de exposição destas ao agente desinfestante.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal da Paraíba, em Areia, PB, entre março de 2001 a maio de 2002.

Os frutos de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) foram coletados em um pomar localizado na EAFS (Escola Agrotécnica Federal de Sousa), em São Gonçalo, no município de Sousa, na zona fisiográfica do Sertão paraibano. A colheita dos frutos foi manual, e realizada quando os mesmos atingiram o ponto de maturidade comercial, ou

seja, desprendiam-se das árvores. A extração das sementes foi manual, e depois de retiradas dos frutos, as mesmas foram armazenadas em refrigerador ( $\pm 8^{\circ}\text{C}$  e 37%UR).

Para avaliar o efeito dos agentes desinfestantes, as sementes com tegumento foram embebidas em solução contendo hipoclorito de sódio nas concentrações de 0; 12,5; 25; 50 e 100 % (Quadro 1), com três gotas de detergente comercial Tween 20 por 100 mL de solução. Em diferentes períodos de exposição 5, 10, 15 20 e 25 minutos. Foram então, em seguida, enxaguadas em água deionizada autoclavada. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em experimento fatorial 5 X 5 (Tabela 1), em cinco repetições. As características avaliadas foram porcentagem de contaminação, porcentagem de germinação e comprimento da plântula (aferida com paquímetro).

**Quadro 1 .** Tratamentos utilizados para desinfestação e tempo de embebição de sementes de tamarindo (*Tamarindus indica*)

Tratamentos	Hipoclorito de sódio (%)	Tempos (minutos)
1	0	5
2	0	10
3	0	15
4	0	20
5	0	25
6	12,5	5
7	12,5	10
8	12,5	15
9	12,5	20
10	12,5	25
11	25	5
12	25	10
13	25	15
14	25	20
15	25	25
16	50	5
17	50	10
18	50	15
19	50	20
20	50	25
21	100	5
22	100	10
23	100	15
24	100	20
25	100	25

Após a desinfestação, as sementes foram colocadas em meio de cultura em tubos de ensaio. Para avaliar o potencial de germinação, após a desinfestação as sementes foram colocadas em meio de cultura composto por sais básicos de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com o complexo vitamínico MS, 100 g L-1 de mioinositol, 2% (p/v) de sacarose e 0,5% (p/v) de ágar (Vetec), sendo o Ph ajustado em  $5,7 \pm 0,1$ . Foram vertidos 10 ml do meio de cultura antes da autoclavagem, em cada um dos tubos de ensaio de 25 x 150 mm. Logo após a semeadura das sementes, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento e mantidos no escuro à temperatura de  $26 \pm 2$  oC até os 30 dias após a semeadura.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância foi possível detectar a diferença entre as diferentes concentrações de Hipoclorito de sódio, sendo que não houve diferenças significativas para o tempo de desinfestação e nem para a interação do tempo de desinfestação com as concentrações de hipoclorito, em nível de 5% de significância pelo teste F, para todas as características avaliadas (Tabela 2). Resultados contrários foram observados por Couto et al., (2004) que trabalhando com sementes de mogno *Swietenia macrophylla* King verificaram que na concentração de 5% de hipoclorito de sódio durante 20 e 30 minutos de embebição apresentaram 14, 29% de sementes contaminadas.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância mostrando os valores de quadrado médio para as características porcentagem de contaminação (QMC), porcentagem de germinação (QMG) e comprimento de plântula (QMCP).

F.V.	G.L.	QMC	QMG	QMCP
Concentrações de Hipoclorito (C)	4	1,95*	1,71*	113,69*
Tempo de Contaminação (T)	4	0,172 <sup>ns</sup>	0,332 <sup>ns</sup>	23,96 <sup>ns</sup>
C x T	16	0,192 <sup>ns</sup>	0,222 <sup>ns</sup>	17,17 <sup>ns</sup>
Resíduo	100	0,18	0,176	11,83
Total	124			

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

<sup>ns</sup>Não significativo.

O tratamento que apresentou menor porcentagem de contaminação e maior porcentagem de germinação foi o hipoclorito a 25%, sendo os demais tratamentos inferiores para essas duas características (Tabela 3). De acordo com Couto et al., (2004) os tratamentos que proporcionaram as menores médias de contaminação por bactéria (9,52%) foram aqueles em que as sementes de mogno foram desinfestadas com 2,5% de hipoclorito de sódio, durante 10 e 30 minutos de embebição.

O tratamento com maior crescimento de plântula foi o controle, sem hipoclorito, com 25, 50 e 100% de hipoclorito, sendo o tratamento com 12,5% de hipoclorito o que apresentou plântulas menores (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias das características contaminação, germinação e comprimento de plântula em diferentes concentrações de Hipoclorito de sódio.

Concentrações de Hipoclorito de Sódio (%)	Contaminação (%)	Germinação (%)	Comprimento de plântula (cm)
0	40 <sup>ab*</sup>	72 <sup>ab</sup>	6,08 <sup>a</sup>
12,5	32 <sup>ab</sup>	48 <sup>b</sup>	3,90 <sup>b</sup>
25	28 <sup>b</sup>	76 <sup>a</sup>	5,87 <sup>ab</sup>
50	44 <sup>ab</sup>	56 <sup>ab</sup>	4,20 <sup>ab</sup>
100	48 <sup>a</sup>	60 <sup>ab</sup>	4,7 <sup>ab</sup>

## CONCLUSÕES

Baseado nos dados obtidos nesse trabalho recomenda-se a utilização de 25% de hipoclorito de sódio para a desinfestação de sementes de tamarindo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R.E; MENEZES, J.B.; HOLLAND, N.; CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F. Tamarindo (*Tamarindus indica* L.): caracterização pós-colheita do fruto procedente de clima semi-árido do nordeste. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 15, n. 1, p. 199 – 204, 1993.

CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.  
MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.

SILVA, G. G; PRAÇA, E.F. JUNIOR, J.G.; ROCHA, R.H.C.; COSTA, M.L.; Caracterização física e química de tamarindo (*Tamarindus indica* L) em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n.2, p. 291-293, 2000.

SKIRVIN, R. M. Fruticulture crops. In: CONGER, B. V. **Cloning agricultural plants via in vitro techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1981. p. 51-139.

Palavras-chave: *Tamarindus indica* L., desinfestação de sementes, germinação *in vitro*.

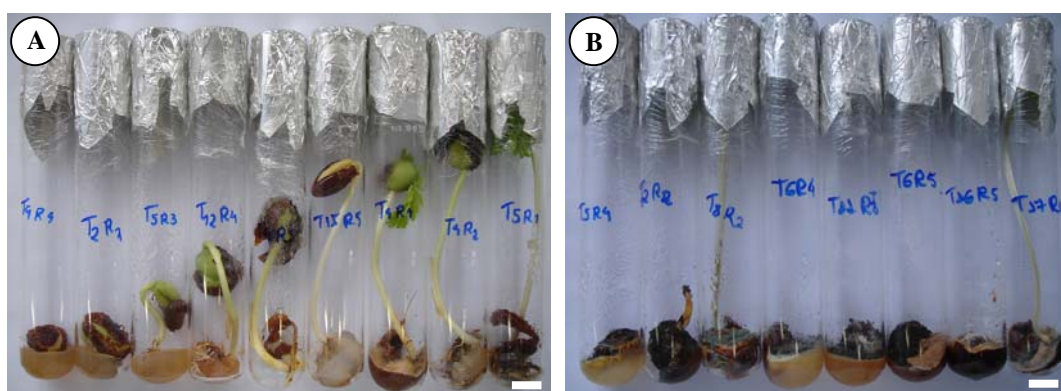


Figura 1. Desinfestação de sementes de *Tamarindus indica* L. A. Sementes descontaminadas e germinadas em diferentes fases de desenvolvimento. B. Sementes contaminadas.

## Germinação *in vitro* de sementes de *Aechmea* sp.

Olívia Silva Nepomuceno Santos<sup>1</sup>; Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>2</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduandos em Engenharia Agrônômica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA. CEP: 44380-000; olivianepomuceno@yahoo.com.br; hilosouza@gmail.com; <sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, CP 007. Cruz das Almas, BA. CEP: 44380-000. fernanda@cnpmf.embrapa.br

### INTRODUÇÃO

A floricultura vem expandindo-se no Brasil em função do aumento da demanda de flores e plantas ornamentais, tanto no mercado interno como no internacional. Atualmente, existe uma demanda por materiais ornamentais exóticos, como é o caso das espécies tropicais, em função da beleza, exuberância e durabilidade das suas flores. Entre as plantas tropicais utilizadas como ornamentais as bromeliáceas se destacam, ganhando lugar no mercado e na preferência do consumidor.

Originária da América Central, América do Sul e Antilhas, a família Bromeliaceae compreende 56 gêneros e cerca de 3,5 mil espécies. Elas podem ser encontradas em quase todo território brasileiro e são, em sua maioria, plantas terrestres e epífitas. Conforme a espécie pode ser encontrada ao nível do mar, em restingas, manguezais, planícies, locais áridos, desérticos ou úmidos, nas florestas e até a 4000m de altura (Soares, 2004).

O uso de bromélias como planta ornamental tem gerado, no entanto, um problema de extrativismo predatório, visto que a grande maioria das espécies não são propagadas de forma sistemática visando a produção de mudas para cultivo e comércio. Segundo Rech Filho (2004), nas bromélias, a propagação clonal por divisão natural de brotações laterais é de baixa frequência, originando poucos filhos/planta/ano, o que agrava ainda mais a situação de muitas espécies. Desenvolver um protocolo de propagação é fundamental no auxílio à conservação dessas plantas, já que supre a demanda de mudas no mercado.

Nas últimas décadas, as técnicas de cultura de tecidos *in vitro* se constituíram numa ferramenta valiosa, não apenas auxiliando na compreensão dos processos da biologia do desenvolvimento, mas prestando auxílio prático no melhoramento genético de muitas espécies (Withers & Williams, 1998). Dentre essas técnicas, a micropropagação é a de maior impacto na agricultura, já que propicia a produção de um elevado número de plantas uniformes, de alta qualidade e livres de doenças. Adicionalmente, é uma técnica que presta um auxílio significativo para a preservação e propagação de espécies ameaçadas de extinção. Entretanto, o estabelecimento *in vitro* de uma determinada espécie, implica no ajuste de um protocolo, considerando as etapas de estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização. No caso das bromélias, uma das grandes limitações é a ocorrência de bactérias endofíticas que surgem principalmente a partir do cultivo de gemas axilares ou gemas de estolões. Uma alternativa interessante é a micropropagação usando como explante, plântulas obtidas por meio da germinação de sementes *in vitro*.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação de sementes de *Aechmea* sp. com vistas à conservação de germoplasma e à micropropagação para produção comercial.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas – BA. As inflorescências foram coletadas em plantas de bromélias *Aechmea* sp (Figura 1) na Fazenda Flor de Brotas, situada no município de Irapá, na Bahia. O total de 17 bagas foram lavadas com água e detergente antes do procedimento de desinfestação, que foi realizado sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar. As



bagas inteiras foram imersas em álcool 70% por 5 minutos, posteriormente embebidas em solução de hipoclorito de sódio contendo 1% de cloro ativo com três gotas de detergente Tween-20, durante 30 minutos e enxaguadas 3 vezes em água destilada esterilizada. A extração das sementes foi realizada em câmara de fluxo laminar, sobre papel filtro estéril, com auxílio de pinça e bisturi, obtendo-se um total de 1.319 sementes distribuídas em sete placas. A extremidade apical da baga foi cortada com o bisturi e por meio de uma leve pressão com o auxílio de duas pinças, as sementes foram inoculadas em placas de petri contendo o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), com adição de 3% de sacarose, 0,7% de ágar e pH ajustado em 5,8. As avaliações das contaminações por fungos e/ou bactérias, foram realizadas diariamente nos primeiros 15 dias, e as de germinação de sementes foi realizada a cada dois dias até o 24º dia após a inoculação das sementes.

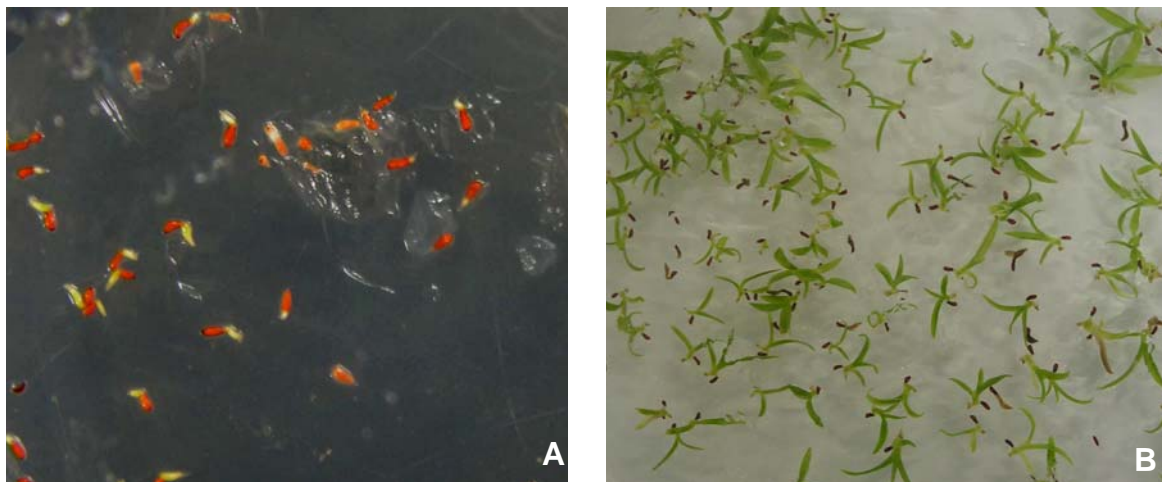


**Figura 1.** Planta e inflorescência de *Aechmea* sp.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

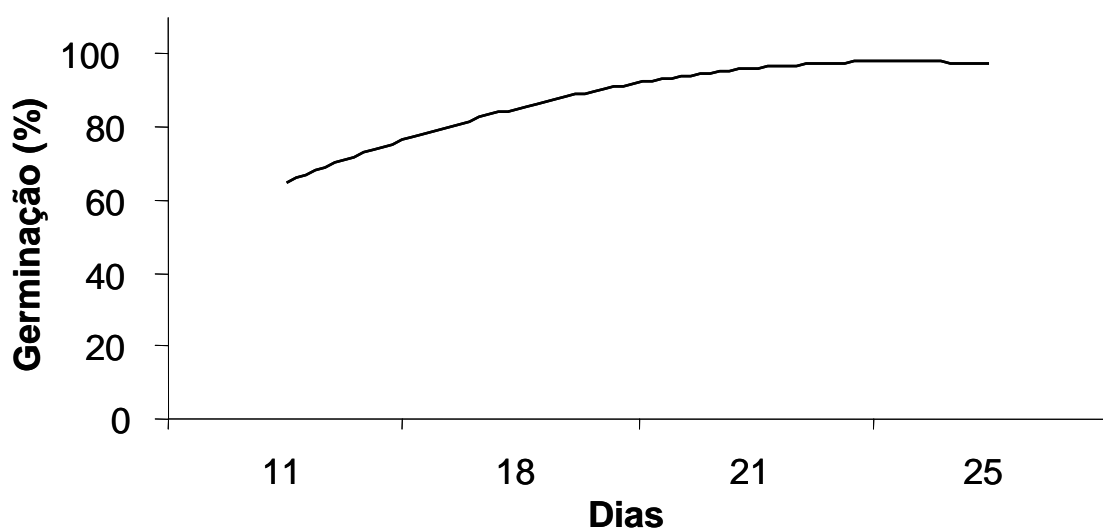
Foram registradas contaminações totalizando uma perda de 31,84% das sementes inoculadas, sendo 18,49% por bactérias e 13,34% por fungos. A contaminação bacteriana pode ser devido à ocorrência de bactérias endofíticas, visto que ocorreram exatamente ao redor das sementes, como um exudado. A contaminação de origem fúngica pode estar relacionada com a assepsia e o manuseio das bagas durante a retirada das sementes. Provavelmente, a redução da contaminação pode ser obtida retirando-se as sementes das bagas para serem desinfestadas diretamente, ainda que esse procedimento dificulte a inoculação, devido ao tamanho reduzido das sementes dessa espécie.

As primeiras manifestações da germinação caracterizaram-se pelo intumescimento das sementes até a emissão da radícula, que foi verificado aos 11 dias de cultivo, após a inoculação (Figura 2).



**Figura 2.** Emissão de radícula aos 11 dias (A) e germinação de sementes de *Aechmea* sp. aos 25 dias (B).

A germinação acumulada pode ser observada na Figura 3, com o total de 97,1% de sementes germinadas. Em espécies de *Vriesea gigantea* e *Vriesea philippocoburgii*, Droste (2005) obteve uma percentagem de germinação acima de 90% aos 8 dias após a inoculação em meio MS. As diferenças nas respostas podem ser devido a fatores diversos, destacando-se o estado fisiológico das sementes ou mesmo devido a características genéticas da espécie. A germinação em períodos mais espaçados pode significar uma estratégia de sobrevivência da espécie a depender de sua região de origem e ocorrência. A germinação *in vitro* dessa espécie de *Aechmea* sp. demonstrou ser bastante eficiente, uma vez que seu desenvolvimento partindo de sementes, gerou plântulas saudáveis e vistosas atingindo seu máximo de germinação em um período inferior a 30 dias, resultando na produção de uma planta por semente e possibilitando a obtenção de um grande número de plantas. Esse é um passo inicial importante, tanto para o estabelecimento de um protocolo de micropropagação, quanto para conservação *in vitro* de bromélias, atualmente tão ameaçadas pelo extrativismo predatório.



**Figura 3.** Germinação acumulada (%) de *Aechmea* sp. em dias após a inoculação das sementes em meio de cultura.

## CONCLUSÃO

A germinação *in vitro* de sementes de *Aechmea* sp mostrou-se viável, gerando plântulas normais que podem ser usadas para micropropagação ou conservação dessa espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DROSTE, A.; SILVA, A. M.; MATOS, A. V.; ALMEIDA, J. W. *In Vitro* Culture of *Vriesea gigantea* and *Vriesea philippocoburgii*: Two Vulnerable Bromeliads Native to Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.48, n. 5, p.717-722, 2005.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantum**, v. 15, p. 473-97, 1962.

RECH FILHO, A. Biorreatores de imersão temporária e unidades encapsuláveis como ferramentas na consolidação de protocolos de micropropagação de bromélias. **Dissertação** (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais, CCA/UFSC), 87p. 2004.

SOARES, C. B. L V. **O livro de ouro das flores**. Rio de Janeiro: Ediouro, 2004. 271p.

WITHERS, L. A.; WILLIAMS, J. T. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. p. 297-330.

## PALAVRAS-CHAVES

*Aechmea* sp., Bromeliáceas, micropropagação, conservação de germoplasma.

## Morfologia de diásporos e de plântulas de *Dypsis lastelliana* (Baill.) Beentje & J. Dransf.

Pimenta, Ricardo Soares<sup>1</sup>; Moro, Fabíola Vitti<sup>2</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>3</sup>; Luz, Petterson Baptista da<sup>4</sup>; Frateschi, Camila Schiavoni<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209-2668, email: [pimenta@fcav.unesp.br](mailto:pimenta@fcav.unesp.br); <sup>2</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Biologia, email: [fabiola@fcav.unesp.br](mailto:fabiola@fcav.unesp.br); <sup>3</sup> Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>4</sup> Doutorando do Programa de Produção e Tecnologia de Sementes, Departamento de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), email: [petterbaptista@yahoo.com.br](mailto:petterbaptista@yahoo.com.br); <sup>5</sup> Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [camilafrateschi@bol.com.br](mailto:camilafrateschi@bol.com.br)

*Dypsis lastelliana* (Baill.) Beentje & J. Dransf. é uma palmeira solitária, com estipe dilatado na base, anelado, verde-acinzentado, aveludado, de cor marrom no topo, com 20 a 25 cm de diâmetro. Conhecida popularmente por palmeira-de-pescoço-marrom é uma espécie pouco difundida no país. Destaca-se como ornamental, principalmente, pelo tom aveludado e de coloração marrom do caule e dos pecíolos. Há poucas informações sobre a germinação de sementes desta espécie. Este trabalho teve, portanto, o objetivo de descrever a morfologia dos diásporos (sementes com o endocarpo aderido) e do processo germinativo de *Dypsis lastelliana*. Os frutos foram coletados no sítio “Tropical Paisagismo” situado em Limeira-SP. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Morfologia Vegetal do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária – FCAV–UNESP, Jaboticabal, SP. Um quilo de diásporos contém cerca de 1471 unidades. Os diásporos são arredondadas, com endosperma ruminado e de consistência dura. O embrião de *Dypsis lastelliana* é lateral, periférico, indiviso e cônico, com aproximadamente 3 mm de comprimento distinguindo-se uma região distal, mais estreita e uma região proximal, mais alargada, de coloração, apresentando, em vista frontal, uma pequena elevação central por onde emergirá a raiz primária. A germinação de sementes é do tipo adjacente ligulada, sendo que o desenvolvimento da plântula é adjacente ao diásporo e se inicia a partir de uma massa de células indiferenciadas na depressão micropilar. Posteriormente, essa massa de células torna-se cilíndrica, com a diferenciação dos primórdios caulinares e radiculares, sendo o primeiro envolto por uma bainha fechada. Concomitantemente, ocorre o desenvolvimento de raízes adventícias no eixo embrionário. O sistema radicular é fasciculado, com raízes adventícias diferenciadas e várias raízes laterais. O primórdio caulinar é constituído por três bainhas que envolvem a primeira folha jovem, as quais se abrem, sucessivamente, permitindo a emergência da folha primária. A primeira bainha é localizada próximo ao eixo embrionário e apresenta menor extensão que as demais.

Palavras-chaves: palmeira-de-pescoço-marrom, germinação, sementes

### AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a Fapesp pelo auxílio pesquisa e ao proprietário do sítio “Tropical Paisagismo”, José Pompeu Junior, pela doação das sementes

## **Propagação por estaquia em Orquídea *Vanilla chamissonis* Klotzsch.**

Oliveira, Saulo Araújo de<sup>1</sup>; Takeda, Alexandre de Oliveira<sup>2</sup>; Facioli, Ana Paula<sup>2</sup>; Ferreira, Robson Greguer<sup>2</sup>; Vaz, Silvana Rodrigues<sup>2</sup>; Freitas, Tiago Trevizam de<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Professor da Universidade Estadual de Goiás da Unidade Universitária de Ipameri (UEG-UnU-Ipameri), Rodovia GO-330, km 241, Anel Viário, CEP 75.780-000, Ipameri, Goiás, fone (64) 3491-1556/5219, e-mail: [agrosaulo@brturbo.com.br](mailto:agrosaulo@brturbo.com.br); <sup>2</sup> Graduandos do curso de agronomia da UEG-UnU-Ipameri, fone (64) 8121-6108, e-mail: [gregueragro@hotmail.com](mailto:gregueragro@hotmail.com).

### **INTRODUÇÃO**

A família Orchidaceae é uma das maiores e mais diversificadas do reino vegetal, estima-se 700 gêneros e 25.000 espécies. Hoje são aceitas cinco subfamílias: Apostasioideae, Cyripedioideae, Epidendroideae, Orchidoideae, Vanilloideae. Este estudo concentrou-se nesta última, e mais especificamente na espécie *Vanilla chamissonis* (Singer & Koehler 2004; Van Den Berg, 1998).

A vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído) é um dos compostos aromáticos mais apreciados no mundo e um importante flavorizante para alimentos e bebidas, também pode ser utilizada em produtos farmacêuticos. É extraída de cápsulas de baunilha que é uma orquídea do gênero *Vanilla*. Este composto possui vários efeitos como prevenção de doenças, é considerado antimutagênico, antioxidante, conservante e antimicrobiano (Shaughnessy et al., 2001; Cerrutti & Alzamora, 1996).

Com a crescente antropização dos habitats das orquídeas, faz-se necessário estudos voltados para a conservação, manejo, propagação e reintrodução das orquídeas à natureza. Dessa forma, é imprescindível o conhecimento detalhado das estratégias reprodutivas dessas espécies (Costa et al., 1998; Houch 1998).

Mundialmente, a propagação da baunilha é realizada por estaquia (Decker, 1956). Neste método propagativo, para a maioria das espécies, a aplicação de reguladores de crescimento é decisiva para o enraizamento (Kester & Sartori, 1966). Acelerando o início da formação de raízes, aumentando a percentagem do número e a qualidade das raízes formadas e uniformizar o enraizamento (Fachinello et al., 1994). O ácido indolbutírico (AIB) é um dos fitorreguladores mais utilizados na propagação assexuada pelo método de estaquia (Finardi, 1998).

Outro fator que contribui para o enraizamento de estacas é o substrato utilizado. Assim, é preciso conhecer a qualidade dos materiais que serão empregados na sua composição, a partir de suas propriedades físicas e químicas. Entre as propriedades físicas, destacam-se a densidade, a porosidade e a disponibilidade de água. Um dos condicionadores de substratos mais utilizados é a vermiculita, que possui alta capacidade de retenção de água (Fermino, 2003; Kämpf, 2000).

O objetivo do presente trabalho foi identificar o comportamento, da espécie *Vanilla chamissonis*, orquídea nativa do Estado de Goiás, na propagação assexuada, pelo método da estaquia, sob cultivo protegido, em câmara de nebulização.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo, realizado durante o período de dezembro de 2006 a janeiro de 2007, foi desenvolvido sob ambiente protegido, em câmara de nebulização, localizada na Fazenda Experimental da UEG, na Unidade Universitária de Ipameri, situada na Rodovia GO-330, km 241, Anel Viário de Ipameri–GO com 810 m de altitude média, 8.041.043,9950 S, 804.512,0582 W e fuso K22.

Destacou-se de uma planta matriz, trinta estacas, seccionadas nos entrenós, cada uma de, aproximadamente, dezoito centímetros, contendo duas gemas viáveis. Permanecendo apenas uma folha por estaca. Utilizou-se dois tratamentos, com quinze repetições cada.



Um tratamento foi composto de quinze estacas postas a enraizar diretamente em uma bandeja contendo vermiculita. No segundo tratamento cada estaca foi submetida, durante dez segundos, a uma solução de fitorregulador, ácido indolbutírico (AIB), na concentração de  $2,0 \text{ mL.m}^{-3}$ , de forma que apenas os entrenós foram expostos. Depois da exposição, estas estacas também foram colocadas em uma bandeja contendo vermiculita.

Os dois tratamentos foram conduzidos sob cultivo protegido em câmara de nebulização automatizada. Sendo esta, com nebulização intermitente, com duração de cinco minutos e intervalos de 20 minutos. As leituras foram realizadas de 15 em 15 dias, até o 60º dia após a estaquia.

Foi construída a curva de crescimento das raízes de estacas de *V. chamissioni* e os resultados foram analisados em análise de variância (ANOVA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que não houve diferença, no enraizamento de estacas de *Vanilla chamissioni*, entre os tratamentos com fitorregulador e sem adição de fitorregulador. Sendo a média do comprimento de raízes aos 60 dias para o tratamento com AIB de 30,84 cm e do sem adição de fitorregulador de 27,75 cm. Assim houve semelhança entre os tratamentos, porém grande variabilidade dentro de cada tratamento, verificada pelos diferentes comprimentos de raízes emitidas nas quinze repetições de cada tratamento (Figura 1), após 60 dias da estaquia.

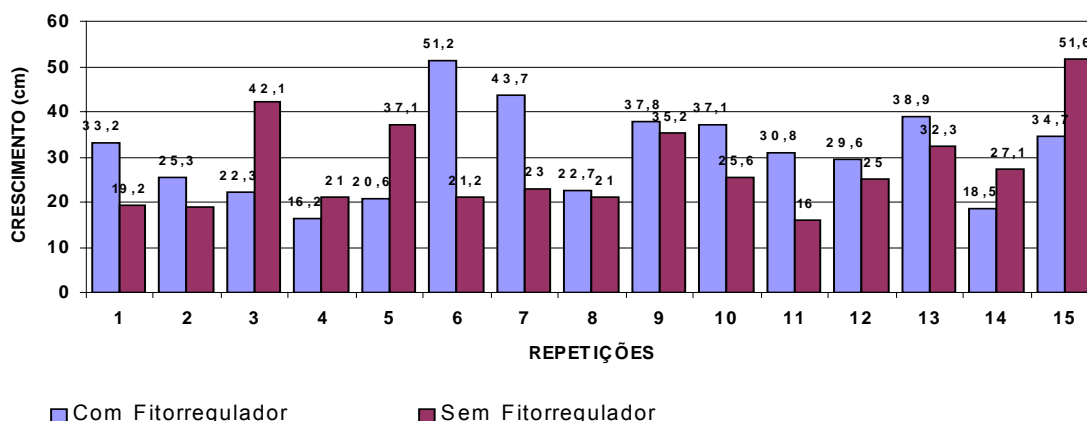


Figura 1. Comprimento das raízes, nas 15 repetições aos 60 dias após a estaquia de *Vanilla chamissioni* para cada tratamento. Ipameri, GO. 2006/2007.

A fim de confirmar esta semelhança, efetuou-se uma comparação mais objetiva entre os dois tratamentos por meio de Análise de Variância (ANOVA). A partir dos resultados, nos quatro intervalos de 15, 30, 45 e 60 dias após a estaquia não foi observada diferença significativa entre os dois tratamentos, com  $\alpha=5\%$ .

A partir do comportamento da formação de raízes das estacas de *V. chamissioni*, observou-se com a curva de crescimento radicular (Figura 2) que não houve diferença marcante entre os tratamentos. Verificou-se, nos dois últimos intervalos, uma tendência de distanciamento entre os efeitos dos dois tratamentos. No entanto, não se pode atribuir este comportamento ao uso do fitorregulador (AIB), uma vez que seu efeito residual no enraizamento ocorre em, aproximadamente, até 60 dias após a estaquia (Grattapaglia et al., 1987).

Tabela 1. Análise de variância (ANOVA) do crescimento radicular de estacas de *Vanilla chamissioni*, aos 15 dias após a estaquia. Ipameri, GO. 2006/2007.

CV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	0,432	0,432	0,0267
Resíduos	28	453,446	16,1945	
Total	29	453,878	16,6265	

CV. Coeficientes de variação; GL. Graus de Liberdade; SQ. Soma dos quadrados; QM. Quadrado médio; F.

Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) do crescimento radicular de estacas de *Vanilla chamissioni*, aos 30 dias após a estaquia. Ipameri, GO. 2006/2007.

CV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	1,0453	1,0453	0,0278
Resíduos	28	1053,92	37,64	
Total	29	1054,9653	38,6853	

CV. Coeficientes de variação; GL. Graus de Liberdade; SQ. Soma dos quadrados; QM. Quadrado médio; F.

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) do crescimento radicular de estacas de *Vanilla chamissioni*, aos 45 dias após a estaquia. Ipameri, GO. 2006/2007.

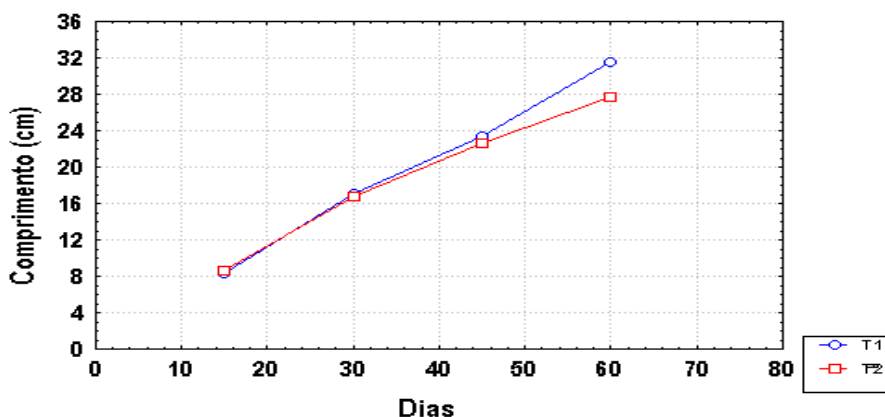
CV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	3,605	3,605	0,0607
Resíduos	28	1662,92	59,39	
Total	29	1666,525	62,995	

CV. Coeficientes de variação; GL. Graus de Liberdade; SQ. Soma dos quadrados; QM. Quadrado médio; F.

Tabela 4. Análise de variância (ANOVA) do crescimento radicular de estacas de *Vanilla chamissioni*, aos 60 dias após a estaquia. Ipameri, GO. 2006/2007.

CV	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	106,032	106,032	1,124
Resíduos	28	2641,226	94,3295	
Total	29	2747,258	200,3615	

CV. Coeficientes de variação; GL. Graus de Liberdade; SQ. Soma dos quadrados; QM. Quadrado médio; F.



T1. Tratamento 1: com adição de fitorregulador; T2. Tratamento 2: sem adição de fitorregulador.

Figura 2. Curva de crescimento das raízes de estacas de *Vanilla chamissioni*, aos 15, 30, 45 e 60 dias após a estaquia. Ipameri, GO. 2006/2007.

## CONCLUSÕES

O uso do ácido indolbutírico (AIB) a  $2,0 \text{ mL.m}^{-3}$ , não proporcionou maior enraizamento de estacas de *Vanilla chamissonis*. Portanto, a propagação vegetativa pelo

método de estaquia não requer tratamento com fitorregulador. Recomenda-se a realização de outros estudos para avaliação do tempo de embebição no fitorregulador.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CERRUTTI, P.; ALZAMORA, S. M.; *Int. J. Food Microbiol.* 1996, v.29. 379 p.

COSTA, C.M.R.; HERMANN, G.; MARTINS, C.S.; LINS, L.V. & LAMAS, I.R. **Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação.** Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas, 1998. 94p.

DECKER, J. S. **Cultura das orquídeas no Brasil.** São Paulo: Secretária Agricultura, Indústria e Comércio Estado de São Paulo, 1956. 251 p.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas.** Pelotas: Editora UFPEL, 1996. 311p.

FERMINO, M.H. Métodos de análise para caracterização física de substratos para plantas. 2003. 89f. **Tese** (Doutorado em Horticultura) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

FINARDI, N.L Método de propagação e descrição de porta-enxertos. 1998. In: MEDEIROS, C.A.B., RASEIRA, M DO.C.B (ED). **A cultura do pessegueiro,** Pelotas: Embrapa/CNPAT. 1998. p.100-128.

GRATTAPAGLIA, D.; ASSIS, T. F.; CALDAS, L. S. Efeito residual de BAP e NAA na multiplicação e enraizamento in vitro de Eucalyptus. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 2., 1987, Brasília, DF. **Resumos...** Brasília, DF., 1987. p.10.

HOUGH, P. R. **O mundo das orquídeas.** v.1, São Paulo, On line Editora, 1998, 74p.

KÄMPF, A.N. **Seleção de materiais para uso como substrato.** In: KÄMPF, A.N.; FERMINO, M.H. (Ed.). Substratos para plantas: a base da produção vegetal em recipientes. Porto Alegre: Gênese, 2000. p.139-145.

KESTER, D.E.; SARTORI, E. Rooting of cuttings in populations of peach (*Prunus persica* L.), almond (*Prunus amygdalus* Batsch) and their F1 hybrids. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, v.88, p.219-223, 1966.

SHAUGHNESSY, D. T.; WOODROW, S. R.; DEMARINI, D. M.; **Mutat. Res.** n.55. 2001, 480p.

SINGER, R. B; KOEHLER, S. 2004. Pollinarium morphology and floral rewards in BrazilianMaxillariinae. **Annals of Botany.** v.93. p.39-51. 2004.

VAN DEN BERG, C. 1998. Banco genético de orquídeas: diversidade e conservação. In: BANDEL, G. & VELLO, N. A. (eds.). 1998. Encontro sobre temas de genética e melhoramento. 15, **Anais**, v.15, p.27-39.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Vanilla chamissonis*; estaquia; propagação; orquídea; planta ornamental.



## **Germinação de sementes de *Tagetes erecta*.**

Oliveira, Saulo Araújo de<sup>1</sup>; Tomazini, Maico<sup>2</sup>; Caldas, Pedro Ernesto Alves<sup>2</sup>; Oliveira, Diego Marques de<sup>2</sup>; Oliveira Júnior, Valtair Fernandes de; Rodrigues, Edgar Marques<sup>2</sup>; Silva Junior, Eudes Ferreira da<sup>2</sup>; Costa, Fabrício Ramos da<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Professor da Universidade Estadual de Goiás-Unidade Universitária de Ipameri (UEG/UnU-Ipameri), Rodovia GO-330, km 241, Anel Viário, CEP 75.780-000, Ipameri, Goiás, fone (64) 3491-1556/5219, email: [agrosaulo@brturbo.com.br](mailto:agrosaulo@brturbo.com.br); <sup>2</sup> Graduando do curso de agronomia da UEG/UnU-Ipameri, fone (64) 8118-6510, email: [maico\\_tomazini@hotmail.com](mailto:maico_tomazini@hotmail.com).

## **INTRODUÇÃO**

O gênero *Tagetes* engloba algumas das espécies da família Compositae ou Asteracea, Subfamília Asteroideae, Tribo Helenieae, todas originárias do México e introduzidas no Brasil há muitos anos, onde se aclimataram perfeitamente, tornando-se até subespontâneas. A espécie *Tagetes erecta* apresenta inflorescências de cores atrativas, em forma de capítulo, que podem ser combinadas de várias maneiras. É popularmente conhecida como cravo ou Marigold. Existe grande interesse ornamental, no entanto, pouco se tem estudado sobre esta espécie (Lorenzi & Souza, 2001; Soule & Janick, 1996; Kissmann & Groth, 1992).

A utilização do *Tagetes* é bastante variada, abrangendo desde seu uso na ornamentação, no paisagismo, como no controle de fitonematóides e microrganismos fitoinfestantes. Extrato de Asteraceas deste gênero é uma opção de inseticida e fungicida natural. *Tagetes* spp. foram eficazes a muitos agentes microbianos, tais como fungos (Bii et al., 2000), vírus (Abad et al., 1999) e bactérias gram positivas e gram negativas (Tereschuk et al., 2003). Macedo et al. (1997) apresenta resultados semelhantes com extrato de *Tagetes* utilizado como larvicida contra *Aedes fluviatilis*.

Conforme Craveiro et al. (1988), o Brasil é o maior produtor de *T. minuta*, o que o caracteriza como potencial produtor de espécies deste gênero. No entanto, devido ao reduzido número de pesquisas sobre a espécie *T. erecta*, que comprovem sua eficácia e as técnicas adequadas de propagação esta, ainda, vem sendo utilizada empiricamente somente como planta ornamental.

A espécie *T. erecta* apresenta propagação por meio de sementes, aquênios, cuja germinação também não tem sido investigada. Devido à escassez das pesquisas relacionadas com a propagação de *T. erecta*, o presente trabalho, se propõe a iniciar a investigação sobre sua propagação sexuada. Dessa forma, teve-se como objetivo determinar a quantidade de aquênios por capítulo e a partir destes, através de teste de germinação, avaliar o percentual germinativo, bem como, o comportamento germinativo desta espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente estudo foi realizado no mês de novembro do ano de 2006, no Laboratório de Biotecnologia, apresentando temperatura diurna média de 24°C, na Unidade Universitária de Ipameri, da Universidade Estadual de Goiás, situada na Rodovia GO-330, km 241, Anel Viário de Ipameri, GO, com 810 m de altitude média, 8.041.043,9950 S, 804.512,0582 W e fuso K22.

Foram utilizados como materiais experimentais, aquênios retirados de inflorescências da espécie *Tagetes erecta*, coletadas em canteiro público da cidade de Goiânia, GO. Os capítulos foram secos a sombra e armazenados por 30 dias, sendo, então, extraídos os aquênios.

Estes foram selecionadas por capítulo. Cada capítulo foi semeado em uma bandeja, independente da quantidade de aquênios que continham. Para o experimento, foram aproveitados somente os aquênios visualmente aptos à germinação. Assim, cada bandeja representava a germinação de cada capítulo, perfazendo um total de 50 capítulos.

O preparo das bandejas procedeu-se colocando papel toalha no fundo, umedecido com água destilada durante todo o experimento. Estas foram dispostas aleatoriamente em uma estante localizada em ambiente que não recebeu incidência luminosa direta.

Iniciaram-se as observações no segundo dia após a instalação do experimento. Verificou-se o número de sementes germinadas a cada dia. Encerrando-se as observações quando já não mais ocorria a germinação, por volta do 11º dias após a semeadura.

Os dados obtidos foram avaliados quanto à percentagem de germinação, objetivando, tornar possível, através de teste de laboratório, a identificação de potenciais de emergência no campo. Analisou-se, também, a curva de germinação, a fim de estabelecer o comportamento germinativo desta espécie. O tempo médio de germinação foi calculado de acordo com Ferreira (1977).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar através do teste de germinação de cada capítulo, utilizando-se um total de 50 capítulos, em bandejas para germinação, o comportamento germinativo, por capítulo, do *T. erecta*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os capítulos de *T. erecta* possuíam de 78 aquênios a 529 aquênios. Revelando grande variação na quantidade de aquênios, por capítulo, nesta espécie.

Assim como ocorre nas inflorescências em umbelas, também acontece nos capítulos de *Tagetes*, apresentando capítulos primários, secundários, terciários, etc. Isso corrobora para que em uma mesma planta existam capítulos de várias ordens e para que o número de aquênios seja inversamente proporcional à grandeza desta ordem.

Nas umbelíferas quanto maior a ordem das umbelas, menor é o número de sementes e menor é o poder germinativo das sementes. Sendo que inflorescências de maior ordem apresentam maior número de flores masculinas (Cardoso, 2000). Em *T. erecta* (Tabela 1) os capítulos com número de aquênios inferior a 100 por inflorescência apresentaram (0 %, 38,75% e 61%) de germinação e os com número de aquênio superior a 400 por inflorescência apresentaram (30,59%, 34,18%, 41,97% e 71,71%) de germinação. Demonstrando a grande variabilidade existente na germinação desta espécie.

Observou-se que o comportamento germinativo desta espécie (Tabela 1), em cada capítulo é variável. A percentagem de germinação apresentou valores entre 0% de germinação e 92,25% de germinação.

Tabela 1. Comportamento germinativo dos aquênios de *Tegetes erecta*, por capítulo, aos 11 dias após a semeadura. Ipameri, GO. 2006.

CAPÍTULO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
TOTAL DE AQUÊNIOS	80	172	288	200	425	99	309	231	222	250	474	362	394	212	182
TOTAL GERMINADO	31	64	124	86	130	61	188	194	183	188	162	159	117	26	89
PERCENTAGEM GERMINADA (%)	38,75	37,21	43,06	43,00	30,59	61,62	60,84	83,98	82,43	75,20	34,18	43,92	29,70	12,26	48,90
CAPÍTULO	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
TOTAL DE AQUÊNIOS	256	325	223	78	529	240	189	323	142	139	341	303	260	340	307
TOTAL GERMINADO	168	222	125	0	222	128	146	107	131	97	131	172	187	137	201
PERCENTAGEM GERMINADA (%)	65,63	68,31	56,05	0,00	41,97	53,33	77,25	33,13	92,25	69,78	38,42	56,77	71,92	40,29	65,47
CAPÍTULO	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
TOTAL DE AQUÊNIOS	139	140	301	277	143	310	273	176	180	240	198	177	250	314	240
TOTAL GERMINADO	104	40	60	95	40	145	62	137	115	114	90	101	133	152	125
PERCENTAGEM GERMINADA (%)	74,82	28,57	19,93	34,30	27,97	46,77	22,71	77,84	63,89	47,50	45,45	57,06	53,20	48,41	52,08
CAPÍTULO	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
TOTAL DE AQUÊNIOS	144	162	288	311	241	219	297	233	297	222	110	281	239	456	152
TOTAL GERMINADO	98	111	194	23	20	41	48	35	127	170	29	188	165	327	65
PERCENTAGEM GERMINADA (%)	68,06	68,52	67,36	7,40	8,30	18,72	16,16	15,02	42,76	76,58	26,36	66,90	69,04	71,71	42,76

Um fator que influencia o comportamento germinativo é a temperatura. Ferreira et al. (2001) afirma que o tempo médio de germinação é um bom índice para avaliar a rapidez de ocupação de uma espécie em um determinado nicho ou território. Em *Tagetes minuta*, temperaturas acima de 25°C foram prejudiciais à germinação. No presente estudo a temperatura diurna média, dentro do laboratório, era de 24°C, limítrofe para a germinação de *T. minuta*, espécie do mesmo gênero, portanto, pode ter contribuído para a germinação apresentada.

Outro fator que contribui para a germinação de muitas espécies da família Asteraceae é o tempo de armazenamento. Já que pode alterar as exigências quanto à luz e à temperatura (Carnelossi et al., 1995). Na espécie estudada, os capítulos foram

armazenados por 30 dias, também contribuindo com o comportamento germinativo apresentado.

O comportamento germinativo de várias espécies, principalmente, entre as Asteraceae, é influenciado pela história da planta mãe, bem como pelos estresses sofridos por esta durante o desenvolvimento das sementes (Perez-Garcia, 1993). Também é modificado pelo dimorfismo ou polimorfismo dos aquênios. Este fenômeno é comum nos capítulos de Asteraceae (Amaral & Takaki, 1998; Rocha, 1996). Assim, estes fatores também podem ter contribuído na germinação de *T. erecta*.

O papel toalha é aconselhado pelas Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 1992). Apresentando diversas vantagens, mas é impossível seu uso para verificação de fotoblastimo na germinação. No presente estudo não foi considerado a influência da luz, na germinação dos aquênios, uma vez que este foi conduzido em estantes sem controle luminoso.

Os aquênios iniciaram a germinação no segundo dia após a semeadura (Figura 1). Quanto ao período de germinação, mais de 45% dos aquênios germinaram até seis dias, porém algumas sementes continuaram germinando por até 11 dias, atingindo a média de 48,7% de aquênios germinados por capítulo.

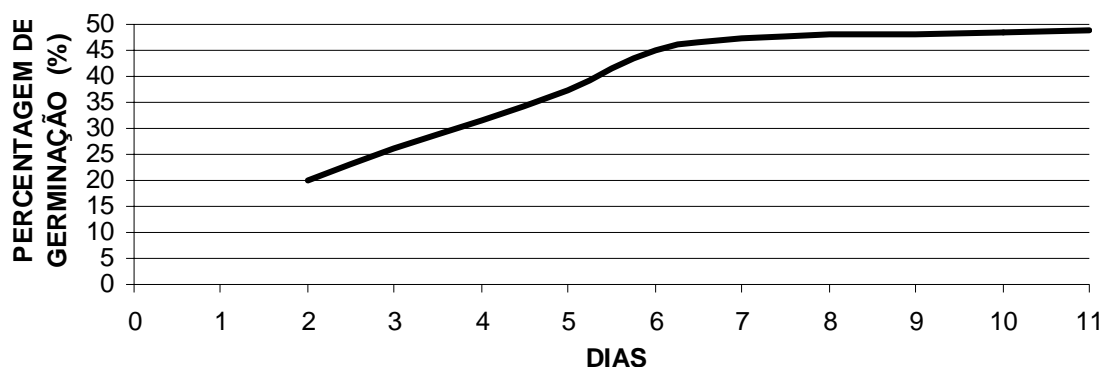


Figura 1. Curva de germinação dos aquênios de *Tegetes erecta*, por capítulo. Ipameri, GO. 2006.

Baixa germinação pode ser um problema, não só sob o ponto de vista ecológico, mas, particularmente, quando se deseja exploração econômica de uma Asteraceae (Afolayan et al, 1997). Como *T. erecta* pode ser utilizada para vários fins, tais como paisagísticos, agrônômicos e como flores de corte e envazadas, é importante conhecer a curva de germinação desta espécie. Assim, observou-se que a estabilização na curva de germinação ocorre por volta de nove dias após a semeadura.

## CONCLUSÕES

Os capítulos de *Tagetes erecta* eram compostos de 78 aquênios a 529 aquênios, demonstrando a grande variação na quantidade de aquênios, por capítulo nesta espécie. Já a percentagem de germinação apresentou valores entre 0% de germinação e 92,25% de germinação e média de 48,7% de aquênios germinados por capítulo. A germinação iniciou-se no segundo dia após a semeadura, sendo que 45% dos aquênios germinaram até seis dias, porém algumas sementes continuaram germinando por até 11 dias. A estabilização na curva de germinação ocorreu por volta de nove dias após a semeadura. Recomenda-se a realização de outros estudos para avaliação da germinação, emergência, desenvolvimento vegetativo, propagação e tratamentos pós-colheita para a espécie *T. erecta*, uma vez que esta apresenta potencial florífero e uso agrônômico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; SANCHEZ, P.S.; CHIRIGOTA, X.; CARRASCO, L. Antiviral activity of some South american medicinal plants. **Phytother. Res.** v.13. p.142-146. 1999.

AFOLAYAN, A.J.; MEYER, J.J.M. & LEENWNER, D.V. Germination in *Helichrysum aureonitens* (Asteraceae): effects of temperature, light, gibberellic acid, scarification and smoke extract. **South African Journal of Botany**. v.63. n.1. p.22-24. 1997.

AMARAL, A.; TAKAKI, M. Achene dimorphism in *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) as determined by germination test. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.41. n.1. p. 11-16. 1998.

BIL, C.C.; SIBOE, G.M.; MIBEY, R.K. Plant essential oils with promising antifungal activity. **East Afr. Med.** v.77. p.319-322. 2000.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

CARDOSO, A. I. I. Produção e qualidade de sementes de cenoura das cultivares Brasília e Carandaí. **Bragantia**. Campinas-SP. v.59. n.1. 2000.

CARNELOSSI, M.A.G.; LAMOURIER, L.; RANAL, M.A. Efeito da luz, hipoclorito de sódio, escarificação e estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) C.V. Marobá e moreninha-de-Uberlândia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.30. n.6. p.779-787. 1995.

CRAVEIRO, C.C.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; ALENCAR, J.W. Essential oils of *Tagetes minuta* from Brazil. **Perfum. Flavor**. v.13. p.35-36. 1988.

FERREIRA, A.G. *Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Ktze.: germinação da semente e desenvolvimento da plântula. Tese de doutorado. USP. São Paulo. 1977.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. Ludwigshaven: BASF, 1992. v.2, p.355-6.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. de. Plantas ornamentais no Brasil: Arbustivas, herbácea e trepadeiras. 3ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2001. 1088 p.

MACÊDO, M.E; CONSOLI, R.A.G.B; GRANDI, T.S.M, ANJOS, A.M.G.DOS; OLIVEIRA, A. B. DE; MENDES, N. M.; QUEIROZ, R.O.; ZANI, C.L. Seleção de extratos de plantas de Asteraceae (Compositae) com atividade larvicida contra *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v.92. n.4, 1997.

PEREZ-GARCIA, F. Effect of the origin of the cypsela on germination of *Onopordum acanthium* L.(Asteraceae). **Seed Science and Technology**. v.21. p.187-195. 1993.

ROCHA, O.J. The effects of achene heteromorphism on the dispersal capacity of *Bidens pilosa* L. **International Journal of Plant Science**. v.157. n.3. p.316-322. 1996.

SOULE, J. A.; JANICK, J. **Novel annual and perennial Tagetes**. Progress in new crops: Proceedings of the Third National Symposium Indiana: USA, 22-25. p.546-551. 1996.

TERESCHUK, M.L.; BAIGORI, M.D.; ABDALA, L.R. Antibacterial activity of *Tagetes terniflora*. **Fitoterapia** v.74. p.404-406. 2003.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Tagetes erecta*; germinação; sementes; propagação; planta ornamental.

## Tipos de estacas e substratos no enraizamento de Jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels).

Lima, Yohana de Oliveira Ugarelli<sup>1</sup>; Ritter, Marlice<sup>2</sup>; De Alcântara, Giovana Bomfim<sup>3</sup>; De Lima, Daniela Macedo<sup>3</sup>; Fogaça, Luciana Alves<sup>3</sup>; Quoirin, Marguerite<sup>4</sup>; Cuquel, Francine Lorena<sup>5</sup>; Biasi, Luiz Antonio<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda da Pós-Graduação em Agronomia (UFPR). E-mail: [yohana@ufpr.br](mailto:yohana@ufpr.br); <sup>2</sup> Engenheira Agrônoma; <sup>3</sup> Doutoranda da Pós-Graduação em Agronomia (UFPR); <sup>4</sup> Prof<sup>a</sup>. do Departamento de Botânica (UFPR); <sup>5</sup> Prof<sup>a</sup>. do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo (UFPR); <sup>6</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo (UFPR).

### INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae representa uma das maiores famílias da flora brasileira. Diversas espécies frutíferas pertencem a esta família, mas seu plantio em escala comercial ainda é inexpressivo e depende da domesticação por meio de técnicas agrônômicas (SOUZA e LORENZI, 2005). O jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) é uma espécie exótica originária da Índia, cultivada em vários países, inclusive no Brasil (MAZZANTI et al., 2003).

O jambolão é muito conhecido na medicina popular indiana e paquistanesa por seus efeitos hipoglicemiantes (PRINCE et al., 1998). Vem sendo cultivado no Brasil como planta ornamental e o chá de suas folhas é normalmente utilizado por pacientes diabéticos (SILVA NETO, 1987; TEIXEIRA et al., 1990; SOARES et al., 2000). As folhas são ricas em taninos e saponinas, e tanto a casca como as folhas e as sementes são bastante adstringentes. O suco dos frutos é utilizado como adstringente, diurético, antidiabético e estomáquico.

Em jambeiro vermelho (*Syzygium malaccensis*) a propagação é comumente realizada por sementes, o que acarreta variabilidade nas plantas descendentes, tornando-se um problema quando o objetivo é a formação de um pomar comercial (SANTOS et al., 2002). Pouco é relatado sobre a estaquia de jambolão (*Syzygium cumini*), porém, estudos com jambeiro-rosa (*Syzygium malaccensis*) constataram que este pode ser propagado por meio de estacas com folhas apicais sem a utilização de ácido indolbutírico (AIB) (MARTINS et al., 2001).

A escolha do ramo e a posição da retirada da estaca no ramo são fatores que induzem grande variação no desenvolvimento de mudas, os quais devem ser bem definidos (LIMA et al., 2006).

O substrato utilizado para o enraizamento de estacas é outro fator de grande importância na propagação vegetativa, pois ele é o meio onde as raízes se desenvolvem e deve ser permeável, poroso, bem drenado, livre de patógenos, pragas e propágulos de ervas daninhas e ter baixa densidade (KÄMPF, 2000), bem como disponibilidade e viabilidade econômica. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes tipos de estacas e substratos no enraizamento de jambolão (*Syzygium cumini*).

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação do Setor de Ciências Agrárias – UFPR, Curitiba, PR, entre os meses de maio e setembro de 2006. As estacas foram obtidas a partir de ramos semilenhosos de plantas matrizes de jambolão, com cinco anos de idade.

As estacas caulinares apicais, medianas e basais de cada ramo foram confeccionadas com 12cm de comprimento, cortadas em bisel na base e reto acima da última gema axilar, mantendo-se um par de folhas reduzidas à metade. Após a confecção, as estacas foram submetidas a tratamento fitossanitário com hipoclorito de sódio a 0,5% (v/v) por 15min e enxaguadas em água corrente durante 5min. Para o plantio foram utilizados tubetes de

polipropileno com capacidade de 53cm<sup>3</sup>, contendo vermiculita de granulometria fina ou substrato Plantmax HT® e caixas plásticas contendo areia de granulometria média.

As estacas foram mantidas em casa-de-vegetação com nebulização intermitente (das 8:00 às 17:00h irrigação de 15 segundos a cada 15 minutos; das 17:00 às 23:00 irrigação de 15 segundos a cada 1 hora e das 23:00 às 8:00h irrigação de 15 segundos a cada 3 horas) e após 120 dias do plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas, com calos, vivas (não enraizadas e sem calos) e mortas, comprimento das três maiores raízes (cm) e número de raízes formadas por estaca.

Amostras dos substratos foram mantidas em estufa a 80°C durante 12 horas e submetidas a análises físicas utilizando-se a metodologia de determinação rápida das propriedades físicas de um substrato proposta por FRETZ et al. (1979).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 9 tratamentos, 5 repetições contendo 16 estacas cada, com arranjo fatorial 3 x 3 (3 tipos de estacas para 3 substratos). Para testar a homogeneidade das médias utilizou-se o teste de Bartlett e para a comparação de médias, os dados foram submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância demonstraram que somente para a variável porcentagem de estacas enraizadas houve interação significativa entre os fatores substrato e tipo de estaca, indicando que os mesmos não são independentes (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de enraizamento de jambolão, com diferentes tipos de estacas e substratos.

Substrato	ESTACAS ENRAIZADAS (%)		
	Tipos de estacas		
	Apical	Mediana	Basal
Areia	16,25 Ab	55,00 Aa	22,50 Ab
Plantmax HT®	17,50 Aa	31,25 Ba	17,50 Aa
Vermiculita	12,50 Aa	13,75 Ca	15,00 Aa
CV (%)	49,48		

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, para substratos, e médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal, para posição da estaca no ramo, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os melhores resultados obtidos no substrato areia podem estar relacionados à intolerância do jambolão a substratos ou ambientes encharcados, já que a areia é composta de partículas minerais inertes e baixa capacidade de retenção de água (WENDLING, 2002), apresentando alta densidade, drenagem rápida e eficiente (KÄMPF, 2000). Por outro lado, a vermiculita possui baixa densidade, grande aeração e alta retenção de água, o que pode provocar um adensamento em irrigação por longos períodos, e reduzida drenagem (KÄMPF, 2002), proporcionando assim um ambiente desfavorável a esta espécie. O Plantmax HT® é um substrato composto de casca de pinus, turfa e vermiculita. A maior disponibilidade de oxigênio na base das estacas favorece a atividade celular durante o processo de formação de calos e da emissão de raízes (HARTMANN et al., 2002). Tais características foram comprovadas com o teste de determinação das propriedades realizado.

Em jambeiro vermelho, SANTOS et al. (2002) testaram a influência de várias concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de estacas terminais e subterminais. Os resultados obtidos no enraizamento foram de 16,2% (controle) e 68,8% (1000mg.L<sup>-1</sup> AIB). Entretanto, em concentrações superiores a esta, AIB apresentou efeito inibitório. Logo, o enraizamento obtido nesta pesquisa com estacas retiradas da porção

mediana do ramo (55,00%), sugere que esta porção apresentou uma capacidade rizogênica satisfatória no substrato areia, tendo em vista a ausência de fitorregulador. Porém, uma análise geral dos resultados permite inferir que a porcentagem de enraizamento da espécie foi baixo.

Para as variáveis número de raízes formadas e comprimento médio das raízes não foi detectada diferença estatística entre os substratos e os tipos de estaca (Tabela 2) na comparação de médias, o Plantmax HT<sup>®</sup> (4,66 e 3,16cm) e as estacas medianas (4,47 e 2,62cm) tenham se mostrado superiores aos demais tratamentos para ambas as variáveis.

TABELA 2 – Número e comprimento médio de raízes formadas por estaca de jambolão, com diferentes tipos de estacas e substratos. Curitiba – PR, 2006.

Substrato	NÚMERO DE RAÍZES				COMPRIMENTO DE RAÍZES (cm)			
	Tipos de estacas				Tipos de estacas			
	Apical	Mediana	Basal	Médias	Apical	Mediana	Basal	Médias
Areia	3,90	3,78	2,42	3,37 A	1,81	2,17	2,16	2,05 A
Plantmax HT <sup>®</sup>	2,98	6,65	4,33	4,66 A	2,19	3,87	3,42	3,16 A
Vermiculita	1,00	2,98	1,95	1,98 A	2,13	1,81	1,98	1,97 A
Médias	2,63 a	4,47 a	2,90 a		2,04 a	2,62 a	2,52 a	
CV (%)	74,57				68,29			

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, para substratos, e médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal, para posição da estaca no ramo, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Comparando-se as médias das porcentagens de estacas com calos, verificou-se diferença entre os substratos testados, tendo a areia (23,75%) apresentado maior índice de calos quando comparada ao Plantmax HT<sup>®</sup> (3,72%), enquanto que para o tipo de estaca não houve diferença significativa. A areia mostrou-se superior na capacidade de indução à formação de calos, provavelmente pelos mesmos fatores que a fizeram superior no enraizamento, ou seja, boa drenagem e baixa capacidade de retenção de água.

Comparando-se as porcentagens médias de estacas vivas não enraizadas, não houve diferença estatística entre os substratos testados. A vermiculita apresentou índices de sobrevivência (24,58%) numericamente superiores à areia e ao Plantmax HT<sup>®</sup>.

Devido a pouca quantidade de informações sobre propagação da espécie por estaquia e pela observação do lento de enraizamento, neste experimento foi adotado o período de 120 dias de permanência das estacas no leito de enraizamento, conforme o protocolo utilizado por RIBAS (1993) em experimento com *Macadamia integrifolia*. Todavia, de acordo com SANTOS et al. (2002), para jameiro-rosa (*Syzygium malacensis*), a avaliação do experimento foi realizada 45 dias após a instalação, enquanto que para a mesma espécie MARTINS et al. (2001) realizou avaliação aos 60 dias.

Quanto à porcentagem de estacas mortas, verificou-se diferença estatística entre as médias dos substratos testados e as médias do tipo de estaca, sendo que os maiores índices de mortalidade ocorreram nas estacas apicais (62,50%) e com o substrato Plantmax HT<sup>®</sup> (64,58%). Os altos índices de mortalidade verificados para estacas apicais de jambolão podem ser devidos à maior predisposição do material tenro à perda excessiva de água pela transpiração. Além disso, NICOLOSO et al. (1999) informaram que este tipo de estaca também possui limitada quantidade de reserva de nutrientes orgânicos e inorgânicos em seus tecidos, sendo esta uma das causas do baixo índice de sobrevivência. A alta mortalidade constatada nos três tipos de estacas de jambolão pode estar relacionada à abscisão das folhas deixadas nas estacas durante o seu preparo, verificada após os 120 dias de instalação, pois estas são

essenciais para a síntese de hormônios e nutrientes. A queda das folhas prejudica o enraizamento e pode também comprometer a sobrevivência das estacas pela escassez de hormônios, açúcares e proteínas, sendo os últimos substratos essenciais para as reações metabólicas das estacas (FERREIRA et al., 2001).

## CONCLUSÕES

Levando-se em consideração as condições em que o presente trabalho foi realizado, pode-se concluir que o jambolão pode ser propagado por meio de estacas medianas no substrato areia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F.R.; SOUSA, V. A.. **Estaquia de corticeira-do-banhado (*Erythrina cristagalli* L.)**. Colombo: Embrapa, 2001. (Comunicado Técnico).

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1995, 178p.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOEGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. Pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v. 16, 2001.

FRETZ, T. A.; READ, P. E.; PEELE, M. C. **Plant propagation lab. Manual**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1979. 317 p.

HAMMANN, A. Adventitious root formation of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. **Trees**, v. 12, p. 175-180, 1998.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, R. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

KÄMPF, A. N. Substrato. IN: KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 45-73.

MARTINS, A., B., G.; GRACIANO; F. A.; SILVA; A. V. C. da. Clonagem de Jambolão-rosa (*Syzygium malacensis*) por estaquia de ramos enfolhados. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.23, n.2, p. 365-368, 2001.

MAZZANTI, C. M.; SCHOSSLER, D. R.; FILAPPI, A.; PRESTES, D.; BALZS, D.; MIRON, V.; MORSCH, A.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V. M.; CECIM, M. Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, p. 1061-1065, 2003.

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P.; FOGAÇA, M. A. F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n.2, p. 277-283, 1999.

PRINCE, P. S. M.; MENON, V.P.; PARI, L. Effect of *Syzygium cumini* extracts on hepatic hexokinase and glucose-6-phosphatase in experimental diabetes. **Phytotherapy Research**, London, v.11, n.7, p.529-531, 1998.



SANTOS, C. E.; MARTINS, A. B. G.; ABREU R. L. P. Clonagem do Jambiro Vermelho (*Syzygium malaccensis* (L.) Merr. & Perry) por estaquia herbácea. **Anais...** XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura: os novos desafios da fruticultura brasileira. BELÉM; BRASIL 2002. CD ROM.

SILVA NETO, C.R.; LOPES R. A.; CONTRERA, M. G. D.; POZETTI, G. L. Efeitos antagônicos de plantas medicinais na diurese de ratos. **Pesquisa Homeopática**, São Paulo, v.4, n.1, p.17-21, 1987.

SOARES, J.C.M.; COSTA. S.T.; CECIM, M. Níveis glicêmicos de colesterol em ratos com *Diabetes Mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.113-118, 2000.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: um guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

TEIXEIRA, C.C.; FUCHS, F. D.; WEINERT L. S.; ESTEVES J. Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in non-diabetes subjects. **Diabetes Care**, Alexandria, v.13, n.8, p.907-908, 1990.

WENDLING, I.; GATTO, A.; PAIVA, H. N.; GONÇALVES, W. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. 1. ed. Coleção Jardinagem e Paisagismo. Série Produção de Mudanças Ornamentais. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 2002. 165p.

#### PALAVRAS-CHAVES

estaquia; substratos; planta medicinal.

## **Desenvolvimento *in vitro* de orquídea nativa do Mato Grosso em diferentes concentrações de citocinina.**

Hirooka, Silvana<sup>1</sup>; Dombroski, Jeferson Luiz Dalabona<sup>2</sup>; Azevedo, Patrícia Helena de<sup>3</sup>; Filho, Joamir<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical (UFMT/FAMEV), Avenida Fernando Corrêa, s/nº Coxipó, Cuiabá-MT CEP 78060-900, fone (65) 36158618 email: [silvana.hirooka@gmail.com](mailto:silvana.hirooka@gmail.com); <sup>2</sup>Professor pesquisador do Curso de Agronomia Rua Chico Linhares, 11, Alto de São Manoel. Mossoró email: [jeferson@ufersa.edu.br](mailto:jeferson@ufersa.edu.br), CEP 59631-150 Fones (084)3312-1206; 9133-5638. <sup>3</sup>Professora Adjunto I do Curso de agronomia, Universidade Federal de Mato Grosso, Avenida Fernando Corrêa s/n, Cuiabá, CEP 78.000.000 Fone (65) 3615-8649 email: [pathazevedo@yahoo.com.br](mailto:pathazevedo@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Aluno de Graduação do curso de engenharia florestal, (UFMT) email: [joamirfilho@bol.com.br](mailto:joamirfilho@bol.com.br).

*Oncidium ceboletta* ( S.W.) é uma orquídea nativa no Mato Grosso e apresenta potencial como espécie ornamental. Sua propagação por métodos tradicionais é dificultada pelo fato de serem de crescimento lento e suas sementes dependerem de condições especiais para a sua germinação. A adição de fitohormônios no meio de cultura para a análise do desenvolvimento das orquídeas tem apresentado resultados contrastantes. Experimentos realizados ao longo de anos têm evidenciado que, dentro da família Orchidaceae, as condições de cultivo são específicas para os gêneros e algumas vezes para espécies pertencentes ao mesmo gênero. (Martini, 2006) (Miyoshi,1995). O tipo, a concentração e a combinação de reguladores de crescimento desempenham um importante papel na propagação *in vitro* de muitas espécies de orquídeas (Sheelavanthmath *et al.*,2005) É de grande importância o desenvolvimento de métodos eficientes de propagação de orquídeas, aonde se possa obter grande número de plantas com qualidade em um período de tempo mais curto. Sendo assim o objetivo deste trabalho foi o de testar diferentes concentrações de citocinina no desenvolvimento de *Oncidium cebolato*. Foram utilizadas plântulas provenientes de sementes de *O.ceboletta*, que já se encontravam estabelecidas *in vitro*, com aproximadamente 1,0 ±2 cm de altura. O meio de cultura utilizado foi o de Murashige e Skoog,1962 acrescido de benzilamina (BAP)5 µM e 15 µM e cinetina 5 µM e 15 µM e citocinina 0 µM formando um delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos e seis repetições. As características avaliadas foram: altura, brotos e calos e a taxa de sobrevivência das espécies. Foi realizada análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. No tratamento cinetina 5 µM se obteve a maior taxa de sobrevivência 100% e a melhor altura porém este dado não difere estatisticamente do BAP 5 µM e citocinina 0 µM. A melhor brotação se obteve com cinetina 15 µM, porém este valor não difere estatisticamente da cinetina 5 µM brotação. Na formação de calos não teve diferença significativa entre os tratamentos estudados.

Palavras chaves: *Oncidium ceboletta*, benzilamina, cinetina, citocinina.

## **Crescimento *in vitro* de *Oncidium ceboletta* em diferentes concentrações de sacarose e solidificantes.**

Hirooka, Silvana<sup>1</sup>; Ortíz, Carmen Eugenia Rodríguez<sup>2</sup>; Dombroski, Jeferson Luiz Dalabona<sup>3</sup>, Chig, Léo Adriano<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical (UFMT/FAMEV), Avenida Fernando Corrêa, s/nº Coxipó, Cuiabá-MT CEP 78060-900, fone (65) 36158618, email: [silvana.hirooka@gmail.com](mailto:silvana.hirooka@gmail.com); <sup>2</sup>Professor Adjunto (UFMT/IB), Avenida Fernando Corrêa, s/nº Coxipó, Cuiabá-MT CEP 78060-900, fone (65) 36158870 email: [cerortiz@yahoo.com.br](mailto:cerortiz@yahoo.com.br) <sup>3</sup>Professor pesquisador do Curso de Agronomia Rua Chico Linhares, 11, Alto de São Manoel. Mossoró, CEP 59631-150, Fones (84)3312-1206; 9133-5638 email: [jeferson@ufersa.edu.br](mailto:jeferson@ufersa.edu.br); <sup>4</sup>Estudante de Doutorado do programa de Agricultura Tropical. [leochig@gmail.com](mailto:leochig@gmail.com)

### INTRODUÇÃO

*Oncidium ceboletta* (S.W.) é uma orquídea nativa no Mato Grosso e apresenta grande potencial como espécie ornamental. Sua propagação por métodos tradicionais é dificultada pelo fato de possuir crescimento lento e suas sementes dependerem de condições especiais para a sua germinação. A perda das matrizes por degradação ambiental, assim como extrativismo predatório e a importação de plantas exóticas em detrimento daquelas que estão ecologicamente adaptadas, são problemas que impedem a propagação natural eficiente desta espécie.

Métodos de propagação de orquídeas vêm sendo desenvolvidos, desta forma hoje se pode obter grande número de plantas com qualidade, que possam atender ao mercado de jardinagem e floricultura e também serem utilizadas no repovoamento de seus habitats. (Martini 2001)

Fita gel é uma alternativa para o ágar como agente gelificante para meios de cultura. Carboidratos representam a principal fonte de energia para os seres vivos. As plantas através da fotossíntese sintetizam os carboidratos necessários para a sua nutrição, em meios de cultivo *in vitro* as plantas se comportam de forma heterotrófica e necessitam de fontes de carbono que em muitos meios de cultura é suprida pela sacarose. Visto a importância da sacarose no desenvolvimento das plantas de cultivada *in vitro* o objetivo deste trabalho foi determinar uma concentração de sacarose que acelere o processo de desenvolvimento de *Oncidium ceboletta in vitro* e o efeito do fitagel.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas provenientes de sementes de *O. ceboletta*, estabelecidas *in vitro*, com aproximadamente 1,0 ± 2 cm de altura foram inoculados com cinco plântulas em frasco Wheaton de 180ml em fluxo laminar (Figura 1).

O meio de cultura utilizado foi o de MS (Murashige e Skoog,1962) e as plântulas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 26±2°C, fotoperíodo de 16 horas e 2000 lux. Cada repetição constou de um frasco com 30 ml de meio em cada um, a esterilização foi feita por autoclavagem do material durante vinte minutos a 121° C e 1,5 atm. Foi testada a influência da sacarose (0; 10; 20; 30; e 40 g L<sup>-1</sup>) em solidificante Ágar (7,0 g L<sup>-1</sup>) e sacarose 30 g L<sup>-1</sup> solidificado com Fitagel ( 2,5 g L<sup>-1</sup>) . Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 7 repetições fazendo um total de 42 unidades amostrais. As variáveis altura, formação de brotos, raiz, protocormos e calo foram avaliadas no período de fevereiro de 2006 a janeiro 2007 depois analisadas pelo teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Este experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso - FAMEV/UFMT.



Figura 1: Frasco inoculado com cinco plântulas no início do experimento



Figura 2. *Oncidium ceboletta* ( S.W.) florida e sua cápsula.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise estatística foi utilizado o programa Statistical package for the social sciences – spss10.

Aos 5 meses do subcultivo no tratamento 30 g/l de sacarose e fitagel observou-se maior crescimento em altura em comprimento e número da raiz e no tratamento 40 g/l e ágar obteve-se maior taxa de multiplicação de mudas e formação de protocormos. Porém esses tratamentos não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% sendo recomendados para melhor crescimento e brotação de *Oncidium ceboletta in vitro*.

Aos 10 meses do subcultivo as plantas que receberam o tratamento sacarose 40 g/l solidificado em fita gel tiveram o melhor ganho em altura e brotação, porém no tratamento sacarose 0 g/l não se desenvolveu após o quinto mês levando as plantas a morte.

Tabela 1 - Altura, formação de brotos, raízes, protocormos e calos proveniente de diferentes concentração de sacarose e solidificantes, aos 5 meses de cultura.

Tratamentos: concentração de sacarose (g /l) e solidificante		Varição de altura com 5 meses	Número de brotos		Varição do número de raízes com 5 meses		Varição do crescimento da raiz com 5 meses		Número de protocormos		Diâmetro do calo		
g/l	g/l	cm					cm				cm		
0	Ágar 7	1.1943	b	0.571	b	0.286	bc	0.198	b	0.34	a	0.09	a
10	Ágar 7	1.4714	b	2.371	ab	-0.629	c	0.46	b	1.23	a	0.46	a
20	Ágar 7	1.9	b	2.343	ab	0.971	bc	0.714	b	2.17	a	0.59	a
30	Ágar 7	2.5	ab	1.686	ab	1.514	abc	0.917	ab	0.74	a	0.27	a
40	Ágar 7	2.7143	ab	2.743	a	2.343	ab	0.98	ab	0.46	a	0.43	a
30	Fitagel 2,5	4.3286	a	1.686	ab	3.657	a	1.703	a	0.03	a	0.23	a

Médias seguidas da mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

Tabela 2- Altura, formação de brotos, raízes, calos e peso fresco proveniente de diferentes concentrações de sacarose e solidificantes, aos 10 meses de cultura.

Tratamentos: concentração de sacarose (g /l) e solidificante		Varição de altura com 10 meses	Número de brotos		Diâmetro do calo		Peso fresco		
g/l	g/l	cm					cm		
0	Ágar 7	1.1943	d	0.9143	c	0.02	b	0.9357	b
10	Ágar 7	2.6571	cd	3.5471	c	4.17	ab	7.7214	a
20	Ágar 7	4.8286	bc	7.0586	b	5.37	a	12.4257	a
30	Ágar 7	6.3857	ab	7.8971	ab	2.8	ab	10.6957	a
40	Ágar 7	5.2429	bc	6.79	b	2.44	ab	7.9129	a
30	Fitagel 2,5	9.3714	a	10.4029	a	2.39	ab	12.7971	a

Médias seguidas da mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

## CONCLUSÃO

Sob as condições do presente experimento não houve diferença entre os tratamentos de sacarose 30 g L<sup>-1</sup> e 40 g L<sup>-1</sup> solidificado com agar e de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose solidificado com fitagel aos 5 meses de cultivo, no entanto. Após 10 meses este último tratamento se mostrou mais efetivo que todos os demais, tanto no que se refere à altura quanto ao número de brotos permitindo recomendar seu uso durante períodos superiores a 5 meses para plântulas de *Oncidium ceboletta*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALVETE, E. O.; KAMPF, A N; SUZIN, M. Sucrose concentration on in vitro rooting of strawberry plants. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 20

FARIA, R.T.; RODRIGUES, F.N.; OLIVEIRA, L.V.R.; MÜLLER, C. *In vitro* *Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.4, , out-dez 2004. p.780-783

FLORES R., LESSA O. A.; PETERS A. J.; e FORTES L. R. G. Efeito da sacarose e do benomyl na multiplicação in vitro da macieira<sup>1</sup> **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.34, n.12, p.2363-2368, dez. 1999

MARTINI, CAVALCANTE PRISCILLA; WILLADINO, LILIA; ALVES, DIAS GILBERTO E DONATO, SABINO VIRGÍNIA MARIA TENÓRIO. Propagação de orquídea *Gongora quinquenervis* por semeadura *in vitro* . **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Notas científicas Brasília, vol.36 no.10 Oct. 2001

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

REGO-OLIVEIRA, L DO VALLE; FARIA ,TADEU RICARDO.; FONSECA, BATISTA, SACONATO C. I. ;, Influência da fonte e concentração de carboidrato no crescimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae) **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, jul./dez. 2003 p. 265-272,

PALAVRAS-CHAVES: *Oncidium ceboletta*, sacarose, cultivo *in vitro*, fitagel

## **Aclimatização da orquídea *Oncidium ceboletta* proveniente de mudas propagadas *in vitro*.**

Hirooka, Silvana<sup>1</sup>; Ferronato, Alessandro<sup>2</sup>; Ferronato, Susan Dignart<sup>3</sup>; Dombroski, Jeferson Luiz Dalabona<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical (UFMT/FAMEV), Avenida Fernando Corrêa, s/nº Coxipó, Cuiabá-MT CEP 78060-900, fone (65) 36158618 email: [silvana.hirooka@gmail.com](mailto:silvana.hirooka@gmail.com); <sup>2</sup> Professor Coordenador do Curso de Agronomia do Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG, Av. Dom Orlando Chaves, 2655, Cristo Rei, Várzea Grande-MT, fone (65) 3688-6107, e-mail: [aleferro@gmail.com](mailto:aleferro@gmail.com); <sup>3</sup> Gestora Governamental, Mestre em Agricultura Tropical, Rua Generoso Ciriaco Maciel, Qd. 05, n.13, Jd. Petrópolis, CEP 78070-050, Cuiabá-MT, fone (65) 3023-5451, e-mail: [sdignart@gmail.com](mailto:sdignart@gmail.com); <sup>4</sup> Professor pesquisador do Curso de Agronomia Rua Chico Linhares, 11, Alto de São Manoel. Mossoró email: [jeferson@ufersa.edu.br](mailto:jeferson@ufersa.edu.br), CEP 59631-150 Fones (084)3312-1206; 9133-5638.

### **INTRODUÇÃO**

*Oncidium ceboletta* (S.W.) é uma orquídea nativa no Mato Grosso e apresenta potencial como espécie ornamental. Ter segurança que as plantas propagadas *in vitro* venham a ser aclimatizadas com sucesso e uma etapa muito importante para o orquidicultor. Altas taxas de perdas e dificuldade em adquirir substratos assim como o local apropriado para aclimatização são fatores que desestimulam o cultivo de orquídeas. É importante o desenvolvimento de modelos de aclimatização de orquídeas que possam atender a diferentes realidades do pequeno produtor.

Em estufas, em que a umidade e a temperatura são controladas, o substrato não influencia tanto o desenvolvimento das plantas, porém, em ripados ou telados, nos quais não se tem o controle sobre esses fatores, a prosperidade da planta depende muito do tipo de substrato utilizado (Colombo 2005). Neste caso, a variação da estação seca e chuvosa deve ser considerada na aclimatização de mudas de orquídeas cultivadas *in vitro*.

O objetivo do presente trabalho foi testar substratos alternativos ao xaxim e o tamanho do copo usado como recipiente para as mudas na aclimatização de plântulas de *Oncidium ceboletta* obtidas por sementeira *in vitro*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Cuiabá e em viveiro ripado coberto com sombrite 50%. Foram utilizadas plantas devidamente enraizadas *in vitro* com 10 meses de subcultivo provenientes de experimentos com citocinina, sacarose e auxina. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2 com 18 repetições cada. Os tratamentos decorreram da combinação dos fatores: 1) tamanho do copo (180 ml e 50 ml) e 2) substrato esfagno, (usado para o cultivo de plântulas de orquídeas) e esfagno+casca de arroz queimada (1:1). A análise de variância foi realizada por meio do programa SAEG e o teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os copos de ambos os tratamentos foram perfurados ao fundo e ao lado e preenchido até a metade com cascalho grosso, para ficarem da mesma altura nos blocos o copo de 50 ml foi colocado dentro de outro de 180 ml preenchido com brita até a altura desejada (Figura 1).

Para caracterização do ambiente foram tomadas diariamente as temperaturas e umidades relativa, máxima e mínima (Figura 2).

As avaliações da sobrevivência foram realizadas aos 2 e 5 meses após o início da aclimatização. Ao final do experimento foram avaliados o número de brotação e a altura dos dois maiores brotos de plantas de *Oncidium ceboletta* durante o processo de aclimatização.





Figura 1 – Tamanho e nivelamento do copo utilizado como vaso.

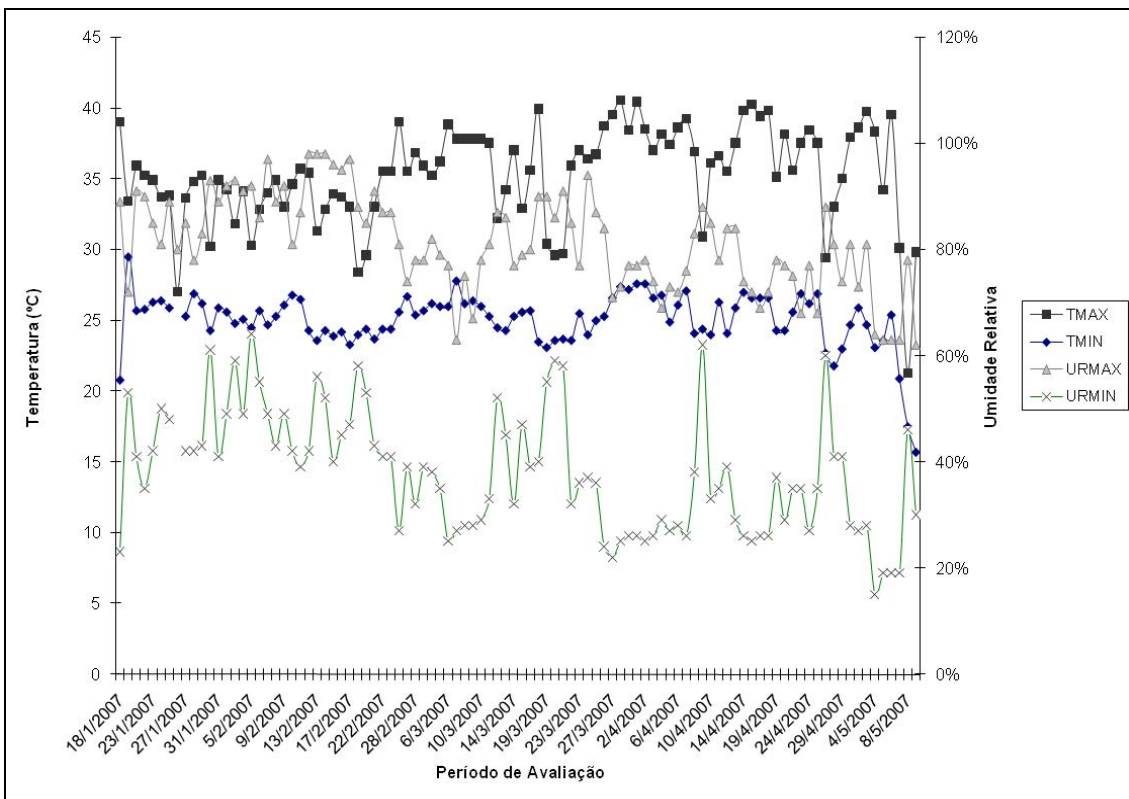


Figura 2 – Variação da temperatura e umidade relativa do viveiro durante o experimento.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que não houve interação entre os fatores copos e substratos utilizados.

O copo de 180 ml foi melhor para o ganho de altura dos brotos e melhor brotação, porém o copo de 50 ml também teve um bom desenvolvimento podendo ser utilizado como contenção de despesas com o substrato (Tabela 1).

O melhor substrato foi o esfagno+casca de arroz queimada, este tipo de substrato é vantajoso também por gerar mais economia, visto que a casca de arroz queimada é resíduo em muitos fornos de cerâmica (Tabela 2).

TABELA 1. Influência dos tratamentos tamanho do copo no desenvolvimento das plantas de *O. ceboletta* aclimatizadas.

<b>Copo</b>	<b>Altura do broto maior</b>	<b>Altura do segundo broto</b>	<b>Numero de brotos</b>
Copo de 50ml	5,8 B	3,6 B	2,4 B
Copo de 180 ml	6,1 A	4,5 A	2,7 A

Médias seguidas de letras diferentes, dentro de cada coluna, diferem a 5% pelo teste de Tukey.

TABELA 2. Influência dos tratamentos tipo de substrato no desenvolvimento das plantas de *O. ceboletta* aclimatizadas.

<b>Substrato</b>	<b>ALTB1</b>	<b>ALTB2</b>	<b>BROTO</b>
Esfagno	5,5 B	3,3 B	2,7 A
Esfagno+Casca de arroz	6,5 A	4,8 A	2,4 B

Médias seguidas de letras diferentes, dentro de cada coluna, diferem a 5% pelo teste de Tukey.

Foi observado o percentual de sobrevivência após 4 meses de transplante. Houve menor taxa de sobrevivência das plantas 77,78% no copo grande com o substrato esfagno e 94,44% no copo grande com esfagno, no tamanho do copo pequeno com esfagno e esfagno + casca de arroz queimada a taxa de sobrevivência foi de 88,89%.

## CONCLUSÃO

O substrato esfagno + casca de arroz queimada e o copo de 180 ml foi o melhor para o crescimento e sobrevivências das orquídeas.

## PALAVRAS-CHAVE

*Oncidium ceboletta*, substrato, orquídea

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ROGALSKI, M.; Moraes A. K. L.; FELISBINO C.; CRESTANI, L.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. Aclimatização de porta-enxertos de *prunus sp.* micropropagados **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 2, p. 279-281, Agosto 2003

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, JORGE N. N.; FRÁGUAS, B. C. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'marubakaido' **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.25, n.2, p.462-467, mar./abr., 2001

COLOMBO, A. L.; FARIA, T. R.; ASSIS M. A.; FONSECA, BATISTA C. I. Aclimatização de um híbrido de *Cattleya* em substratos de origem vegetal sob dois sistemas de irrigação **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 27, no. 1, p. 145-150, Jan./March, 2005

MORAES, M. L.; CAVALCANTE, D. C. L.; FARIA, T. R. Substratos para aclimatização de plântulas de *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae) propagadas *in vitro* **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1397-1400, 2002

## Efeito de concentrações de hormônio e do tipo de estaca na propagação vegetativa de espiroleira (*Nerium oleander* L.).

Castro, Fábio Vieira de<sup>1</sup>; Silva, Joana Maria Monteiro Lopes da<sup>1</sup>; Evangelista, Talissa de Melo<sup>2</sup>; Teles, Hérica de Freitas<sup>3</sup>; Pires, Larissa Leandro<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, emails: [fabiovieiracastro@bol.com.br](mailto:fabiovieiracastro@bol.com.br), [zaparol@uol.com.br](mailto:zaparol@uol.com.br); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, Aduos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Av. Armando de Godoy, 370, Cidade Jardim, CEP 74.423-010, Goiânia, GO, Tel: (62) 3272-3200, email: [talissamello@yahoo.com.br](mailto:talissamello@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Discente da Pós-graduação em Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1542, email: [heriafreitas@hotmail.com](mailto:heriafreitas@hotmail.com); <sup>4</sup>Docente da Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521.1549, email: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br).

### INTRODUÇÃO

A espiroleira (*Nerium oleander* L.) é um arbusto da família Apocinaceae, com 3,0 m a 5,0 m de altura, pouco exigente em temperatura e umidade. Em função de sua beleza, tolerância a diversos ambientes e rusticidade, vem sendo amplamente utilizada como planta ornamental, na arborização de ruas, parques e jardins, sendo um dos arbustos mais cultivados para o embelezamento público, além de grande aceitação na composição de projetos.

A produção de mudas nessa espécie pode ser feita por sementes ou por estacas. A propagação vegetativa via estaquia, ainda que apresente problemas no enraizamento, parece ser a mais vantajosa, tanto do ponto de vista de preservação do material genético na descendência, quanto na redução do período de tempo necessário para a produção de mudas e dos custos de produção. Visando maior eficiência dentro do viveiro, uma alternativa para contornar esse problema é a utilização de fitorreguladores que propiciem e estimulem o enraizamento de estacas, podendo, assim, viabilizar a produção de mudas (Fachinello et al., 1995). O fitorregulador é indicado com o objetivo de acelerar a formação de raízes, aumentar o percentual de estacas enraizadas, promover a melhoria da qualidade das raízes e aumentar a uniformidade das mudas no viveiro (Albuquerque & Albuquerque, 1982).

Contudo, conforme Albuquerque & Albuquerque (1982), o potencial de enraizamento, bem como a qualidade e a quantidade de raízes nas estacas podem variar com a espécie, cultivar, condições intrínsecas, relacionados à própria planta, e extrínsecas, relacionados às condições ambientais. Além disto, muitas pesquisas demonstram a necessidade de avaliar estacas de diferentes consistências, idades, posicionamentos na planta, etc., já que são fatores que podem influenciar na potencialidade de enraizamento da espécie. Este trabalho objetivou avaliar a influência de diferentes concentrações de uma solução mineral mista a base de hormônio e de diferentes tipos de estaca, na capacidade de enraizamento e emissão de brotações de espiroleira.

### MATERIAL E METÓDOS

O presente trabalho foi conduzido em ambiente protegido, com a planta espiroleira (*Nerium oleander* L.), uma espécie ornamental de flores de coloração branca, na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás. Foram avaliadas estacas coletadas na porção basal (estacas lenhosas) e na porção apical (estacas herbáceas) da planta, e quatro doses (0,0 mL.L<sup>-1</sup>; 0,5 mL.L<sup>-1</sup>; 1,0 mL.L<sup>-1</sup> e 2,0 mL.L<sup>-1</sup>) do produto químico Biofert Raiz – solução mineral mista® (SMM). Essa SMM apresenta, em sua composição, o ácido indolbutírico (AIB) e a tiamina, além de alguns elementos químicos (boro, ferro e enxofre). Esse produto é recomendado para o tratamento de estacas, visando estimular o crescimento de raízes, por atuar diretamente nos sistemas

fisiológico e bioquímico da planta, envolvidos especialmente no crescimento e na diferenciação de raízes e de gemas.

Os tratamentos avaliados foram: T1 - estacas apicais não tratadas com SMM; T2 - estacas apicais tratadas com 0,5 mL.L<sup>-1</sup> de SMM; T3 - estacas apicais tratadas com 1,0 mL.L<sup>-1</sup> de SMM; T4 - estacas apicais tratadas com 2,0 mL.L<sup>-1</sup> de SMM; T5 - estacas basais não tratadas com SMM; T6 - estacas basais tratadas com 0,5 mL.L<sup>-1</sup> de SMM; T7 - estacas basais tratadas com 1,0 mL.L<sup>-1</sup> de SMM e; T8 - estacas basais tratadas com 2,0 mL.L<sup>-1</sup> de SMM.

As estacas foram retiradas de planta adulta, com aproximadamente 20 cm de comprimento. Em seguida, foram desfolhadas e tratadas com o produto SMM, nos respectivos tratamentos, em solução diluída com água destilada, por um período de cinco minutos. Após o tratamento, as estacas foram colocadas para enraizar em areia lavada e mantidas em ambiente protegido, com tela de sombreamento de 60% e sistema de irrigação automatizado, por um período de 100 dias, de trinta de março a sete de julho de 2005.

As avaliações foram realizadas após 100 dias do início do experimento, e os parâmetros avaliados foram: percentagem de estacas enraizadas; comprimento da maior raiz; massa seca da parte aérea e do sistema radicular e índice de velocidade de emissão de brotação. Considerou-se estaca enraizada aquela que apresentava pelo menos uma raiz.

A determinação da massa seca foi obtida por meio de secagem do material em estufa (65°C ± 3°C) até obtenção de massa constante.

A avaliação da capacidade de brotação das estacas foi realizada por meio da contagem diária do número de estacas com emissão de brotações foliares, para a determinação do índice de velocidade de emissão de brotações.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, sendo quatro blocos com oito tratamentos e oito repetições por bloco. Na análise estatística foram realizadas as análises de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey (5%), usando o pacote estatístico SAS.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos encontram-se apresentados na Tabela 1.

A percentagem de enraizamento de estacas de espirradeira variou, em média, de 40,63% a 68,75%, após 100 dias. Em termos gerais, as percentagens médias de enraizamento foram praticamente semelhantes entre estacas apicais (53,91%) e basais (52,35%), independentemente do tratamento ou não com a SMM.

Não foram observadas diferenças significativas no tipo de estaca e dose da SMM na massa seca das raízes e no comprimento da maior raiz, em estacas de espirradeira. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos Filho et al. (2004), quanto ao tipo de estaca e doses de AIB no processo de enraizamento de cajazeiro. Segundo Martins et al. (2004), a aplicação do AIB influenciou negativamente no enraizamento de estacas lenhosas de marmeleiro, verificando-se maior percentagem de estacas enraizadas na testemunha.

Em relação às demais características avaliadas, as estacas basais apresentaram melhores resultados do que as apicais, demonstrando maior vigor em termos de desenvolvimento e capacidade de enraizamento e de brotação.

Observou-se, ainda, que dentre as estacas sem tratamento com SMM, apesar de não ter havido diferença significativa, as raízes tiveram maior comprimento nas basais, sugerindo, possivelmente maior nível de carboidratos, favorecendo indução mais rápida, permitindo a antecipação na formação de raízes e, conseqüentemente, maior período de tempo para o crescimento em substrato, conforme sugerido por Tonietto et al. (2001).

Contudo, dentre os tratamentos com aplicação de SMM, nota-se que as raízes tiveram maior comprimento nas estacas apicais, provavelmente pela maior facilidade de emergência de raízes em estacas mais herbáceas, permitindo seu crescimento por um tempo maior. Apesar das estacas apicais terem mostrado raízes maiores, essas não apresentaram maior massa seca, comparadas às basais, possivelmente pela sua menor

quantidade de carboidratos acumulada nesse tipo de estaca, afetando o desenvolvimento do futuro sistema radicular da muda que está sendo formada.

As estacas não tratadas com SMM obtiveram maiores índices de velocidade de emissão brotação, comparadas àquelas tratadas, indicando que essas estacas emitiram folhas mais rapidamente do que as demais. Este comportamento pode ser devido à inibição das brotações na presença de fitorreguladores estimuladores do enraizamento nas estacas tratadas, além da presença de folhas mais cedo nas testemunhas, que são pontos de produção de hormônios e carboidratos, produtos diretamente envolvidos no processo de enraizamento.

Tabela 1. Efeito da aplicação de fitorregulador e do tipo de estaca da planta ornamental espiroleira (*Nerium oleander* L.).

Tratamento <sup>1</sup>	Enraizamento (%)	Massa seca de raízes (g)	Comprimento da maior raiz (cm)	Índice de velocidade de emissão de brotação
Estaca apical – 0,0 mL.L <sup>-1</sup> SMM	62,50	0,085 a	9,636 a	4,913 ab
Estaca apical – 0,5 mL.L <sup>-1</sup> SMM	43,75	0,129 a	13,863 a	4,735 ab
Estaca apical – 1,0 mL.L <sup>-1</sup> SMM	40,63	0,075 a	10,713 a	4,408 a
Estaca apical – 2,0 mL.L <sup>-1</sup> SMM	68,75	0,096 a	9,395 a	4,718 a
Estaca basal – 0,0 mL.L <sup>-1</sup> SMM	53,13	0,195 a	12,108 a	5,450 a
Estaca basal – 0,5 mL.L <sup>-1</sup> SMM	53,13	0,168 a	9,707 a	5,418 a
Estaca basal – 1,0 mL.L <sup>-1</sup> SMM	50,00	0,179 a	12,766 a	4,840 ab
Estaca basal – 2,0 mL.L <sup>-1</sup> SMM	53,13	0,188 a	10,069 a	5,293 a
Média – Estaca apical	53,91	0,096	10,902	4,694
Média – Estaca basal	53,35	0,183	11,163	5,250
CV (%)	---	50,48	22,8082	7,2451
Teste F	---	1,95*	1,77*	4,36 <sup>NS</sup>

Em relação à massa seca das brotações, os melhores resultados foram obtidos quando da aplicação de SMM, na concentração mais elevada (2,0 mL.L<sup>-1</sup>), em estacas apicais; enquanto que para as basais, a SMM não surgiu efeito. As estacas basais apresentaram maior massa seca das raízes, em comparação às apicais.

## CONCLUSÕES

Estacas basais são recomendadas para o uso na produção de mudas de espiroleira via estaquia.

A solução mineral mista a base de AIB não interfere na propagação de estacas basais dessa espécie.

As estacas apicais respondem melhor ao tratamento com solução mineral mista do que as basais, nas concentrações estudadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, Teresinha Costa Silveira de; ALBUQUERQUE, João Antônio Silva. Influência do tipo de estaca e de alguns reguladores de crescimento no enraizamento e desenvolvimento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6, 1981, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1982, v. 4, p. 762 - 770.

FACHINELLO, José Carlos; HOFFMANN, Anette; NACHTICAL, Jair Costa; KERSTEN, Elio; FORTES, Gerson Renan de Luces. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Editora e Gráfica UFPel, 1995, 179p.

MARTINS, A. S.; BIANCHI, Valmor João; ROCHA, M da S.; FACHINELLO, José Carlos. Propagação de marmeleiro por estaquia com o uso de ácido indolbutírico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 18, 2004, Recife. **Anais...** Florianópolis, SC: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2004. CD-ROM.

SANTOS FILHO, L. P. dos; LEITE, J. V. B.; LINS, Rodrigo Dias; DANTAS, A. C. V. L.; VIEIRA, E. S. Enraizamento de diferentes tipos de estaca de cajazeira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18, 2004, Recife. **Anais...** Florianópolis, SC: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2004. CD-ROM.

TONIETTO, Adilson; FORTES, Gerson Renan de Luces; SILVA, João Baptista da. Enraizamento de miniestacas de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 23, n. 2, p. 373-376, 2001.

## PALAVRAS-CHAVES

*Nerium oleander*, planta ornamental; enraizamento; estaquia; fitorregulador.

## Superação da dormência em sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien).

Castro, Fábio Vieira de<sup>1</sup>, Silva; Joana Maria Monteiro Lopes da<sup>1</sup>; Evangelista, Talissa de Melo<sup>2</sup>; Bittencourt, Luciana Domingues<sup>3</sup>; Teles, Héria de Freitas<sup>3</sup>; Pires, Larissa Leandro<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Discente de Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, emails: [fabiovieiracastro@bol.com.br](mailto:fabiovieiracastro@bol.com.br), [zaparol@uol.com.br](mailto:zaparol@uol.com.br); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, Adubos Araguaia Indústria e Comércio Ltda., Av. Armando de Godoy, 370, Cidade Jardim, CEP 74.423-010, Goiânia, GO, Tel: (62) 3272-3200, email: [talissamello@yahoo.com.br](mailto:talissamello@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Discente da Pós-graduação em Agronomia, Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1542, emails: [lucianadbf@terra.com.br](mailto:lucianadbf@terra.com.br); [heriafreitas@hotmail.com](mailto:heriafreitas@hotmail.com); <sup>4</sup>Docente da Escola de Agronomia e Eng. de Alimentos (EA/UFG), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970. Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1549, email: [larissa@agro.ufg.br](mailto:larissa@agro.ufg.br).

### INTRODUÇÃO

Originária da região Nordeste da Índia e Laos, a *Phoenix roebelenii* é uma palmeira amplamente utilizada no paisagismo de parques e jardins, em especial por sua beleza e rusticidade. Esta espécie atinge cerca de 2,0 m a 4,0 m de altura, sendo recomendada tanto para condição de sol pleno, quanto de meia-sombra.

A tamareira-anã é cultivada, principalmente, nas regiões tropicais, sub-tropicais e de temperadas amenas. A planta é dióica, com capacidade de produção de sementes apomíticas e com frutificação abundante durante os meses de verão (Lorenzi et al., 2004). Assim como na maioria das espécies de palmeiras, a *P. roebelenii* propaga-se por sementes, mais precisamente pelo diásporo formado pela semente e pelo endocarpo (Emerson et al., 2003). Neste trabalho, os diásporos serão tratados como sementes.

Contudo, as condições ótimas para a germinação das sementes desta espécie ainda não estão bem conhecidas. Sabe-se que as temperaturas entre 24°C e 28°C, com umidade relativa do ar de, aproximadamente, 70%, são favoráveis à germinação (Lorenzi et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar tratamentos de superação de dormência em sementes de *P. roebelenii*, provenientes de frutos em diferentes estádios de maturação.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Análises de Sementes da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. Foram utilizados frutos de *Phoenix roebelenii*, coletados em plantas locadas nas dependências da Universidade, em dois estádios de maturação, verde e maduro.

Inicialmente, determinou-se o teor de água das sementes pelo método de estufa a 105°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ), até a estabilização total da massa, em quatro repetições de 10 sementes cada, para cada estádio de maturação (Tabela 1). Obteve-se teor médio de 60,71% e 49,15% para as sementes verdes e maduras, respectivamente.

Os tratamentos avaliados foram: T1 = semente verde com endocarpo, sem embebição; T2 = semente madura com endocarpo, sem embebição; T3 = semente verde sem endocarpo, sem embebição; T4 = semente verde sem endocarpo, com embebição de um dia; T5 = semente verde sem endocarpo, com embebição de dois dias; T6 = semente madura sem endocarpo, sem embebição; T7 = semente madura sem endocarpo, com embebição de um dia; T8 = semente madura sem endocarpo, com embebição de dois dias.

Tabela 1. Teor de umidade de sementes da palmeira ornamental *Phoenix roebelenii*, em diferentes estádios de maturação.

Estádio de maturação	Teor de umidade (%)
Sementes verdes	60,71
Sementes maduras	49,15
Teor médio	54,93

As avaliações foram realizadas por meio do índice de velocidade de germinação (IVG) e do percentual de germinação final, após 150 dias da sementeira, quando não mais se observou germinação.

O teste de germinação foi realizado em germinador, com temperatura de 33°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ), em caixas do tipo gerbox. O substrato usado foi vermiculita expandida de granulometria fina, umedecida sempre que necessário, conforme Brasil (1992). Considerou-se como semente germinada quando da emissão da radícula. O valor de IVG foi obtido pelo somatório dos IVGs parciais. Para a determinação do IVG parcial, fez-se a contagem do número de sementes germinadas diariamente, cujo valor foi dividido pelo número de dias transcorridos desde a sementeira. Ao final dos 150 dias, obteve-se a percentagem de germinação final.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de quinze sementes, totalizando sessenta sementes por tratamento. As médias de percentagens de germinação e de IVG foram comparadas pelo teste Tukey (5%), utilizando-se o programa estatístico SAS.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação das sementes iniciou-se a partir do décimo segundo dia após a sementeira. As sementes maduras, de maneira geral, apresentaram melhor germinação do que aquelas em estágio verde.

Observou-se que quando o endocarpo não foi retirado e quando não houve embebição, as sementes, independentemente do estágio de maturação, mostraram os menores percentuais de germinação, abaixo de 70,00% (Tabela 2) e os valores mais baixos de IVG, inferiores a 0,20 (Tabela 3). O fato do endocarpo permanecer nas sementes, por ser duro, pode estar dificultando a entrada de água e, conseqüentemente, o processo de germinação.

Tabela 2. Percentagem de germinação de sementes de *Phoenix roebelenii*, em diferentes estádios de maturação, submetidas a tratamentos de superação de dormência.

Tratamento	Germinação final (%)
T1 - Semente verde com endocarpo, sem embebição	63,33 b
T2 - Semente madura com endocarpo, sem embebição	66,67 ab
T3 - Semente verde sem endocarpo, sem embebição	95,00 ab
T4 - Semente verde sem endocarpo, com embebição de um dia	95,00 ab
T5 - Semente verde sem endocarpo, com embebição de dois dias	98,33 a
T6 - Semente madura sem endocarpo, sem embebição	98,33 a
T7 - Semente madura sem endocarpo, com embebição de um dia	95,00 ab
T8 - Semente madura sem endocarpo, com embebição de dois dias	96,67 a
F	4,63 **
CV (%)	15,35



Tabela 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Phoenix roebelenii*, em diferentes estádios de maturação, submetidas a tratamentos de superação de dormência.

Tratamento	IVG
T1 - Semente verde com endocarpo, sem embebição	0,15 c
T2 - Semente madura com endocarpo, sem embebição	0,12 c
T3 - Semente verde sem endocarpo, sem embebição	0,85 ab
T4 - Semente verde sem endocarpo, com embebição de um dia	0,86 ab
T5 - Semente verde sem endocarpo, com embebição de dois dias	0,95 ab
T6 - Semente madura sem endocarpo, sem embebição	0,82 b
T7 - Semente madura sem endocarpo, com embebição de um dia	0,95 ab
T8 - Semente madura sem endocarpo, com embebição de dois dias	1,00 a
F	98,96**
CV (%)	10,27

A retirada do endocarpo, independente da realização da embebição, propiciou melhores germinações, com percentuais acima de 95,00% (Tabela 2), e melhores IVGs, com índices acima de 0,82 (Tabela 3). Isto pode ser devido ao fato do endocarpo da semente desta espécie conter substâncias inibidoras do crescimento do embrião.

Os valores de IVG apresentaram-se crescentes com o aumento do período de embebição das sementes em água (Tabela 3).

Para as sementes verdes, germinação mais alta foi obtida quando da retirada do endocarpo, juntamente com a embebição das sementes em água por dois dias (98,33%). Já, para as sementes maduras, somente a retirada do endocarpo parece ser suficiente para a superação da dormência (Tabela 2). Já em termos de IVG, não houve diferença significativa entre as sementes verdes; porém, dentre as maduras, o melhor resultado foi obtido quando da retirada do endocarpo e embebição por dois dias, obtendo-se IVG igual a 1,00 (Tabela 3).

Observou-se que nas sementes verdes sem endocarpo, o fato de se embeber ou não, não antecipa a germinação, o que pode ser verificado pelos valores de IVG, os quais são estatisticamente semelhantes entre si. Já, nas maduras sem endocarpo, maiores períodos de embebição em água anteciparam a germinação (Tabela 3).

## CONCLUSÕES

Sementes maduras de *Phoenix roebelenii* apresentam maior taxa de germinação do que sementes em estágio verde.

A retirada do endocarpo de sementes de tamareira de jardim propicia melhor germinação.

A embebição de sementes maduras dessa espécie por dois dias acelera sua germinação.

Sementes verdes de *P. roebelenii* tiveram maior germinação quando sem endocarpo e embebidas por dois dias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, Nelson Moreira; NAKAGAWA, João. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

EMERSON, Iossi; SADER, Rubens; PIVETTA, Kathia F. Lopes; BARBOSA, José Carlos. Substrates and temperatures on germination of *Phoenix roebelenii* O'Brien. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 2, p. 63-69, 2003.

LORENZI, Harri; SOUZA, Hermes Moreira de; COSTA, Judas Tadeu de Medeiros; CERQUEIRA, Luiz Sérgio Coelho de; FERREIRA, Evandro. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2004. 416 p.

PALAVRAS-CHAVE:

*Phoenix roebelenii*; planta ornamental; palmeira; maturação; germinação.

## Morfologia de plântulas de doze espécies lenhosas do Cerrado sentido restrito.

Montoro, Gustavo Ribeiro<sup>1</sup>; Silva Júnior, Manoel Cláudio<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UnB-Bot), Campus Darci Ribeiro, Caixa postal: 04457, Cep: 70919-970, Brasília, Distrito Federal, email: [montoro@unb.br](mailto:montoro@unb.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Engenharia Florestal da UnB, email: [mcsj@unb.br](mailto:mcsj@unb.br).

Espécies da flora nativa têm sido utilizadas para arborização urbana devido ao aspecto de suas copas ou ao colorido de suas flores, carecendo de estudos que possibilitem seu adequado aproveitamento. A fase de plântula é um momento após a germinação muito crítico para o estabelecimento das espécies vegetais em seus ambientes naturais e/ou em viveiros, devendo-se conhecer as estratégias adotadas pelas espécies para se estabelecerem. Atualmente as plântulas são classificadas com base principalmente na exposição, posição e textura dos cotilédones durante este crescimento inicial. A compreensão e diferenciação das plântulas de uma determinada região podem levar a um melhor conhecimento dos mecanismos de manutenção desta vegetação, contribuindo nos trabalhos de inventário, conservação e recuperação. No presente trabalho foram estudadas doze espécies do Cerrado sentido restrito, as quais tiveram cinco matrizes marcadas e os frutos coletados em diferentes quantidades durante maio de 2006 e maio de 2007. Após aplicação dos tratamentos (escarificação ou 24 horas em ácido giberélico na concentração 0,5g.L<sup>-1</sup> de água) 20 sementes foram semeadas a 1 cm de profundidade em sacos de polietileno para a formação das plântulas. O substrato utilizado foi o latossolo vermelho com esterco curtido de gado na proporção 1:3. Vale ressaltar que o substrato foi analisado quimicamente pela Escola de Agronomia -UFG. Os saquinhos foram colocados a pleno sol com duas irrigações diárias (06:00 / 16:00 hs) de ± 20 mL de água por saquinho. Para tal irrigação utilizou-se pulverizadores e temporizador. Após a emergência, as plântulas foram classificadas em fanerocotiledonares (cotilédones expostos), criptocotiledonares (cotilédones mantidos dentro do tegumento), epígeos (cotilédones elevados acima da superfície do solo), hipógeos (cotilédones mantidos abaixo ou sobre a superfície do solo), foliáceos (cotilédones finos e fotossintéticos) e de reserva (carnosos armazenadores). De acordo com esta classificação *Aspidosperma tomentosum* Mart., *Terminalia argentea* Mart., *Kielmeyera coriacea* (Spreng.) Mart., *Lafoensia pacari* A. St. Hil. e *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook F. ex S Moore apresentam plântulas fanero-epígeas-foliáceas (FEF); *Caryocar brasiliense* A. St. Hil. é cripto-hipógeo-de reserva (CHR); *Copaifera langsdorffii* Desf., *Enterolobium gummiferum* (Mart.) J. F. Macbr., *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e *Hymenaea stignocarpa* Mart. ex Hayne são fanero-epígeas-de reserva (FER); *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott & Endl. é fanero-hipógea-de reserva (FHR) e *Pseudobombax longiflorum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns foi classificada como FEF por apresentar cotilédones altamente pedicelados. Dos cinco grupos morfofuncionais possíveis, apenas o tipo criptocotiledonar-epígeo-de reserva não foi encontrado. Assim como em outras floras paleotropicals e neotropicais, as plântulas do Cerrado sentido restrito em geral apresentam seus cotilédones expostos sendo o tipo FEF o mais comum, seguido do tipo FER que predomina na família Leguminosae. Os tipos CHR e FHR foram representados por apenas uma espécie. Os resultados obtidos demonstram as diferentes estratégias adotadas pelas espécies para se estabelecerem em um ambiente tão heterogêneo como o do Cerrado sentido restrito, que passa por um período muito seco e outro muito úmido. As espécies com cotilédones carnosos retidos dentro da semente e/ou fruto como o *Caryocar brasiliense* dispersam suas sementes na estação chuvosa, garantido que suas plântulas se estabeleçam em um período seco. Já espécies com cotilédones foliáceos em geral dispersam suas sementes na estação seca, germinando e se estabelecendo na estação chuvosa. Esta característica é fortalecida com a formação de frutos ou sementes aladas, leves e de fácil dispersão pelo vento.

### PALAVRAS-CHAVES

Plântulas; Cerrado; espécies lenhosas, morfologia.

Agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

## Efeito de soluções nutritivas sobre o crescimento e desenvolvimento do crisântemo cultivado em vaso<sup>1</sup>.

Beckmann-Cavalcante, Márkilla Zunete<sup>1</sup>; Santos, Juliana Garcia dos<sup>1</sup>; Cavalcante, Ítalo Herbert Lucena<sup>1,2</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Pós-Graduandos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal (UNESP-FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2668, email: [zunete@fcav.unesp.br](mailto:zunete@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Professor do Curso de Engenharia Agrônômica (UFPI-EA), Campus Cinobelina Elvas, Rodovia BR-135, Bom Jesus, Piauí, fone (89) 3562 2109, email: [italohl@ufpi.br](mailto:italohl@ufpi.br); <sup>3</sup>Profa. Dra. Do Departamento de Produção Vegetal (UNESP-FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br).

### INTRODUÇÃO

O crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.), é uma das plantas mais cultivadas em todo o mundo e uma das flores mais populares, juntamente com as rosas, cravos e gérberras, fazendo parte do elenco básico das floriculturas. O sucesso como flor de corte e em vaso deve-se à precisão com que responde ao comprimento do dia (fotoperíodo) para a indução floral, à diversidade de cores e formas, resistência ao transporte e excelente durabilidade e, adaptabilidade a diferentes regiões (Petry, 1999).

Para o adequado desenvolvimento da planta e para obtenção de produtividade satisfatória é essencial a reposição de água e nutrientes, em quantidade e momento oportunos. Neste sentido, diversas pesquisas têm sido conduzidas no que se refere à nutrição de crisântemo no Brasil, como Lima (1987), Barbosa et al. (1996) e Mota (2004), pois as recomendações encontradas são provenientes, em sua maior parte, dos Estados Unidos, da Holanda e do Japão e são adaptadas pelos produtores às nossas condições de cultivo, ficando, contudo, incerta a sua eficiência e resultando na maioria das vezes em aplicação de quantidade insuficiente ou excessiva de nutrientes, ocasionando uma nutrição desbalanceada.

Adicionalmente, apesar das pesquisas já realizadas até o momento, ainda não se determinou uma solução nutritiva padrão para o crisântemo, como há para o tomateiro (Castellane & Araújo, 1995). Observou-se que a grande maioria dos produtores possui suas próprias soluções nutritivas, ocasionando muitas vezes manejo inadequado e resultando em prejuízos no crescimento vegetal e conseqüentes decréscimos na produtividade e na qualidade do produto final, principalmente produtores em fase inicial de estabelecimento.

Diante do exposto, realizou-se o presente trabalho com a finalidade de avaliar o efeito de soluções nutritivas elaboradas para o crisântemo cv. "Miramar" cultivado em vaso, no município de Jaboticabal.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido no Setor de Plasticultura do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, localizado a 21°14'05"S, 48°17'09"W e com latitude média de 600 m. As temperaturas média, média da mínima e máxima no decorrer do experimento foram respectivamente, 26°C, 22,4°C e 34,6°C e a umidade relativa do ar média foi 65,6%.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com avaliação feita em parcelas subdivididas no tempo. Os tratamentos corresponderam à quatro diferentes soluções nutritivas (parcelas): S1, S2, S3, S4, avaliadas em seis épocas de amostragem para análise de crescimento da cultura (subparcelas): 0, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após enraizamento (DAE), com cinco repetições.

---

<sup>1</sup> Agradecimento à CAPES pelo apoio financeiro para desenvolvimento da pesquisa através da concessão de bolsa.

As composições das soluções nutritivas estudadas encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentração de macronutrientes e micronutrientes das soluções. Jaboticabal, SP, 2005.

Soluções	Macronutrientes (mg L <sup>-1</sup> )						Micronutrientes (mg L <sup>-1</sup> )					
	N	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
Motos & Oliveira (s.d.)	150	40	300	150	60	80	-	-	-	-	-	-
Holambra (2005)	180	50	480	130	45	60	-	-	3,9	-	-	-
Barbosa (1996)	202	62	505	61	24	16	0,3	0,03	2,8	2,2	0,01	0,1
Furlani (Rodrigues, 2002)	200	31	293	100	24	32	0,2	0,03	3,4	1,1	0,05	0,2

<sup>1</sup> Informação pessoal (2005)

As mudas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.), cultivar Miramar, de cor amarela, foram adquiridas junto à empresa comercial “Dekker de Wit” e plantadas em vasos de polietileno 14 (1,2 L) contendo substrato comercial para plantas ornamentais (Terra do Paraíso 3010). Foram cultivadas seis mudas por vaso previamente tratadas com AIB em 07/09/2005 e com término em 30/11/2005, totalizando 12 semanas de cultivo.

Durante o período de enraizamento as mudas foram cobertas com plástico transparente para manter a umidade e, 14 DAE foram submetidas ao “pinching” (retirada do meristema apical para estimular o surgimento de brotações laterais). Neste momento os vasos foram espaçados considerando-se nesta data o tempo 0 (zero) de avaliação.

Foi providenciada iluminação artificial promovendo dias com mais de 13 horas de luz no período de enraizamento e posteriormente, passaram para a fase dos dias curtos (dias com menos de 13 horas de luz) a partir do escurecimento artificial promovido por lonas de polietileno pretas para a indução floral, segundo recomendações de Motos & Oliveira (s.d.).

Os tratos culturais (controle de plantas daninhas, fitossanitário e regulador de crescimento) seguiram recomendações de Motos & Oliveira (s.d.).

O fornecimento de água foi feito simultaneamente com os fertilizantes, de acordo com cada solução nutritiva, pelo método da pesagem dos vasos (Pereira, 2002). As soluções foram compostas de fertilizantes comerciais para o fornecimento de macronutrientes: NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, CaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>, MAP; e, de reagentes p.a. (“pró-análise”), para o fornecimento de micronutrientes, quando presentes na solução. O acompanhamento da condutividade elétrica (CE) e pH das soluções nutritivas foram realizados semanalmente, mantendo-se pH 5,5 ± 0,5. Os valores iniciais da CE das soluções nutritivas foram 2,0, 2,0, 2,5 e 2,1 dS m<sup>-1</sup> respectivamente para S1, S2, S3, e S4, permanecendo estes valores constantes até o final do experimento.

Foram avaliados a cada 14 DAE: a) altura de plantas (cm); b) diâmetro da haste (mm); c) área foliar (cm<sup>2</sup>); e, d) número de folhas.

Os dados foram submetidos à análise de variância para avaliação de efeito estatístico; as soluções e épocas de avaliação foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,01) no software SAS (SAS, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados da análise de variância apresentados na Tabela 2, observa-se que houve diferença significativa entre as soluções nutritivas estudadas para altura de plantas, área foliar e número de folhas; e, para o efeito épocas houve diferença significativa em todas as variáveis. Porém não foi registrada nenhuma interação significativa entre os fatores estudados, indicando que não há interdependência entre eles.

Comparando-se as soluções nutritivas quanto à altura de plantas observa-se que S4 apresentou-se superior as demais, mas não diferiu da S3 e S2. A partir dos 56 DAE não ocorre mais diferença estatística entre as épocas, atingindo altura maior a 23 cm aos 70 DAE. O crescimento foi lento nos primeiros 14 dias em relação à altura final, o que é comum, pois aliado a esta lentidão no crescimento inicial está associada a recuperação das plantas após o “pinching”, processo que induz a brotação lateral, conforme apresentado por Wallerstein et al. (1992). Segundo Stringheta (1995), comercialmente uma planta de

crisântemo envasada deve ter altura de aproximadamente 30 a 35 cm (incluindo o vaso), embora este valor dependa da variedade, assim a altura ideal para as plantas de crisântemo em vaso deve estar entre 20 a 25 cm. Deve-se considerar que se não houvesse a aplicação de regulador de crescimento B-Nine, prática usual entre os produtores de crisântemo devido ao padrão de altura que as plantas devem apresentar no momento da comercialização, possivelmente as plantas apresentariam maior altura.

Outro fator de grande importância no crescimento e desenvolvimento das plantas é a temperatura do ar. No decorrer do experimento as temperaturas médias da mínima e máxima registradas foram respectivamente 22,4 e 34,6°C, portanto acima dos considerados ideais para a cultura que segundo Adams et al. (1998) encontra-se na faixa de 18 a 25°C. De acordo com este mesmo autor, as altas temperaturas influenciam na altura de plantas, resultando em hastes mais curtas e em menor número de flores.

Tabela 2. Altura de plantas (ALT), área foliar (AF), número de folhas (NF) e diâmetro da haste (DH) em plantas de crisântemo cv. "Miramar" em função de solução nutritiva e época de avaliação. Jaboticabal, 2005.

Causa de variação	ALT	AF	NF	DH
Solução (S)	— cm —	— (cm <sup>2</sup> ) —		— mm —
S1	15,79 b	1607,79 b	172,87 b	3,17 a
S2	16,12 ab	1536,64 b	177,80 b	3,25 a
S3	16,43 ab	1710,70 ab	191,46 ab	3,21 a
S4	16,84 a	1981,32 a	200,20 a	3,18 a
DMS	0,73	352,80	20,08	0,29
C.V.	6,08	27,92	14,63	12,07
Época (E)				
1 (0 DAE)	6,98 e	582,76 d	29,40 d	2,27 d
2 (14 DAE)	9,91 d	1242,95 c	97,50 c	3,05 c
3 (28 DAE)	14,87 c	1769,14 b	168,45 b	3,24 bc
4 (42 DAE)	19,73 b	2062,60 a	267,75 a	3,49 ab
5 (56 DAE)	22,75 a	2277,15 a	277,35 a	3,64 a
6 (70 DAE)	23,54 a	2320,09 a	273,05 a	3,67 a
DMS	0,79	260,56	19,92	0,32
Interação S x E (Valor "F")	0,80 <sup>ns</sup>	1,28 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	0,83 <sup>ns</sup>
C.V.	5,31	16,51	17,46	10,48

DMS = diferença mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação; DAE = dias após o enraizamento; ns = Não significativo.

O efeito das soluções na área foliar e número de folhas foram favorecidos pelas soluções S4 e S3, não diferindo estatisticamente entre si, o que pode ser atribuído à composição destas soluções, uma vez que estas possuem concentração de N maiores em relação às soluções S1 e S2. Segundo Marschner (2005), um dos efeitos do N é o de promover expansão da área foliar e maior vegetação. A partir de 42 DAE não houve diferença estatística entre as datas de avaliação.

O diâmetro da haste não foi influenciado pelas soluções nutritivas, apresentando maior diâmetro aos 70 DAE (3,67 mm), não diferindo das épocas 4 (42 DAE) e 5 (56 DAE), de forma análoga às medidas foliares. Estes valores assemelham-se aos encontrados por Mota (2004) para o maior diâmetro de haste (3,59 mm) e, ao maior valor médio (3,5 mm) reportado por Pereira (2002), ambos para a variedade de crisântemo "White Diamond". Joiner & Smith (1962) estudando o efeito da adubação no desenvolvimento das plantas de crisântemo, verificaram que diferentes concentrações de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O não interferiram de forma pronunciada no diâmetro das hastes da variedade "Bluechip".

## CONCLUSÃO

Nas condições experimentais conclui-se que há influência da composição da solução nutritiva no crescimento e desenvolvimento do crisântemo em vaso cv. "Miramar". As soluções S3 e S4 são superiores à S1 e S2.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, S.R.; PEARSON, S.; HADLEY, P. The effect of temperature on inflorescence initiation and subsequent development in chrysanthemum cv. 'Snowdon' (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.77, p.59-72, 1998.
- BARBOSA, J.G.; MARTINEZ, H.E.P.; KAMPF, A.N. Produção de crisântemo – *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvelev – para corte sob cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.2, n.2, p.48-58, 1996.
- CASTELLANE, P.D.; ARAÚJO, J.A.C.de. **Cultivo sem solo: hidroponia**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 43p.
- JOINER, J.N.; SMITH, T.C. Effects of nitrogen and potassium levels on the growth, flowering responses and foliar composition of *Chrysanthemum morifolium* "Bluechip". **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.80, p.571-580. 1962.
- LIMA, A.M.L.P. **Absorção de nutrientes e deficiência de macronutrientes e boro no crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) cultivar Golden Polaris**. Piracicaba, 1987. 135p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade Estadual Paulista, 1987.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. Orlando: Academic Press, 2005, 889p.
- MOTA, P.R.D'A. **Níveis de condutividade elétrica da solução do substrato em crisântemo de vaso, em ambiente protegido**. Botucatu, 2004, 82p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2004.
- MOTOS, J.R.; OLIVEIRA, M.J.G.de. **Produção de crisântemos em vaso**. Holambra: Flortec, [s.d.]. 34p.
- PEREIRA, J.R.D. Análise dos efeitos da época de suspensão da fertirrigação e de níveis de reposição de água à cultura do crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) cv. White Diamond. 2002. 54p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, 2002.
- PETRY, C. Cultivo do crisântemo. In: PETRY, C. (org.). **Plantas ornamentais: aspectos para a produção**. Passo Fundo: EDIUPF, 1999. p.103-112.
- RODRIGUES, L.R.F. **Técnicas de cultivo hidropônico e de controle ambiental no manejo de pragas, doenças e nutrição vegetal em ambiente protegido**. Jaboticabal: Funep, 2002. 762p.
- SAS. **SAS/STAT user's guide, version 4.0.2**, SAS Inst. Inc., Cary, USA, 2000.
- STINGHETA, A.C.O. **Avaliação de variedades de crisântemo em vaso, em substratos contendo composto de lixo urbano**. 1995. 72p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- WALLERSTEIN, I.; KADMAN-ZAHZVI, A.; NISSIN, A.; STAV,R.; MICHAL,S. Control by photoperiod and the rhizomatous zone over the production of basal buds and the preservation of the rosette form in Aster cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.51, p.237-250, 1992.

## PALAVRAS-CHAVES

*Chrysanthemum x grandiflorum*; análise de crescimento; nutrição mineral.



## **Influência da deficiência de macronutrientes na durabilidade pós-colheita de *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* cultivar Golden Torch.**

Ana Cecília Ribeiro de Castro<sup>(1)</sup>; Vivian Loges<sup>(2)</sup>; Andreza dos Santos Costa<sup>(2)</sup>; Fernando Antônio Sousa de Aragão<sup>(1)</sup>; André Luiz Verona<sup>(3)</sup>; Lilia Willadino<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Caixa Postal 3761, CEP 60511 Fortaleza, CE, fone (85) 32991838, e-mail: cecilia@cnpat.embrapa.br; aragao@cnpat.embrapa.br; <sup>(2)</sup> Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: lilia@truenet.com.br, vloges@yahoo.com; mario@aldeia.com.br, andreza.costa@gmail.com <sup>(3)</sup> Graduando em agrônoma da Universidade Federal Rural de Pernambuco, e-mail: gauchoufrpe@gmail.com

A qualidade das flores de corte, quanto aos aspectos de durabilidade, coloração, tamanho e turgidez, está relacionada com o processo de produção e cultivo até a comercialização. Entre as práticas de cultivo, a nutrição mineral das plantas apresenta importância fundamental, desempenhando aumento da produtividade e qualidade dos produtos. O equilíbrio dos nutrientes é um dos fatores de maior relevância nas características pós-colheita, na resistência ao transporte e no armazenamento dos produtos hortícolas, pois estes elementos regulam os processos fisiológicos e bioquímicos dos tecidos vegetais que contribuirão para o aparecimento de defeitos nos produtos pós-colheita. Características morfofisiológicas da primeira haste floral e longevidade pós-colheita de *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* Aristeguieta cultivar Golden Torch foram avaliadas em plantas submetidas à omissão de macronutrientes. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, mediante técnica do elemento faltante. As inflorescências produzidas do tratamento sob omissão de N apresentaram coloração laranja pálido e deformação nas hastes florais. Os tratamentos com omissão de N, P e K reduziram o comprimento e o diâmetro da haste, o comprimento e a durabilidade pós-colheita da inflorescência, características importantes para a comercialização. As deficiências de macronutrientes reduziram, ainda, a produção de hastes florais. Hastes florais com maior massa seca e diâmetro apresentam maior durabilidade pós-colheita. O teor de carboidrato na parte subterrânea tem correlação positiva com a massa seca encontrada na haste floral.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Durabilidade, qualidade da inflorescência, flores tropicais, carboidratos, florescimento.



## Sintomas e efeitos de deficiência de macronutrientes em helicônia 'Golden Torch'

Ana Cecília Ribeiro de Castro<sup>(1)</sup>; Vivian Loges<sup>(2)</sup>; Mario Felipe Arruda de Castro<sup>(2)</sup>; Andreza dos Santos Costa<sup>(2)</sup>; Fernando Antônio Sousa de Aragão<sup>(1)</sup>, Lilia Willadino<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Caixa Postal 3761, CEP 60511 Fortaleza, CE, fone (85) 32991838, e-mail: cecilia@cnpat.embrapa.br; aragao@cnpat.embrapa.br; <sup>(2)</sup> Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: vloges@yahoo.com; mario@aldeia.com.br, andreza.costa@gmail.com, lilia@truenet.com.br

As espécies do gênero *Heliconia*, família Heliconiaceae, são plantas da América Tropical. Apresentam perspectivas promissoras como flores de corte por possuírem características fundamentais à comercialização como beleza, resistência ao transporte e durabilidade após a colheita. Por ser uma cultura relativamente recente, faltam informações fundamentais sobre nutrição mineral. Embora, de um modo geral, as deficiências se mostrem da mesma forma em várias plantas, o sintoma de carência de um determinado nutriente pode diferir muito de uma espécie para outra. Por isso torna-se necessário um estudo prévio a respeito da cultura. O objetivo deste estudo foi caracterizar deficiências nutricionais em *Heliconia psittacorum* x *Heliconia spathocircinata* cultivar Golden Torch, por meio de indicadores de crescimento, sintomatologia nas folhas. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com oito tratamentos, sendo solução completa (N, P, K, Ca, Mg, S) e com a omissão individual de N, P, K, Ca, Mg ou S e ausência completa de nutrientes. Os sintomas de deficiência dos nutrientes surgiram na seguinte ordem de ocorrência: N, Mg, K, P, e S. Os sintomas foram: clorose generalizada em – N; clorose em – P e em – S; folhas verde-escuras e necrose em – K e; clorose ao longo dos bordos com necrose em – Mg. A omissão de Ca não acarretou sintomas visíveis. As deficiências de N e P afetaram mais intensamente o número de perfilhos, produção de massa seca das folhas, número de folhas e área foliar.

### PALAVRAS-CHAVE

helicônia, sintomatologia, nutrição, flores tropicais.

## Teores de macronutrientes em plantas de helicônia 'Golden Torch' submetidas a estresse nutricional.

Ana Cecília Ribeiro de Castro<sup>(1)</sup>; Vivian Loges<sup>(2)</sup>; Mario Felipe Arruda de Castro<sup>(2)</sup>; Andreza dos Santos Costa<sup>(2)</sup>; Fernando Antônio Sousa de Aragão<sup>(1)</sup>, Ana Maria Felix<sup>(3)</sup>; Lília Willadino<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Caixa Postal 3761, CEP 60511 Fortaleza, CE, fone (85) 32991838, e-mail: cecilia@cnpat.embrapa.br; aragao@cnpat.embrapa.br; <sup>(2)</sup> Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: lilia@truenet.com.br, vloges@yahoo.com; mario@aldeia.com.br, andreza.costa@gmail.com; <sup>(3)</sup> Graduando em Ciências Biológicas, e-mail: felix.ana@gmail.com

A seleção da folha indicadora para análise foliar que melhor expresse a condição nutricional da cultura é importante para diagnosticar os elementos em deficiência quando estes ainda não ocasionaram sintomas visuais ou quando os sintomas de diferentes carências são semelhantes entre si. Por ser uma cultura de exploração comercial, faltam informações fundamentais sobre diversos aspectos da produção de helicônias, sobretudo no que concerne à nutrição mineral. O objetivo deste estudo foi observar deficiências nutricionais em *Heliconia psittacorum* x *Heliconia spathocircinata* 'Golden Torch', através dos teores de macronutrientes na planta. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com sete tratamentos, sendo solução completa (N, P, K, Ca, Mg, S) e com a omissão individual de N, P, K, Ca, Mg, S. A tendência à redução no teor de cada macronutriente, acarretado pela respectiva omissão no tratamento, foi mais acentuada na 3ª folha. Com base nos teores em g kg<sup>-1</sup> dos macronutrientes na 3ª folha, encontraram-se os seguintes valores no tratamento completo e com omissão respectivamente: N = 16,28 e 7,87; P = 1,49 e 0,68; K = 32,68 e 3,26; Ca = 8,76 e 3,38; Mg = 1,75 e 0,70; S = 6,00 e 1,82, aos 90 dias e N = 24,40 e 5,32; P = 1,32 e 0,46; K = 12,88 e 3,50; Ca = 4,58 e 0,97; Mg = 0,98 e 0,62; S = 4,44 e 1,00, na floração.

### PALAVRAS-CHAVES

Helicônias, flores tropicais, nutrição, sintomas.

# Influência de soluções nutritivas na produção de matéria seca e inflorescências de crisântemo cultivado em vaso<sup>1</sup>.

Beckmann-Cavalcante, Márkilla Zunete<sup>1</sup>; Santos, Juliana Garcia dos<sup>1</sup>; Cavalcante, Ítalo Herbert Lucena<sup>1,2</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Pós-Graduandos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal (UNESP-FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2668, email: [zunete@fcav.unesp.br](mailto:zunete@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Professor do Curso de Engenharia Agrônômica (UFPI-EA), Campus Cinobelina Elvas, Rodovia BR-135, Bom Jesus, Piauí, fone (89) 3562 2109, email: [italohl@ufpi.br](mailto:italohl@ufpi.br); <sup>3</sup>Profa. Dra. Do Departamento de Produção Vegetal (UNESP-FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br).

## INTRODUÇÃO

Dentre as plantas ornamentais, o crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) é uma das plantas mais cultivadas em todo o mundo. O sucesso como flor de corte ou em vaso deve-se à precisão com que responde ao comprimento do dia (fotoperíodo) para a indução floral, à diversidade de cores e formas, resistência ao transporte e à excelente durabilidade, adaptando-se muito bem a qualquer região e lugar (Petry, 1999).

Nos últimos anos, a indústria da floricultura vem se desenvolvendo com o objetivo de alcançar padrões de qualidade superiores, a partir de sistema produtivo que além de reduzir os custos de produção minimize os danos ambientais, levando sempre em consideração a qualidade final do produto, incluindo padronização e tornando o produtor mais competitivo.

O conhecimento da nutrição e das adubações recomendadas no Brasil, fatores de alto impacto na produção e na qualidade das flores de crisântemo tanto de corte como de vaso, tem se apoiado, geralmente, no empirismo ou em recomendações de outros países, resultando na aplicação de quantidade insuficiente ou excessiva de adubos e, portanto, ocasionando uma nutrição desbalanceada (Nell et al., 1997).

Diversas pesquisas têm sido conduzidas no que se refere à nutrição de crisântemo no Brasil (Stringheta, 1995; Barbosa et al, 1996; Mota, 2004), porém ainda não se determinou uma solução nutritiva padrão para o crisântemo. Observou-se que a grande maioria dos produtores possui suas próprias soluções nutritivas, ocasionando muitas vezes manejo inadequado e resultando em prejuízos no crescimento vegetal e conseqüentes decréscimos na produtividade e na qualidade do produto final, principalmente àqueles em fase inicial de estabelecimento.

Diante do exposto, realizou-se o presente trabalho com a finalidade de avaliar o efeito de soluções nutritivas elaboradas para o crisântemo cv. "Miramar" cultivado em vaso, na produção de matéria seca e inflorescências.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido no Setor de Plasticultura do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, localizado a 21°14'05"S, 48°17'09"W e com latitude média de 600 m. As temperaturas média, média da mínima e máxima no decorrer do experimento foram respectivamente, 26°C, 22,4°C e 34,6°C e a umidade relativa do ar média foi 65,6%.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com avaliação feita em parcelas subdivididas no tempo. Os tratamentos corresponderam às quatro diferentes soluções nutritivas (parcelas): S1, S2, S3, S4, avaliadas em seis épocas de amostragem para análise de crescimento da cultura (subparcelas): 0, 14, 28, 42, 56 e 70 dias após enraizamento (DAE), com cinco repetições.

---

<sup>1</sup> Agradecimento à CAPES pelo apoio financeiro para desenvolvimento da pesquisa através da concessão de bolsa.

As composições das soluções nutritivas estudadas encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentração de macronutrientes e micronutrientes nas soluções. Jaboticabal, SP, 2005.

Soluções	Macronutrientes (mg L <sup>-1</sup> )						Micronutrientes (mg L <sup>-1</sup> )					
	N	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
Motos & Oliveira (s.d.)	150	40	300	150	60	80	-	-	-	-	-	-
Holambra (2005)	180	50	480	130	45	60	-	-	3,9	-	-	-
Barbosa (1996)	202	62	505	61	24	16	0,3	0,03	2,8	2,2	0,01	0,1
Furlani (Rodrigues, 2002)	200	31	293	100	24	32	0,2	0,03	3,4	1,1	0,05	0,2

<sup>1</sup> Informação pessoal (2005)

As mudas de crisântemo (*Chrysanthemum x grandiflorum*) cultivar Miramar, de cor amarela, foram adquiridas junto à empresa comercial “Dekker de Wit” e plantadas em vasos de polietileno 14 (1,2 L) contendo substrato comercial para plantas ornamentais (Terra do Paraíso 3010). Foram cultivadas seis mudas por vaso previamente tratadas com AIB em 07/09/2005 e com término em 30/11/2005, totalizando 12 semanas de cultivo.

No período de enraizamento as mudas foram cobertas com plástico transparente para manter a umidade e, 14 DAE foram submetidas ao “pinching”. Neste momento os vasos foram espaçados considerando-se nesta data o tempo 0 (zero) de avaliação.

Foi providenciada iluminação artificial promovendo dias com mais de 13 horas de luz no período de enraizamento e posteriormente, passaram para a fase dos dias curtos (dias com menos de 13 horas de luz) a partir do escurecimento artificial promovido por lonas de polietileno pretas para a indução floral, segundo recomendações de Motos & Oliveira (s.d.).

Os tratos culturais (controle de plantas daninhas, fitossanitário e regulador de crescimento) seguiram recomendações de Motos & Oliveira (s.d.).

O fornecimento de água foi feito simultaneamente com os fertilizantes, de acordo com cada solução nutritiva, pelo método da pesagem dos vasos e as soluções foram compostas de fertilizantes comerciais para o fornecimento de macronutrientes: NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, CaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>, MAP; e, de reagentes p.a., para o fornecimento de micronutrientes. O acompanhamento da condutividade elétrica (CE) e pH das soluções nutritivas foram realizados semanalmente, mantendo-se pH 5,5 ± 0,5. Os valores iniciais da CE das soluções nutritivas foram 2,0, 2,0, 2,5 e 2,1 dS m<sup>-1</sup> respectivamente para S1, S2, S3, e S4.

Foram avaliados a cada 14 DAE: a) matéria seca de parte aérea; b) matéria seca da raiz; e, c) matéria seca total da planta. O material vegetal foi submetido à secagem em estufa com circulação forçada de ar (65°C). O número e diâmetro de inflorescências foram analisados no final do experimento (70 DAE).

Os dados foram submetidos à análise de variância para avaliação de efeito estatístico; as soluções e épocas de avaliação foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,01) no software SAS (SAS, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados da análise de variância apresentados na Tabela 2, observa-se que houve diferença significativa entre as soluções nutritivas estudadas para matéria seca da parte aérea bem como a total; e, para o efeito épocas houve diferença significativa em todas as variáveis, porém não foi registrada nenhuma interação significativa entre os fatores estudados, indicando que não há interdependência entre eles.

Foram encontradas diferenças significativas quanto à produção de matéria seca da parte aérea e total da planta entre as soluções nutritivas, com semelhança entre S4 e S3. Como esperado, entre as épocas também houve diferença estatística significativa, para ambas as variáveis, sendo a maior produção atingida aos 70 DAE. Até aos 14 DAE as plantas apresentaram massas de matéria seca bastante reduzida, que foram incrementadas com o desenvolvimento da cultura. Os incrementos mais acentuados na produção de matéria seca tanto da parte aérea como total ocorreram na fase de indução ao florescimento, isto é, dos 28 aos 70 DAE. De acordo com Camargo et al. (2002) os

incrementos podem estar relacionados às flores, que podem contribuir com 20% da matéria seca final.

Em relação à matéria seca da raiz, observa-se que as soluções nutritivas não causaram efeito significativo, ao contrário das épocas. Houve incremento significativo na matéria seca da raiz até 56 DAE não diferindo estatisticamente dos 70 DAE. Segundo Stringheta (1995), as raízes são pouco desenvolvidas nas primeiras semanas e a eficiência do sistema radicular aumenta ao longo do tempo, de acordo com o crescimento da parte aérea.

Tabela 2. Produção de massa seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e total (MST) em plantas de crisântemo cv. "Miramar" em função de solução nutritiva e época de avaliação. Jaboticabal, 2006.

Causa de variação	MSPA	MSR	MST
g vaso <sup>-1</sup>			
Solução (S)			
S1	12,63 b	2,07 a	14,70 b
S2	12,77 b	2,11 a	14,88 b
S3	13,14 ab	2,24 a	15,38 ab
S4	14,36 a	2,28 a	16,64 a
DMS	1,45	0,28	1,73
C.V.	14,80	27,44	15,21
Época (E)			
1 (0 DAE)	1,81 e	0,17 e	1,98 e
2 (14 DAE)	2,67 e	0,66 d	3,33 e
3 (28 DAE)	11,48 d	1,92 c	13,40 d
4 (42 DAE)	17,32 c	2,79 b	20,12 c
5 (56 DAE)	21,29 b	3,74 a	25,03 b
6 (70 DAE)	24,77 a	3,75 a	28,52 a
DMS	1,39	0,34	1,58
Interação S x E (Valor "F")	0,96 <sup>ns</sup>	1,77 <sup>ns</sup>	1,03 <sup>ns</sup>
C.V.	11,35	17,40	11,08

DMS = diferença mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação; DAE = dias após o enraizamento; ns = Não significativo.

Quanto ao número e diâmetro de inflorescências não houve diferença estatística entre as soluções, como pode ser observado na Figura 1A e 1B.

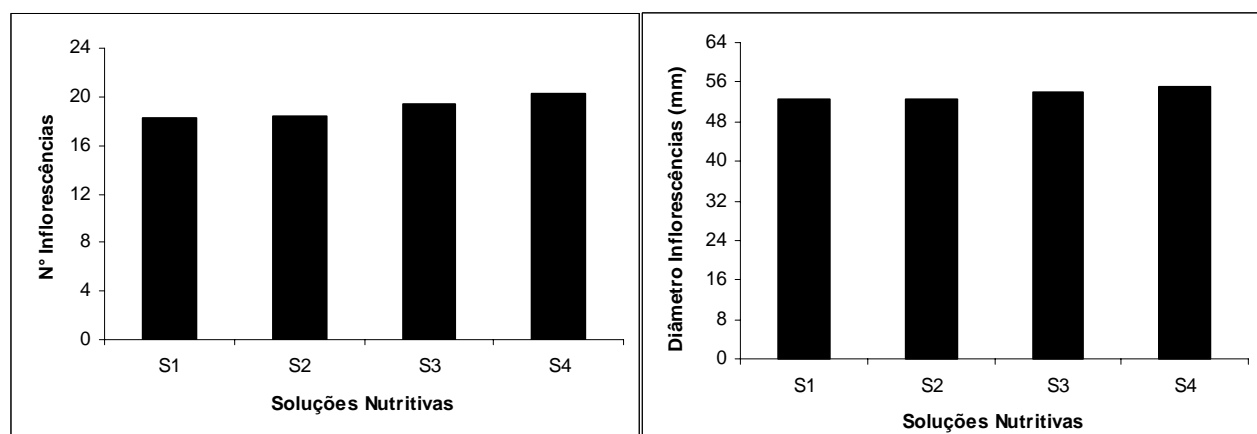


Figura 1. Número (A) e diâmetro (B) de inflorescências em plantas de crisântemo cv. "Miramar" em função da solução nutritiva aos 70 DAE. Jaboticabal, 2006.

Para o número de inflorescências era de se esperar, uma vez que o número de hastes é definido logo após o enraizamento, com a emergência dos brotos laterais estimulados pela realização do “pinching”. Estes resultados não estão muito distantes aos obtidos por Mota (2004), em que encontrou no máximo 23 inflorescências. Já os valores obtidos para o diâmetro de inflorescências estão expressivamente abaixo dos apresentados por Mota (2004), em estudo com diferentes condutividades elétricas da solução, encontrou médias entre 72,48 e 77,93 mm, ambos para a variedade “White Diamond”.

Um dos fatores que teve influência foi a temperatura do ar que tem efeito direto na floração, pois de acordo com Adams et al. (1998) o florescimento do crisântemo tem resposta ótima quando submetidas à temperatura entre 17 e 22°C e no decorrer do experimento as temperaturas registradas encontraram-se acima desta faixa considerada ideal.

## CONCLUSÃO

Nas condições experimentais conclui-se que há influência da composição da solução nutritiva na produção de matéria seca de crisântemo cultivado em vaso cv. “Miramar”. As soluções S3 e S4 são superiores à S1 e S2. No tocante às inflorescências, não há influências das soluções nutritivas. Entretanto, recomenda-se que sejam realizados ensaios em outras épocas do ano no município de Jaboticabal, avaliando-se a influência da temperatura do ar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, S.R.; PEARSON, S.; HADLEY, P. The effect of temperature on inflorescence initiation and subsequent development in chrysanthemum cv. ‘Snowdon’ (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.77, p.59-72, 1998.
- BARBOSA, J.G.; MARTINEZ, H.E.P.; KAMPF, A.N. Produção de crisântemo – *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvelev – para corte sob cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.2, n.2, p.48-58, 1996.
- CAMARGO, M.S.; CARMELLO, Q.A.C.; RUSCHEL, J. Avaliação da nutrição e da produção de *Aster ericoides* cultivar White Master em estufa comercial. **Revista Brasileira de Horticultura ornamental**, Campinas, v.7, n.2, p.101-108, 2002.
- MOTA, P.R.D’A. **Níveis de condutividade elétrica da solução do substrato em crisântemo de vaso, em ambiente protegido**. Botucatu, 2004, 82p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2004.
- MOTOS, J.R.; OLIVEIRA, M.J.G.de. **Produção de crisântemos em vaso**. Holambra: Flortec, [s.d.]. 34p.
- NELL, T.A.; BARRET, J.E.; LEONARD, R.T. Production factor affecting post production quality of flowering potted plants. **HortScience**, Alexandria, v.32, p.817-819, 1997.
- PETRY, C. Cultivo do crisântemo. In: PETRY, C. (org.). **Plantas ornamentais: aspectos para a produção**. Passo Fundo: EDIUPF, 1999. p.103-112.
- RODRIGUES, L.R.F. **Técnicas de cultivo hidropônico e de controle ambiental no manejo de pragas, doenças e nutrição vegetal em ambiente protegido**. Jaboticabal: Funep, 2002. 762p.
- SAS. **SAS/STAT user’s guide, version 4.0.2**, SAS Inst. Inc., Cary, USA, 2000.
- STINGHETA, A.C.O. **Avaliação de variedades de crisântemo em vaso, em substratos contendo composto de lixo urbano**. 1995. 72p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.

## PALAVRAS-CHAVES

*Chrysanthemum x grandiflorum*; análise de crescimento; fitomassa seca.

## **Análise de crescimento do crisântemo cultivado em vaso sob diferentes soluções nutritivas<sup>1</sup>.**

Beckmann-Cavalcante, Márkilla Zunete<sup>1</sup>; Cavalcante, Ítalo Herbert Lucena<sup>1,2</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>3</sup>; Santos, Juliana Garcia dos<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pós-Graduandos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal (UNESP-FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2668, email: [zunete@fcav.unesp.br](mailto:zunete@fcav.unesp.br); <sup>2</sup>Professor do Curso de Engenharia Agrônômica (UFPI-EA), Campus Cinobelina Elvas, Rodovia BR-135, Bom Jesus, Piauí, fone (89) 3562 2109, email: [italohl@ufpi.br](mailto:italohl@ufpi.br); <sup>3</sup>Profa. Dra. Do Departamento de Produção Vegetal (UNESP-FCAV), Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br).

### **INTRODUÇÃO**

O crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) é uma das plantas mais cultivadas em todo o mundo e uma das flores mais populares. Muitas pesquisas têm sido conduzidas no que se refere à nutrição desta espécie no Brasil (Lima, 1987; Barbosa et al., 1996; e Mota, 2004), pois as recomendações encontradas são provenientes, em sua maior parte, dos Estados Unidos, da Holanda e do Japão e adaptadas pelos produtores às nossas condições de cultivo, ficando, contudo, incerta a sua eficiência.

Para avaliar os efeitos de sistemas de manejo sobre as plantas, a análise de crescimento é fundamental, pois descreve as mudanças na produção vegetal em função do tempo, o que não é possível com o simples registro do rendimento. Segundo Magalhães (1986), a análise de crescimento de comunidades vegetais é um dos primeiros passos na análise de produção primária, caracterizando-se como o elo de ligação entre o simples registro do rendimento das culturas e a análise destas por meio de métodos fisiológicos, podendo ser utilizada para conhecer a adaptação ecológica das plantas a novos ambientes, a competição interespecífica, os efeitos de sistemas de manejo e a capacidade produtiva de genótipos.

Vários índices fisiológicos são deduzidos e utilizados na tentativa de explicar e compreender as diferenças de comportamento das comunidades vegetais. Entre os mais utilizados, encontram-se o índice de área foliar, taxa de crescimento da cultura, taxa de crescimento relativo e a taxa de assimilação líquida (Pereira & Machado, 1987).

Diante do exposto, realizou-se o presente trabalho com a finalidade de analisar o crescimento do crisântemo cv. "Miramar" cultivado em vaso, no município de Jaboticabal sob diferentes soluções nutritivas.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em ambiente protegido no Setor de Plasticultura do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, localizado a 21°14'05"S, 48°17'09"W e com latitude média de 600 m. As temperaturas média, média da mínima e máxima no decorrer do experimento foram respectivamente, 26°C, 22,4°C e 34,6°C e a umidade relativa do ar média foi 65,6%.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com avaliação feita em parcelas subdivididas no tempo. Os tratamentos corresponderam às quatro diferentes soluções nutritivas (parcelas): S1, S2, S3, S4, avaliadas em cinco épocas de amostragem para análise de crescimento da cultura (subparcelas): 14, 28, 42, 56 e 70 dias após enraizamento (DAE), com cinco repetições.

As composições das soluções nutritivas estudadas encontram-se na Tabela 1.

---

<sup>1</sup> Agradecimento à CAPES pelo apoio financeiro para desenvolvimento da pesquisa através da concessão de bolsa.



Tabela 1. Concentração de macronutrientes e micronutrientes nas soluções. Jaboticabal, SP, 2005.

Soluções	Macronutrientes (mg L <sup>-1</sup> )					Micronutrientes (mg L <sup>-1</sup> )						
	N	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
Motos & Oliveira (s.d.)	150	40	300	150	60	80	-	-	-	-	-	-
Holambra (2005)	180	50	480	130	45	60	-	-	3,9	-	-	-
Barbosa (1996)	202	62	505	61	24	16	0,3	0,03	2,8	2,2	0,01	0,1
Furlani (Rodrigues, 2002)	200	31	293	100	24	32	0,2	0,03	3,4	1,1	0,05	0,2

<sup>1</sup> Informação pessoal (2005)

As mudas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) cultivar Miramar, de cor amarela, foram adquiridas junto à empresa comercial “Dekker de Wit” e plantadas em vasos de polietileno 14 (1,2 L) contendo substrato comercial para plantas ornamentais (Terra do Paraíso 3010). Foram cultivadas seis mudas por vaso previamente tratadas com AIB em 07/09/2005 e com término em 30/11/2005, totalizando 12 semanas de cultivo.

Durante o período de enraizamento as mudas foram cobertas com plástico transparente para manter a umidade e, 14 DAE foram submetidas ao “pinching”. Neste momento os vasos foram espaçados considerando-se nesta data o tempo 0 (zero) de avaliação.

Foi providenciada iluminação artificial promovendo dias com mais de 13 horas de luz no período de enraizamento e posteriormente, passaram para a fase dos dias curtos (dias com menos de 13 horas de luz) a partir do escurecimento artificial promovido por lonas de polietileno pretas para a indução floral, segundo recomendações de Motos & Oliveira (s.d.).

Os tratos culturais (controle de plantas daninhas, fitossanitário e regulador de crescimento) seguiram recomendações de Motos & Oliveira (s.d.).

O fornecimento de água foi feito simultaneamente com os fertilizantes, de acordo com cada solução nutritiva, pelo método da pesagem dos vasos e as soluções foram compostas de fertilizantes comerciais para o fornecimento de macronutrientes: NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, CaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>, MAP; e, de reagentes p.a. (“pró-análise”), para o fornecimento de micronutrientes. O acompanhamento da condutividade elétrica (CE) e pH das soluções nutritivas foram realizados semanalmente, mantendo-se pH 5,5 ± 0,5. Os valores iniciais da CE das soluções nutritivas foram 2,0, 2,0, 2,5 e 2,1 dS m<sup>-1</sup> respectivamente para S1, S2, S3, e S4.

A cada 14 DAE foi avaliada a matéria seca total da parte aérea e a área foliar e, a partir destes dados foram calculados os índices fisiológicos da análise de crescimento, segundo Benincasa (2003): a) taxa de crescimento absoluto (TCA); b) taxa de crescimento relativo (TCR); c) taxa de assimilação líquida (TAL); e, d) razão de área foliar (RFA). Os dados foram submetidos à análise de variância para avaliação de efeito estatístico; as soluções e épocas de avaliação foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,01) no software SAS (SAS, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância das taxas de crescimento da cultura de crisântemo cultivar “Miramar” encontram-se na Tabela 2. Observa-se que não houve diferença estatística entre as soluções nutritivas estudadas para as taxas de crescimento avaliadas, porém, para o efeito épocas houve diferença significativa em todas as variáveis. Também não foi registrada nenhuma interação significativa entre os fatores estudados, indicando que não há interdependência entre eles.

A taxa de crescimento absoluto (TCA) pode ser usada para estimar a velocidade média de crescimento ao longo do período de observação (Benincasa, 2003). O crescimento foi lento nos primeiros 14 DAE em relação às demais épocas, o que é comum, pois aliado a esta lentidão no crescimento inicial está associada a recuperação das plantas após o “pinching”, processo que induz a brotação lateral, conforme apresentado por Wallerstein et al. (1992). Observa-se que há um crescimento vegetativo acelerado dos 14 DAE até 28



DAE, sendo esta época significativamente superior às demais e, a partir desta época observam-se reduções da TCA até a colheita.

Em referência à taxa de crescimento relativo (TCR) também denominado de taxa de crescimento específico, que representa a quantidade de material produzido por unidade de material já existente (Benincasa, 2003) verifica-se que a época 2 (28 DAE) é significativamente superior às demais épocas, acompanhando o comportamento da TCA. Dos 28 DAE até 42 DAE houve um brusco declínio, estabilizando-se até o final do experimento. Este declínio, segundo Milthorpe & Moorby (1974), pode ser explicado pela elevação da atividade respiratória e pelo auto-sombreamento, cuja importância aumenta com a idade da planta.

Tabela 2. Taxa de crescimento absoluto (TAL), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa de assimilação líquida (TAL) e razão de área foliar (RAF) de plantas de crisântemo cv. "Miramar" em função de solução nutritiva e época de avaliação. Jaboticabal, 2005.

Causa de variação	TAL	TCR	TAL	RAF
	--- g sem <sup>-1</sup> ---	-- g g <sup>-1</sup> sem <sup>-1</sup> --	- g cm <sup>-2</sup> sem <sup>-1</sup> -	--- cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> ---
Solução (S)				
S1	2,17 a	0,25 a	0,007 a	192,74 a
S2	2,25 a	0,26 a	0,008 a	175,82 a
S3	2,26 a	0,26 a	0,008 a	179,30 a
S4	2,50 a	0,27 a	0,008 a	208,17 a
DMS	0,33	0,04	0,002	40,82
C.V.	17,82	16,51	25,416	26,66
Época (E)				
1 (14 DAE)	0,43 d	0,19 b	0,003 c	471,83 a
2 (28 DAE)	4,40 a	0,73 a	0,017 a	154,58 b
3 (42 DAE)	2,92 b	0,21 b	0,009 b	118,94 bc
4 (56 DAE)	1,98 bc	0,10 c	0,005 c	106,39 c
5 (70 DAE)	1,74 c	0,07 c	0,005 c	93,30 c
DMS	0,97	0,09	0,003	43,36
Interação S x E (Valor "F")	0,19 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,242 <sup>ns</sup>	1,16 <sup>ns</sup>
C.V.	47,48	37,45	41,154	25,82

DMS = diferença mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação; DAE = dias após o enraizamento; ns = Não significativo.

A taxa de assimilação líquida (TAL) representa o balanço entre o material produzido pela fotossíntese e o perdido através da respiração, expressando desta forma a eficiência das folhas na produção de matéria seca e a estimativa da fotossíntese líquida (Benincasa, 2003). Observa-se que a época 2 apresentou TAL significativamente superior às demais épocas, reduzindo até o final do experimento. Este efeito é justificado em função do aumento da área foliar, ou seja, a TAL comumente diminui com o aumento da área foliar, devido ao efeito do sombreamento das folhas inferiores (Milthorpe & Moorby, 1974).

Os resultados da razão de área foliar (RAF) em função do tempo evidenciaram maior valor aos 14 DAE com um declínio acentuado até os 28 DAE tendendo a estabilizar até a colheita (Tabela 2). Segundo Urchei et al. (2000), isto indica que a maior parte do material fotossintetizado é convertida em folhas, para maior captação da radiação solar disponível. A partir desse período ocorrem decréscimos com o desenvolvimento fenológico da cultura, decorrentes do surgimento de tecidos e estruturas não assimilatórias como flores, além do auto-sombreamento com a idade da planta. De acordo com Benincasa (2003), a RAF declina à medida que a planta cresce, devido ao aumento da interferência de folhas superiores sobre as folhas inferiores, e uma tendência da área foliar útil diminuir a partir de certa fase do desenvolvimento.

## CONCLUSÃO

Nas condições experimentais conclui-se que não há influência da composição da solução nutritiva no crescimento do crisântemo em vaso cv. "Miramar" avaliadas a partir da análise de crescimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal : UNESP, 1989. 247p.
- BARBOSA, J.G.; MARTINEZ, H.E.P.; KAMPF, A.N. Produção de crisântemo – *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvelev – para corte sob cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.2, n.2, p.48-58, 1996.
- BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.
- LIMA, A.M.L.P. **Absorção de nutrientes e deficiência de macronutrientes e boro no crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) cultivar Golden Polaris**. Piracicaba, 1987. 135p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade Estadual Paulista, 1987.
- MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa de crescimento. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EDUSP, 1986, 1. p.331-350.
- MILTHORPE, F.L.; MOORBY, J. **An introduction to crop physiology**. Cambridge, Grã-Bretanha:Cambridge University, 1974. 201p.
- MOTA, P.R.D'A. **Níveis de condutividade elétrica da solução do substrato em crisântemo de vaso, em ambiente protegido**. Botucatu, 2004, 82p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2004.
- MOTOS, J.R.; OLIVEIRA, M.J.G.de. **Produção de crisântemos em vaso**. Holambra: Flortec, [s.d.]. 34p.
- PEREIRA, A.R.; MACHADO, E.C. Análise quantitativa do crescimento de comunidade vegetais. Campinas: Instituto Agrônômico, 1987, 33p.
- RODRIGUES, L.R.F. **Técnicas de cultivo hidropônico e de controle ambiental no manejo de pragas, doenças e nutrição vegetal em ambiente protegido**. Jaboticabal: Funep, 2002. 762p.
- SAS. **SAS/STAT user's guide, version 4.0.2**, SAS Inst. Inc., Cary, USA, 2000.
- URCHEI, M.A.; RODRIGUES, J.D.; STONE, L.F. Análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.3, p.497-506, 2000.
- WALLERSTEIN, I.; KADMAN-ZAHZVI, A.; NISSIN, A.; STAV,R.; MICHAL,S. Control by photoperiod and the rhizomatous zone over the production of basal buds and the preservation of the rosette form in Aster cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.51, p.237-250, 1992.

## PALAVRAS-CHAVES

*Dendranthema grandiflora*; análise de crescimento; nutrição mineral.

## Condutividade elétrica e pH do substrato em cultivares de gérbera de vaso avaliado com duas metodologias.

Ludwig, Fernanda<sup>1</sup>; Fernandes, Dirceu Maximino<sup>1,2</sup>; Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>1</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, Depto. de Recursos Naturais/Ciência do Solo, CEP: 18603-970, Botucatu, SP, email:fludwig@fca.unesp.br.

<sup>2</sup> Bolsista CNPQ.

### INTRODUÇÃO

As gérberas (*Gerbera jamesonii*) são plantas perenes, herbáceas, e possuem flor composta. Na natureza são encontradas na coloração que varia do amarelo ao laranja escuro, mas com o desenvolvimento de cultivares híbridos, disponibilizou-se no mercado grande variedade de cores, abrangendo: branco, nata, cor-de-rosa, vermelho, carmim, e até mesmo violeta. Hoje há disponibilidade de cerca de 20 tonalidades diferentes (Pandolfi, 2006).

Com a finalidade de se obter alta qualidade na produção de flores e plantas ornamentais, as necessidades nutricionais devem ser consideradas. A aplicação excessiva de fertilizantes via água de irrigação pode causar desequilíbrios nutricionais nas plantas, em virtude principalmente de antagonismos iônicos (Silva, 2002).

O uso de substrato permite para o produtor maior controle do pH e dos nutrientes. Um teste simples, rápido de substrato é necessário para o produtor tomar decisão sobre nutrição e administração de fertilidade (Cavins, 2002). Muitos problemas relacionados à nutrição de plantas podem ser reduzidos ou eliminados com a realização de testes de substrato, como a condutividade elétrica e pH, que são indicativos da disponibilidade de nutrientes para as plantas.

Existem vários métodos de análise de substrato, entretanto, é necessário o conhecimento da correlação entre os mesmos, para que o produtor possa comparar seus dados, com os trazidos pela literatura. Desse modo, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar a condutividade elétrica e pH do substrato, em cultivares de gérbera fertirrigados com duas soluções nutritivas, com o uso de duas metodologias, pour-through e 1:2, estabelecendo uma correlação entre elas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período compreendido entre 03 de maio e 03 de julho de 2006, em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Recursos Naturais – Área de Ciência do Solo – FCA – UNESP, no município de Botucatu/SP. O ambiente superior interno possuía malhas termorefletoras com 50% (Aluminet®) manejadas de acordo com a intensidade luminosa (Lux), permanecendo fechada das 10:30 às 16:00 horas.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, empregando o esquema fatorial 4 X 2 (4 cultivares e 2 soluções nutritivas), em 4 repetições. Os vasos foram espaçados de 30 em 30 cm, colocados sobre tijolos, dispostos no chão da casa-de-vegetação.

Os cultivares utilizados foram Cherry e Golden Yellow (centro escuro), e Salmon Rose e Orange (centro claro). As soluções nutritivas constaram de uma referência padrão, utilizada pela empresa Steltenpool, 100%, e uma diluição em 50% da mesma. A composição da solução 100% em mg dm<sup>-3</sup> foi a seguinte: 142,0 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 101,5 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 105,0 K; 25,2 P; 51,3 Ca; 6,3 Mg; 28 S; 0,2 B; 0,3 Cu; 3,9 Fe; 1,4 Mn; 0,08 Mo e 0,3 Zn, no período vegetativo. Estas foram reformuladas quando a planta entrou na fase reprodutiva, aos 41 DAA, devido à mudança na demanda da cultura, tendo a seguinte composição em mg dm<sup>3</sup>: 110,3 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 66,8 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 285 K; 56,6 P; 26,3 Ca; 17,2 Mg; 76 S; 0,4 B; 0,4 Cu; 4,4 Fe; 1,7 Mn; 0,1 Mo e 0,5 Zn. As

condutividades elétricas da solução 50 e 100% foram de 0,92 e 1,76 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente, no período vegetativo e 1,07 e 2,04 dS m<sup>-1</sup>, no reprodutivo.

Foram utilizadas mudas de *Gerbera jamesonii*, plantadas em vasos número 15 (15 cm de diâmetro e 11,5 cm de altura, com volume de 1,3 L), com substrato composto de 70% de casca de pinus e 30% de terra de subsolo.

Ao final do experimento efetuaram-se as análises de condutividade elétrica e pH com o uso do método pour-through e 1:2. Na metodologia do pour-through seguiu-se a recomendação proposta por Cavins (2002), saturando-se um vaso por parcela com a solução nutritiva correspondente ao tratamento, e após uma hora, acondicionou-se sacos plásticos na parte inferior de cada vaso e adicionou-se 75 ml de água deionizada na parte superior dos mesmos, de modo que a solução facilmente disponível fosse lixiviada para o interior dos sacos plásticos, na qual a análise era realizada.

Na metodologia da diluição 1:2, retirou-se parte do substrato da porção central do vaso, procedendo-se as leituras em suspensões de substrato:água deionizada na proporção de 1:2 (v:v) 30 minutos após a homogeneização.

A condutividade elétrica (CE) foi determinada em condutímetro portátil da marca Digimed DM-3 e o pH com potenciômetro portátil da marca Gehaka PG 1400.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando significativas, com uso do programa estatístico Sisvar.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cultivares não apresentaram respostas diferenciadas para os valores de condutividade elétrica, nas duas metodologias aplicadas (Tabela 1). Entretanto, vários trabalhos relatam diferença entre cultivares, para os valores de CE (Baas et al., 1995; Nowak & Gabryszewska, 2001 e Paradiso et al., 2003).

Tabela 1. Valores médios de condutividade elétrica e pH, medidos pelo método pour-through e 1:2, em quatro cultivares de gérbera e duas soluções nutritivas. Botucatu, SP. 2006.

	CE		pH	
	Pour-through	1:2	Pour-through	1:2
Cultivar	-----dS m <sup>-1</sup> -----			
Cherry	2,97	0,59	7,19 a	6,95 ab
Golden Yellow	2,67	0,55	7,04 ab	6,89 b
Salmon Rose	2,69	0,49	7,18 a	7,12 a
Orange	2,82	0,62	6,79 b	6,80 b
Solução				
50%	1,70 B	0,36 B	7,30 A	7,19 A
100%	3,87 A	0,77 A	6,81 B	6,69 B
Cv	NS	NS	**	**
Sol	**	**	**	**
Cv x Sol	NS	NS	NS	NS
CV(%)	16,51	24,03	2,72	2,20

Cv: cultivar; Sol: solução. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A condutividade elétrica foi mais elevada na solução 100%, devido a sua concentração de sais ser superior a solução 50%. Possivelmente essa concentração era superior a necessidade da cultura, de modo que a planta não os absorvia totalmente, tendendo assim, a

concentrar parte destes sais no substrato. Segundo Van Iersel (1999), um aumento da condutividade elétrica da solução do meio de crescimento indica que a fertilização é feita mais rapidamente do que a absorção da cultura.

Os valores de pH variaram entre cultivares, sendo superior em Salmon Rose e Cherry, porém sem diferir de Golden Yellow, na metodologia do pour-through. No 1:2, os valores maiores foram encontrados em Salmon Rose, sem diferir de Cherry. Entre as soluções, o pH apresentou comportamento inverso ao registrado para os valores de condutividade elétrica, diminuindo com o aumento da concentração da solução nutritiva. Esta tendência tem sido relatada em vários trabalhos (Van Iersel, 1999; Zheng et al., 2004; Ludwig et al., 2006).

A condutividade elétrica do substrato foi afetada pelo método de extração. Os valores do pour-through foram sempre superiores aos encontrados pelo método 1:2, devido a sua menor diluição. O método 1:2 utiliza-se da diluição do substrato, deste modo os resultados apresentam-se menores.

Para o pH não houve diferença entre as metodologias. Cavins (2002), não constatou diferença para o pH ao comparar as metodologias do pour-through e pasta saturada (SME).

Na Figura 1, observa-se a relação entre as duas metodologias, para a condutividade elétrica, com valores maiores para o pour-through. Verifica-se uma correlação linear positiva entre os dados, validando assim os métodos.

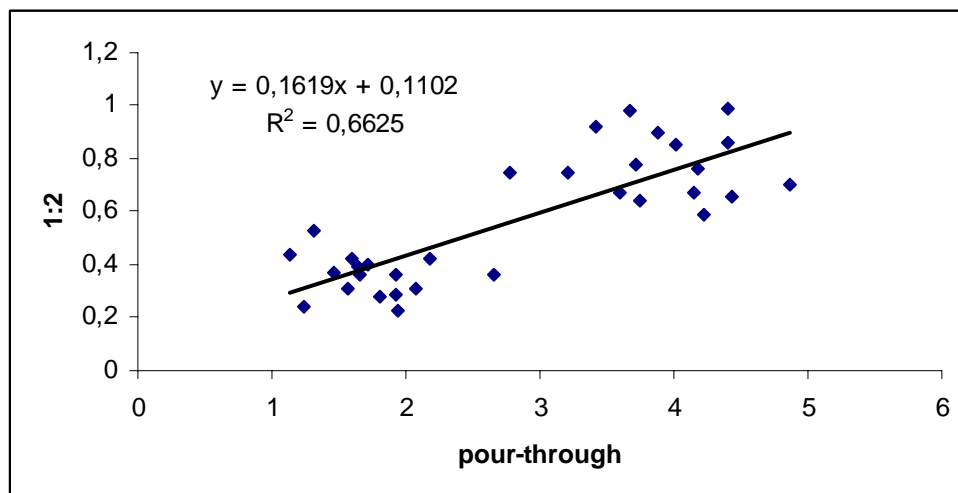


Figura 1. Curva de calibração e equação para comparação dos valores de condutividade elétrica obtidos nas metodologias do pour-through e 1:2.

## CONCLUSÃO

A correlação entre as metodologias permite concluir que o pour-through e o 1:2 podem ser utilizados de maneira eficaz no acompanhamento do conteúdo de sais e pH na solução do substrato, em plantas de gérbera.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAAS, R., NIJSSEN, H.M.C., VAN DEN BERG, T.J.M.; WARMENHOVEN, M.G. Yield and quality of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) and gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) in a closed nutrient system as affected by sodium chloride. **Scientia Horticulturae**, v.61, p. 273-284, 1995.

CAVINS, T.J. **Adaptation of the pourthru nutrient extraction procedures to greenhouse crop production**. 2002. 148 f. Tese (Doutorado) - Faculty of North Carolina State University, 2002.

LUDWIG, F.; FERNANDES, D.M.; MOTA, P.R.D.; LUZ, M.A.; PERÓN, I.H; FANELA, T.L.M.; OLIVEIRA, C.S.H. de. Avaliação da condutividade elétrica e pH em cultivares de gérbera utilizando o método "Pour-through". In: 46º CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 26. 2006, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2006. CD – ROM.

NOWAK, J.; GABRYSZEWSKA, E. Mineral nutrient requirements and effects of CO<sub>2</sub> enrichment on gerbera microcuttings. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 76, n. 6, p. 670-673, 2001.

PANDORFI, C.G. **Manejo da cobertura de ambientes protegidos: alterações micrometeorológicas e efeitos na produção e qualidade de gérbera**. 2006. 96f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP. Piracicaba, 2006.

PARADISO, R.; DE PASCALE, S.; APREA, F.; BARBIERI, G. Effect of electrical conductivity levels of nutrient solution on growth, gas exchanges and yield of two gerbera cultivars in soilless system. **Acta Horticulturae**, v. 609, p. 165-171, 2003.

SILVA, E. F. F. **Manejo da fertirrigação e controle da salinidade na cultura do pimentão utilizando extratores de solução do solo**. 2002. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

VAN IERSEL, M. Fertilizer concentration affects growth and nutrient composition of subirrigation pansies. **HortScience**, v. 34, n. 4, p. 660-663, 1999.

ZHENG, Y.; GRAHAM, T; RICHARD, S; DIXON, M. Potted gerbera production in a subirrigation system using low-concentration nutrient solutions. **HortScience**, v. 39, n. 6, p. 1283-1286, 2004.

PALAVRAS-CHAVE: *Gerbera jamesonii*, nutrição de plantas, substrato.

## Utilização de adubo de liberação lenta na propagação de *Cordia superba Cham.*

Marcolino, Karina Guimarães<sup>1</sup>, Mariano, Flávia Aparecida de Carvalho<sup>2</sup>, Castilho, Regina Maria Monteiro<sup>3</sup>, Nogueira, Tomás Couto Pupo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Avenida Brasil nº 56, CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, fone (18) 3743-1000, e-mail: [kgmarcolino@aluno.feis.unesp.br](mailto:kgmarcolino@aluno.feis.unesp.br), <sup>2</sup> Mestrando do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, e-mail: [flaviamariano1@hotmail.com](mailto:flaviamariano1@hotmail.com), <sup>3</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – Unesp / Campus de Ilha Solteira, e-mail: [castilho@agr.feis.unesp.br](mailto:castilho@agr.feis.unesp.br), <sup>4</sup> Discente do Curso de Agronomia (FEIS – UNESP), Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”.

### INTRODUÇÃO

*Cordia superba Cham.* (Boraginaceae), popularmente conhecida como babosa-branca, grão-de-galo ou baba-de-boi, é uma árvore de 7 – 10 metros de altura, de ocorrência no RJ, MG e SP. Tem potencial ornamental, principalmente por suas flores brancas e é utilizada em arborização urbana e reflorestamentos protetivos, sendo atrativa para a fauna silvestre (LORENZI, 1992; DURIGAN et al., 1997), sendo propagada por semente.

Na produção de mudas de ornamentais, inclusive arbóreas, podem-se utilizar, entre outros tipos de adubos, os de liberação lenta.

A premissa básica para o uso dos adubos de liberação lenta é a liberação contínua dos nutrientes, reduzindo a possibilidade de perdas por lixiviação e mantendo a planta nutrida constantemente durante todo o período de crescimento. O seu uso apresenta outras inúmeras vantagens, tais como: a redução de mão-de-obra para adubações em cobertura, a redução da perda de nitrogênio por volatilização da amônia, a redução dos danos na semente ou nas plântulas pela salinidade do meio de cultivo, entre outras (SHARMA, 1979).

De acordo com Barbosa et al., (2003), a formação de mudas de boa qualidade em viveiro é um dos pontos determinantes do processo de produção, o qual pode possibilitar plantas com melhor desempenho em campo.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o uso de adubos de liberação lenta para a produção de *Cordia superba Cham.*

### MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Engenharia – UNESP, Campus de Ilha Solteira, com latitude 20°25' S, longitude 51°21' WGR e altitude de 330m, no Município de Ilha Solteira – SP, no período de 18/11/06 a 06/03/07. Foi conduzido em ambiente protegido sob telado 50%, utilizado com substrato solo + esterco (3:1) em sacos de plástico preto de 0,5 L, sendo acrescido 3g de adubo/L de substrato.

Os adubos utilizados foram: Basacote mini prill (3M), Osmocote mini prill (3-4 meses) e Triabon.

Foram avaliados a altura de plantas, diâmetros do caule e os teores de nitrogênio, potássio, fósforo e enxofre. A análise foliar das plantas foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Sementes da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Campus da Agronomia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 repetições/tratamento. Os resultados foram avaliados através do programa ESTAT – Sistema para Análises Estatísticas. Obteve-se a análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, para comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Tabela 1:** Medição das alturas e diâmetros de plantas de *Cordia superba Cham.* com três diferentes tratamentos. Ilha Solteira. 2007.

Tratamentos	Parâmetros avaliados	
	Altura (cm)	Diâmetro (cm)
1. Basacote	119,50 A	11,92 A
2. Osmocote	114,33 A	11,35 A
3. Triabon	128,33 A	12,19 A
C.V. (%)	16,53	16,20

Com relação à Tabela 1, observa-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para o parâmetro altura de planta, bem como para o diâmetro das plantas. Portanto, independente do adubo utilizado todas as plantas tiveram um desenvolvimento adequado.

**Tabela 2:** Análise foliar de *Cordia superba Cham.* em três diferentes tratamentos e com determinações de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre. Ilha Solteira. 2007.

Tratamento	Análise Foliar – Nutrientes (mg)			
	N	P	K	S
1. Osmocote	19,78 AB	1,99 A	19,66 B	0,65 AB
2. Basacote	19,11 B	1,95 A	23,83 A	0,77 A
3. Triabon	21,88 A	1,59 B	18,00 C	0,60 B
C.V.(%)	5,15	7,05	1,15	8,95

Pela Tabela 2, observa-se que houve diferença estatística significativa, e, quando observados separadamente os nutrientes, o tratamento com maior teor de nitrogênio foi quando utilizado a adubação com Triabon, porém não diferenciando estatisticamente do primeiro tratamento, que se utilizou Osmocote. Para o fósforo, os maiores teores ocorreram quando utilizou-se Osmocote e Basacote. Para o potássio, houve diferença estatística significativa quando adubou-se com Basacote, seguido do Osmocote. Para o enxofre, o



maior teor foi quando se utilizou a adubação com Basacote, porém não diferenciando estatisticamente do tratamento com Osmocote.

Quando observa-se a performance dos adubos para todos os nutrientes, o Osmocote teve diferença significativa para o nitrogênio, fósforo e enxofre, não ocorrendo o mesmo para o potássio, discordando com Dell Quiqui et al., (2004) que, utilizando como adubação lenta o Osmocote, permitiu maior acúmulo de todos os nutrientes na parte aérea das mudas de *E. citriodora*, com exceção do fósforo e do potássio, quando comparados com outros tipos de adubação.

O Basacote apresentou bom resultados para todos os nutrientes, com exceção do nitrogênio. Segundo Melo et al., (2004) a adubação com nitrogênio e fósforo, é fundamental no estágio inicial de desenvolvimento das mudas, não ocorrendo o mesmo no presente trabalho.

O Triabon apresentou bons resultados apenas para o nitrogênio. Apesar de Yeager e Wright (1984) relatarem que, na formação de mudas o suprimento adequado em fósforo proporciona respostas significativas tanto no crescimento do sistema radicular como da parte aérea, não foi o que observou-se neste experimento, posto que não houve diferença com relação a altura das plantas.

## CONCLUSÃO

Os diferentes adubos de liberação lenta não mostraram diferença no desenvolvimento de mudas de *Cordia*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, Z., SOARES, I., CRISÓSTOMO, L. A. Crescimento e absorção de nutrientes por mudas de gravioleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 519-522, dez. 2003.

DEL QUIQUI, E. M. et al., Crescimento e composição mineral de mudas de eucalipto cultivadas sob condições de diferentes fontes de fertilizantes. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 26, n. 3, p. 293-299, 2004.

DURIGAN, G. et al. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Páginas e Letras Editora e Gráfica, 1977.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

MELO, A. S. et al., Desenvolvimento de porta-enxertos de Umbuzeiro em resposta à adubação de nitrogênio e fósforo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n. 2, p.324-331, mar-abr, 2005.

SHARMA, G. C. **Controlled-release fertilizers and horticultural applications**. **Scientia Horticulturae**, Alabama, USA, v.11(2): 107-129. 1979.

Palavras-chaves

Adubo de liberação lenta, *Cordia*

## **Intensidade de cor verde e nitrogênio em cultivares de gérbera fertirrigados com soluções nutritivas.**

Ludwig, Fernanda<sup>1</sup>; Fernandes, Dirceu Maximino<sup>1,2</sup>; Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>1</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, Depto. de Recursos Naturais/Ciência do Solo, CEP: 18603-970, Botucatu, SP, email:fludwig@fca.unesp.br.

<sup>2</sup> Bolsista CNPQ.

### **INTRODUÇÃO**

As gérberas são flores pertencentes à família Asteraceae, são plantas perenes, herbáceas e possuem flores compostas. Esta espécie tem sido mais amplamente estudada como flor de corte, sendo uma das mais importantes do mercado internacional, destacando-se principalmente na Europa (Bellé, 1998). Seu cultivo em vaso é recente, havendo poucas informações sobre as técnicas de cultivo, especialmente quanto à nutrição.

Existem vários cultivares disponíveis no mercado, os quais variam quanto as suas necessidades nutricionais, com diferentes sensibilidades à concentração de sais. O desconhecimento dessa característica pode comprometer as práticas de irrigação e adubação, acarretando desequilíbrios nutricionais na produtividade (Bellé, 1998). Atenção especial deve ser dada ao N, pois segundo Dufault et al. (1990) o N propicia aumento na produção, além de estimular a absorção de P e K.

A avaliação da necessidade nutricional da planta, por meio do tecido vegetal é uma prática importante para o programa da fertilização. Entretanto, existem métodos rápidos, práticos e não destrutivos, que podem auxiliar neste programa, como a medida da intensidade de cor verde. Esta técnica recente tem potencial para avaliar o nitrogênio da planta em tempo real e apresenta correlação significativa entre a intensidade do verde com a concentração de N na folha (Gil et al. 2002) podendo ser considerado um índice para avaliar o estado de nitrogênio das plantas. Como o N é constituinte da molécula de clorofila, geralmente existe alta correlação entre o seu teor e a clorofila nas folhas (Soratto et al., 2004), medida indiretamente com o uso de clorofilômetro.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a intensidade de cor verde em folhas de gérbera e o conteúdo de N no tecido vegetal, sua relação, avaliando a possibilidade da utilização do clorofilômetro como indicativo do teor de N na planta de gérbera.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no período de 03 de maio a 03 de julho de 2006, em casa de vegetação do Departamento de Recursos Naturais – Área de Ciência do Solo – FCA – UNESP, no município de Botucatu, estado de São Paulo. O ambiente superior interno possuía malhas termorefletoras com 50% (Aluminet®) manejadas de acordo com a intensidade luminosa (Lux), permanecendo fechada das 10:30 às 16:00 horas e aberta nos demais horários, onde a intensidade luminosa era inferior a 50 mil Lux. A temperatura média dentro da casa de vegetação foi de 20,5 °C e a umidade relativa média do ar de 69%.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, empregando o esquema fatorial 4 X 2 (4 cultivares e 2 soluções nutritivas) em 5 repetições. Os vasos foram espaçados de 30 em 30 cm, colocados sobre tijolos, dispostos no chão da estufa.

Os cultivares utilizados foram Cherry e Golden Yellow (centro escuro), e Salmon Rose e Orange (centro claro). As soluções nutritivas constaram de uma referência padrão, utilizada pela empresa Steltenpool, 100%, e uma diluição em 50% da mesma. A composição da solução

100% em mg dm<sup>-3</sup> foi a seguinte: 142,0 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 101,5 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 105,0 K; 25,2 P; 51,3 Ca; 6,3 Mg; 28 S; 0,2 B; 0,3 Cu; 3,9 Fe; 1,4 Mn; 0,08 Mo e 0,3 Zn, no período vegetativo. Estas foram reformuladas quando a planta entrou na fase reprodutiva, aos 41 dias após aclimação (DAA), devido à mudança na demanda da cultura, tendo a seguinte composição em mg dm<sup>-3</sup>: 110,3 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 66,8 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 285 K; 56,6 P; 26,3 Ca; 17,2 Mg; 76 S; 0,4 B; 0,4 Cu; 4,4 Fe; 1,7 Mn; 0,1 Mo e 0,5 Zn. As condutividades elétricas da solução 50 e 100% foram de 0,92 e 1,76 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente, no período vegetativo e 1,07 e 2,04 dS m<sup>-1</sup>, no reprodutivo.

Foram utilizadas mudas de *Gerbera jamesonii*, plantadas em vasos número 15 (15 cm de diâmetro e 11,5 cm de altura, com volume de 1,3 L), com substrato composto de 70% de casca de pinus e 30% de terra de subsolo.

Os nutrientes foram fornecidos às plantas por meio da fertirrigação. A quantidade média de solução nutritiva aplicada para os cultivares Golden Yellow e Orange foi de 100 ml vaso<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> nos períodos vegetativo e reprodutivo, para Cherry e Salmon Rose, foi de 100 ml vaso<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> no período vegetativo e 150 ml vaso<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> no período reprodutivo.

A partir do 2º mês da instalação do experimento, realizou-se semanalmente, no período das 8 às 10 horas, a medida da intensidade de cor verde (ICV), com clorofilômetro SPAD-502 da marca Minolta. Amostraram-se folhas velhas (maduras fisiologicamente e completamente expandidas), em quatro pontos por planta.

A determinação dos teores e acúmulo de N foi realizada ao final dos períodos vegetativo e reprodutivo (41 e 62 DAA, respectivamente). Cortou-se a parte aérea, a qual foi lavada e posta em estufa de ventilação forçada a 65°C, por um período médio de 48 horas, até peso constante, seguido pela moagem em moinho do tipo “Willey”. A análise química do tecido vegetal seguiu a metodologia recomendada por Malavolta et al. (1997).

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando significativas, com uso do programa estatístico Sisvar.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cherry apresentou intensidade de cor verde (ICV) inferior aos demais cultivares (Tabela 1). Segundo Mercurio (2002), a ICV na parte superior de folhas de gérbera, depende do cultivar. Roude et al. (1991) encontraram diferença entre cultivares de crisântemo de vaso, para esta variável.

Tabela 1. Intensidade de cor verde (SPAD) em plantas de gérbera, medida em folhas velhas completamente expandidas, em função dos cultivares e soluções nutritivas, nas diferentes datas amostradas. Botucatu, SP. 2006.

	ICV – folha velha				
	Dias após aclimação (DAA)				
	31	38	45	52	59
Cultivar	----- SPAD -----				
Cherry	33,8 b C	35,7 b C	37,1 b BC	40,5 c B	44,4 b A
Golden Yellow	39,3 a D	43,1 a C	45,5 a BC	48,8 a AB	51,1 a A
Salmon Rose	38,8 a C	41,5 a BC	43,2 a B	44,7 b B	49,4 a A
Orange	36,7 ab D	40,6 a C	42,6 a BC	45,4 b B	50,4 a A
Solução					
50%	36,4 a D	38,1 b CD	39,6 b BC	41,6 b B	45,4 b A
100%	37,8 a D	42,4 a C	44,5 a C	48,1 a B	52,2 a A

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %, sendo minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas.

Quando as plantas foram fertirrigadas com a solução 100%, ocorreu um aumento na ICV, justificado pela maior concentração de N fornecido pela mesma. Paralelamente ao aumento da ICV, foram observados acréscimos significativos do teor de N no tecido foliar na solução 100% (Tabela 2), confirmando a relação entre as leituras do SPAD e a concentração de N (Argenta et al., 2001). Paradiso et al. (2003), observaram que quando as plantas recebiam solução com 2,4 dS m<sup>-1</sup> houve aumento na absorção de N em relação a solução com 1,6 dS m<sup>-1</sup>. Entretanto Zheng et al. (2004) não verificaram variação no teor deste nutriente em diferentes concentrações da solução nutritiva de 100, 50, 25 e 10%, indicando resultados superiores aos apontados na presente pesquisa, com 35 g kg<sup>-1</sup>, em média.

Aos 41 DAA, verifica-se que os cultivares que apresentaram maiores teores de N foram Golden Yellow e Orange, no entanto, para os valores de acúmulo não houve diferença entre os cultivares. Paradiso et al. (2003) ao avaliarem dois cultivares de gérbera, Brittani e Golden Serena, em dois níveis de solução nutritiva, não encontraram diferenças significativas para a absorção de N entre cultivares ao final do período produtivo.

Tabela 2. Teor (g kg<sup>-1</sup>) e acúmulo (g planta<sup>-1</sup>) de N na parte aérea de plantas de gérbera, ao final do período vegetativo (41 DAA) e reprodutivo (62 DAA) em função dos cultivares e soluções nutritivas. Botucatu, SP. 2006.

	Teor e acúmulo de N no tecido vegetal			
	41 DAA	62 DAA	41 DAA	62 DAA
	-----g kg <sup>-1</sup> -----		-----g planta <sup>-1</sup> -----	
Cultivar				
Cherry	28,0 b A	28 a A	0,12 a B	0,34 a A
Golden Yellow	31,7 a A	29 a B	0,12 a B	0,31 a A
Salmon Rose	27,5 b A	28 a A	0,14 a B	0,35 a A
Orange	32,4 a A	29 a B	0,14 a B	0,31 a A
Solução				
50%	27,8 b A	27 b A	0,10 b B	0,29 b A
100%	32,2 a B	30 a A	0,15 a B	0,36 a A

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %, sendo minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas.

Observa-se, durante o ciclo da cultura, que o maior acúmulo de N ocorreu no seu terço final. Este acúmulo também pode ser verificado ao analisar a ICV ao final do ciclo, a qual apresentou-se superior ao final das avaliações.

Os valores do teor de N obtidos no presente experimento, em grande parte, encontram-se dentro da faixa adequada (27 a 31 g kg<sup>-1</sup>) proposta por Mercurio (2002). Teores inferiores foram registrados por Bellé (1998), de 18 a 26,3 g kg<sup>-1</sup>, com aumento da concentração da solução nutritiva e por Savvas & Gizas (2002), de 21 g kg<sup>-1</sup>, em folhas novas completamente expandidas. Considerando que os teores de N foram adequados, verifica-se que os valores de ICV obtidos a partir de 41 DAA, são considerados apropriados, mesmo para a solução 50%.

Houve correlação entre a ICV e o teor de N, nos dois períodos em que as duas variáveis foram avaliadas, tendo um valor de 0,73 ao final do vegetativo e 0,71 ao final do reprodutivo, validando o uso do clorofilômetro. Furlani et al. (1996) observaram correlações positivas entre as leituras e os teores de N em folhas de feijoeiro (R<sup>2</sup> = 0,75), indicando que há perspectivas favoráveis quanto ao uso desse equipamento para detectar deficiências de nitrogênio.

## CONCLUSÃO

A intensidade de cor verde das folhas avaliada pelo uso de medidor portátil (clorofilômetro) é um bom parâmetro indicador do nível de nitrogênio em plantas de gérbera.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; BARTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

BELLÉ, S. **Sistemas de irrigação e concentrações de adubação complementar na produção de *Gerbera jamesonii* cv 1187 em vaso**. 1998. 122 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

DUFAULT, R.D.; PHILLIPS, T.L.; KELLY, J.W. Nitrogen and Potassium fertility and plant populations influence field production of gerbera. **HortScience**, v. 25, n. 12, p. 1599-1602, 1990.

FURLANI, E.J.; NAKAGAWA, J.; BULHÕES, L.J.; MOREIRA, J.A.M.; GRASSI FILHO, H. Correlação entre leituras de clorofila e níveis de nitrogênio aplicados em feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v.55, n.1, p.171-175, 1996.

GIL, P.T.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R.; FERREIRA, F.A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 611-615, 2002.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos. 1997. 319p.

MERCURIO, G. **Gerbera cultivation in greenhouse**. The Netherlands: Schreurs, 2002. 206 p.

PARADISO, R.; DE PASCALE, S.; APREA, F.; BARBIERI, G. Effect of electrical conductivity levels of nutrient solution on growth, gas exchanges and yield of two gerbera cultivars in soilless system. **Acta Horticulturae**, v. 609, p. 165-171, 2003.

ROUDE, N; NELL, T. A.; BARRETT, J. E. Nitrogen source and concentration, growing medium, and cultivar affect longevity of potted chrysanthemums. **HortScience**, v. 26, n. 1, p. 49-51, 1991.

SAVVAS, D.; GIZAS, G. Response of hydroponically grown gerbera to nutrient solution recycling and different cation ratios. **Scientia Horticulturae**, v. 96, p. 267-280, 2002.

SORATTO, R.P.; CARVALHO, M,A.C. de; ARF, O. Teor de clorofila e produtividade do feijoeiro em razão da adubação nitrogenada. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.39, n.9, p.895-901, set. 2004.

ZHENG, Y.; GRAHAM, T; RICHARD, S; DIXON, M. Potted gerbera production in a subirrigation system using low-concentration nutrient solutions. **HortScience**, v. 39, n. 6, p. 1283-1286, 2004.

PALAVRAS-CHAVE: *Gerbera jamesonii*, nutrição de plantas, fertirrigação, clorofilômetro.

**Avaliação do crescimento da raiz na cultura da gérbera (*Gerbera jamesonii*, var. cherry) cultivada em vaso submetida a diferentes níveis de condutividade elétrica.**

Sanches, Luiz Vitor Crepaldi<sup>1</sup>; Mota, Poliana Rocha D'almeida<sup>2</sup>, Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus de Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7169, email: [luzvitorsanches@fca.unesp.br](mailto:luzvitorsanches@fca.unesp.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus de Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7169, email: [polimota@yahoo.com.br](mailto:polimota@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP – Campus de Botucatu, Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7169, email: [rlvboas@fca.unesp.br](mailto:rlvboas@fca.unesp.br).

A condutividade elétrica (CE) é um indicativo da concentração de sais ionizados na solução, e pode auxiliar na dosagem dos nutrientes a serem aplicados no substrato. Os sais dissolvidos tornam o potencial osmótico ( $Y_o$ ) da solução do substrato mais negativo, e a adubação ideal será aqueles onde os limites da CE que a planta suporta não sejam ultrapassados. Muitas culturas sob condições de estresse salino, apresentam folhas de coloração verde azulada escura com maior espessura e cerosidade, enquanto as raízes mostram uma diminuição do alongamento e suberização, o que reduz a absorção de água e nutrientes. O presente trabalho teve como objetivo, quantificar o crescimento da raiz através da avaliação do Peso Fresco (PF) e Peso Seco (PS) da cultura da gérbera cultivar Cherry de acordo com os níveis de CE. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação no Departamento de Recursos Naturais – Área de Ciência do Solo na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrônomicas – Campus Botucatu/SP. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados formado por cinco tratamentos, quatro repetições, totalizando 20 parcelas. Os níveis de CE determinados na solução aplicada foram: 0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e 6,5 dS m<sup>-1</sup>. As soluções nutritivas foram aplicadas via fertirrigação, sendo monitorada a concentração de sais no substrato através de extratores de solução, onde era possível realizar as leituras de CE com o auxílio de um condutivímetro. Foram realizadas três pesagens durante o ciclo de produção da cultura, sendo na fase de formação, outra no início da floração e por fim no pleno florescimento, sendo respectivamente aos 28, 42 e 55 dias após o enraizamento. Em cada uma destas épocas corta-se as parte área das plantas e o sistema radicular era lavado e seco. Observa-se que houve um crescimento de raiz em função das épocas amostradas, sendo que o maior crescimento ocorreu entre 28 e 42 d.a.e onde a raiz mais se desenvolveu. De modo geral há uma tendência diminuição da massa fresca e seca da raiz em função do aumento da CE. O nível de CE de 0,5 dS m<sup>-1</sup> apesar de ter gerado maior massa de raiz, apresentou-se fora do padrão comercial em termos de coloração das folhas.

**PALAVRAS-CHAVES**

Fertirrigação; Adubação; Substrato; Cultivo; Flores.

## **Avaliação da qualidade pós-produção em cultivares de gérbera de vaso conduzidos com dois níveis de condutividade elétrica.**

Ludwig, Fernanda<sup>1</sup>; Fernandes, Dirceu Maximino<sup>1, 2</sup>; Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>1</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>1, 2</sup>; Laschi, Denise<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, Depto. de Recursos Naturais/Ciência do Solo, CEP: 18603-970, Botucatu, SP, email:fludwig@fca.unesp.br.

<sup>2</sup> Bolsista CNPQ.

<sup>3</sup> Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, Depto. de Produção Vegetal (Horticultura), CEP: 18603-970, Botucatu, SP.

### **INTRODUÇÃO**

A gérbera é uma planta herbácea pertencente à família Asteraceae, com inflorescência terminal em capítulo (Infoagro, 2005). O comprimento do pedúnculo define seu uso, sendo longo para flor de corte, e curtos, para flor de vaso. É uma importante flor de corte, produzida em toda a parte do mundo numa ampla faixa de condições climáticas (Singh & Mandhar, 2001).

A comercialização da gérbera de corte na América do Norte iniciou em 1920, entretanto, o primeiro cultivar selecionado para desenvolvimento em vaso foi introduzido no Japão, no início de 1980 (Rogers & Tjia, 1990).

As características relacionadas com a qualidade são diretamente afetadas pelas características de cultivo. Segundo Nell et al. (1997) o potencial para a qualidade das flores de vaso e a máxima longevidade são determinadas durante a produção, sendo que os fatores genéticos (cultivares), nutrição, práticas de irrigação, meio de crescimento e ambiente de cultivo são fatores de extrema importância no que tange a sua pós-produção. Dentre estes fatores, o autor cita que a nutrição é um dos principais que afetam a longevidade. Em muitas flores existe uma relação direta entre concentração de nutrientes e longevidade, onde altos níveis de fertilizantes reduzem a longevidade.

Roude et al. (1991) concordam que a prática da fertilização tem efeito significativo na longevidade de várias espécies de flores envasadas. O alto conteúdo de sais no substrato pode causar danos nas raízes e diminuir a manutenção da qualidade, com prematura senescência das flores e queda das folhas (ter Hell & Hendricks, 1995).

A qualidade diz como o produto atende ao objetivo ao qual está sendo usado, levando em consideração a aparência das flores e planta e características internas, como longevidade, sendo determinada pela interação entre o potencial genético e as condições de cultivo (Noordegraaf, 1994). Desse modo, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a longevidade pós-produção de quatro cultivares de gérbera de vaso, conduzidas com dois níveis de condutividade elétrica.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Vasos de gérbera foram conduzidos em casa de vegetação do Departamento de Recursos Naturais – Área de Ciência do Solo da FCA – UNESP/Botucatu, no período de 03 de maio a 03 de julho de 2006, adotando o delineamento experimental em blocos casualizados, com 5 repetições.

Os cultivares utilizados são provenientes da geração F1 do grupo Festival, da empresa Sakata®, sendo Cherry e Golden Yellow, pertencentes à Série Dark Eyes (centro escuro), e Salmon Rose e Orange, pertencentes à Série Light Eyes (centro claro).

As soluções nutritivas constaram de uma referência padrão, utilizada pela empresa Steltenpool, 100%, e uma diluição em 50% da mesma, com condutividades elétricas de 0,92 e 1,76 dS m<sup>-1</sup>, no período vegetativo e 1,07 e 2,04 dS m<sup>-1</sup>, no reprodutivo, para as soluções 50 e 100%, respectivamente. As soluções foram aplicadas manualmente, uma vez ao dia, até as plantas atingirem o ponto de comercialização, quando então foram levadas para sala

com temperatura ambiente, no Departamento de Produção Vegetal – Horticultura, para avaliação pós-produção.

A avaliação foi desenvolvida no período de 30 de junho a 02 de agosto, entretanto, cada vaso permanecia na sala por um período máximo de 21 dias. Como o ponto de comercialização não era atingido ao mesmo tempo, adotaram-se as segundas, quartas e sextas para que os vasos prontos fossem levados para a sala. O ponto de comercialização é atingido quando dois ou mais círculos de estames estão abertos com liberação de pólen (Lin & French, 1985).

Os vasos foram dispostos sobre bancadas, sem receber tratamento adicional, sendo apenas irrigados com água de torneira de dois em dois dias, objetivando-se apenas acompanhar a longevidade dos mesmos.

Avaliou-se o diâmetro de inflorescência, adotando-se duas medidas em pontos extremos, definidos como horizontal e vertical, sendo perpendiculares entre si, sendo apresentados os valores médios. Esta avaliação foi efetuada semanalmente, com auxílio de paquímetro digital da marca Starret. Adotou-se dia 0 (zero) como primeiro dia de análise.

No primeiro e último dia do experimento (dia 0 e dia 21), realizou-se a avaliação da altura de planta, padronizando-se para isto, a medida do ponto mais alto, efetuada com régua graduada em milímetros.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, empregando o esquema fatorial 4 x 2 x 4 (4 cultivares, 2 soluções e 4 dias de análise), para o diâmetro de inflorescência e 4 x 2 x 2 (4 cultivares, 2 soluções e 2 dias de análise), para a altura de planta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se, de maneira geral, que Cherry e Salmon Rose foram os cultivares com diâmetro de inflorescência superior, em grande parte das datas analisadas (Tabela 1). Goldsberry & Lang (1987), também verificaram que o diâmetro da inflorescência varia de acordo com o cultivar.

Segundo Noordegraaf (1994), o diâmetro de inflorescência é uma medida de qualidade externa de flores. Os cultivares tiveram redução no diâmetro da inflorescência ao final do período de análise. Este decréscimo ocorreu principalmente pelo murchamento e abscisão das pétalas ao final do período de avaliação, onde a qualidade já não era adequada. Entretanto, Cherry manteve o mesmo diâmetro inicial, apesar do seu aspecto mostrar-se impróprio para comercialização. Nos tratamentos com as diferentes soluções, a redução do diâmetro também foi observada.

Tabela 1. Valores médios para diâmetro de inflorescência, e altura de haste, nos diferentes dias de análise. Botucatu, SP. 2006.

Cultivar	Diâmetro de inflorescência				Altura	
	Dias de análise				0	21
	0	7	14	21		
	-----mm-----				-----cm-----	
Cherry	92,8abA	97,5abA	93,3a A	86,1 aA	29,8abA	32,1aA
Golden Yellow	87,7b A	87,7b A	81,1b AB	71,1 bB	30,0abA	31,8aA
Salmon Rose	103,1a A	104,2a A	94,2a A	71,8 bB	32,9 a A	31,8aA
Orange	90,0b A	91,4b A	83,6abAB	73,5 bB	28,2 b B	31,1aA
Solução						
50%	96,3aA	97,2aA	89,3aA	77,3aB	30,7aA	32,5aA
100%	91,5aA	93,2aA	86,8aA	74,0aB	29,7aA	31,0aA

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %, sendo minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas.

Comportamento diferenciado entre cultivares foi observado em cada solução (Tabela 2), sendo que na solução 50%, o menor diâmetro foi obtido em Golden Yellow e na solução



100%, em Orange. De maneira geral, os cultivares apresentaram maior diâmetro quando conduzidos na solução 50%, exceto para Golden Yellow. Isto significa que, para manter diâmetros maiores, o que é adequado para as plantas de gérbera por melhorarem seu aspecto visual, a solução 50% é suficiente para a maioria dos cultivares.

A solução 100% não proporcionou maiores efeitos de qualidade nas plantas, como durabilidade, que se manteve idêntica nas duas soluções. Sonneveld et al. (1999) verificaram que a vida de vaso de gérbera não foi afetada pela salinidade. Nell et al. (1997) constataram que alguns cultivares de crisântemo têm sua longevidade aumentada quando a fertilização é terminada três semanas antes do ponto de comercialização, enquanto outras, diminuem sua longevidade, nestas condições. Isto indica que alguns cultivares são favorecidos positivamente com a redução da salinidade no meio de cultivo.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre cultivares e soluções nutritivas, para o diâmetro de inflorescência. Botucatu, SP. 2006.

Cultivar	Diâmetro flor	
	Solução 50%	Solução 100%
	-----mm-----	
Cherry	94,76 ab A	90,11 a A
Golden Yellow	77,75 c B	86,11 ab A
Salmon Rose	98,05 a A	88,55 ab B
Orange	88,52 b A	80,74 b B

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %, sendo minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas.

Maior altura de planta foi constatada em Salmon Rose, no primeiro dia de avaliação. Esta variável praticamente se manteve até o final da avaliação, exceto para Orange, o qual teve sua altura aumentada. Diferenças de altura entre cultivares foram encontradas por Syros et al. (2001), Goldsberry & Lang (1987) e Singh & Mandhar (2001).

As soluções nutritivas não promoveram efeito na altura da planta, apesar de ocorrer dobra de haste principalmente em plantas fertirrigadas com a solução 50%. Savvas et al. (2002) verificaram redução na altura de hastes de gérbera, em altos níveis de condutividade elétrica (3,2 dS m<sup>-1</sup>). Joiner & Poole (1967) e Stringheta (1995), também observaram redução no tamanho de plantas de crisântemo com o aumento dos sais solúveis no ambiente da raiz.

Segundo Noordegraaf (1994) a estabilidade da cor dentro de ambientes internos é uma característica importante de qualidade. Observou-se que o cultivar Salmon Rose apresentou perda de intensidade na cor das pétalas durante o período experimental, reduzindo assim sua qualidade.

À medida que transcorria o tempo da pós-produção, os cultivares foram perdendo qualidade, chegando aos 21 dias sem padrão de comercialização, tendo todas as plantas defeitos como queimadura das pétalas, murchamento e abscisão das pétalas.

## CONCLUSÃO

A manutenção das características de qualidade ocorreu até os 14 dias em todos os cultivares e soluções nutritivas, não sendo mantidas após este período de armazenamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOLDSBERRY, K.L.; LANG, R.C. Response of gerbera to root zone heating in soil and gravel substrates. **HortScience**, v. 22, n. 4, p. 595-597, 1987.

INFOAGRO. **El cultivo de la gerbera**. Disponível em: <<http://www.infoagro.com/flores/flores/gerbera.htm>>. Acesso em: jun. 2005.

JOINER, J. N.; POOLE, R. T. Relationship of fertilization frequency to chrysanthemum yield and nutrient levels in soils and foliage. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v. 90, p. 397-402, 1967.

LIN, W. C.; FRENCH, C. J. Effects of supplementary lighting and soil warming on flowering of three gerbera cultivars. **HortScience**, v. 20, n. 2, p. 271-273, 1985.

NELL, T.A.; BARRETT, J.E.; LEONARD, R.T. Production factors affecting postproduction quality of flowering potted plants. **HortScience**, v. 32, n.5, p. 817-819. 1997.

NOORDEGRAAF, C.V. Production and marketing of high quality plants. **Acta Horticulturae**, n. 353, p. 134-147, 1994.

ROGERS, M.N.; TJIA, B.O. **Gerbera production**. Timber Press Growers handbook series, v. 4, 1990. 116 p.

ROUDE, N.; NELL, T.A.; BARRETT, J.E. Nitrogen source and concentration, growin medium, and cultivar affect longevity of potted chrysantemums. **HortScience**, v. 26, n. 1, p. 49-51, 1991.

SAVVAS, D.; MANOS, G.; KOTSIRAS, A.; SOUVALIOTIS, S. Effects of silicon and nutrient induced salinity on yield flower quality and nutrient uptake of gerbera grown in a closed hydroponic system. **Journal of Applied Botany**, v.76, n. 5-6, p. 153-158. 2002.

SINGH, K. P.; MANDHAR, S. C. Performance of exotic cultivars of gerbera (*Gerbera jamesonii*) under low cost naturally ventilated greenhouse environment. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 71, n. 4, p. 244-248, 2001.

SONNEVELD, C.; BAAS, R.; NIJSSEN, H.M.C. ; HOOG, J. Salt tolerance of flower crops grown in soilless culture. **Journal of Plant Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 1033-1048, 1999.

STRINGHETA, A. C. O. **Avaliação de variedades de crisântemo em vaso, em substratos contendo composto de lixo urbano**. 1995. 72 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SYROS, T.; ECONOMOU, A.; EXARCHOU, E.; SCHMIDT, U. Flower and growth evaluation of gerbera cultivated on perlite in an open hydroponic system. **Acta Horticulturae**, v. 548, p. 625- 630, 2001.

ter HELL, B.; HENDRIKS, L. The influence of nitrogen nutrition on keeping quality of pot plants. **Acta Horticulturae**, v.405, p. 138-147. 1995.

PALAVRAS-CHAVE: *Gerbera jamesonii*, plantas ornamentais, longevidade, qualidade.

**Avaliação do índice relativo de clorofila na cultura da gérbera (*Gerbera jamesonii*, var. salmon) cultivada em vaso submetido a diferentes níveis de condutividade elétrica por fertirrigação.**

Sanches, Luiz Vitor Crepaldi<sup>1</sup>; Mota, Poliana Rocha D'almeida<sup>2</sup>, Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus de Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7169, email: [luizvitorsanches@fca.unesp.br](mailto:luizvitorsanches@fca.unesp.br); <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus de Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7169, email: [polimota@yahoo.com.br](mailto:polimota@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Professor da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP – Campus de Botucatu, Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7169, email: [rlvboas@fca.unes.br](mailto:rlvboas@fca.unes.br).

Descoberta pelo escocês Robert Jameson em Transvaal na África do Sul no ano de 1880, rapidamente tornou-se uma cultura comercial, estando atualmente em destaque a América do sul como maior região produtora de Gérbera de corte e em vaso. O presente trabalho teve como objetivo, quantificar o Índice Relativo de Clorofila (IRC) na cultura da gérbera cultivar Salmon de acordo com os níveis de Condutividade Elétrica (CE). As leituras do IRC foram realizadas, tanto na região do ápice, como na base da folha, através do aparelho clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Co, Japão), tomando dois pontos por região, um de cada lado da folha, evitando nervuras. O aparelho avalia a intensidade do verde da folha, medindo-se as ondas de luz absorvidas e não absorvidas pela molécula de clorofila. Com estes dois valores, o aparelho calcula o índice SPAD que, normalmente, é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação no DRN/Ciência do Solo na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à UNESP – FCA – Campus Botucatu/SP. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados formado por cinco tratamentos, quatro repetições, e 4 parcelas por repetição, totalizando 80 parcelas. Os níveis de CE determinados na solução aplicada foram: 0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e 6,5 dS m<sup>-1</sup>. As soluções nutritivas foram aplicadas via fertirrigação, sendo monitorada a concentração de sais no substrato através de extratores de solução. Foram realizadas 3 leituras durante o ciclo de produção da cultura, sendo na fase de formação, outra no início da floração e por fim no pleno florescimento, sendo respectivamente aos 28, 42 e 55 dias após o enraizamento. Observou-se que os valores de IRC variaram em função das épocas e níveis de CE, sendo que o maior valor para a primeira amostragem foi de 54 para o nível de 5,0 dS m<sup>-1</sup>. Na segunda, no entanto, o valor foi de 59,3 para 6,5 dS m<sup>-1</sup>, e para o terceiro de 60,8 para o mesmo nível de CE. Entretanto, os valores máximos da segunda e terceira amostragem, obtidos a 6,5 dS m<sup>-1</sup>, não ultrapassam 5% dos valores obtidos à 5,0 dS m<sup>-1</sup>, assim pode-se considerar que não houve diferença entre os níveis de CE de 5,0 e 6,5 dS m<sup>-1</sup>. Podendo-se sugerir que a CE de 5,0 dS m<sup>-1</sup> foi mais adequada a cultura.

**PALAVRAS-CHAVES**

Salinidade; Cultivo; Adubação; Clorofilômetro; Condutímetro; Flores.

## **Aclimatização de híbrido de orquídea (*Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*) em substratos de origem industrial e vegetal.**

Lima, Gileno Vitor Mota<sup>1</sup>; Andrade, Gilvany Rodrigues<sup>1</sup>; Ulisses, Cláudia<sup>2</sup>; Melo, Gemima Manço<sup>3</sup>; Paulino, Patrícia Maria Souza<sup>3</sup>; Willadino, Lília<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduando do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manuel de Medeiros s/n, Bairro Dois Irmãos CEP: 52171-900 Recife, PE, fone: (81) 3320-6364/6366, e-mail: [vitorrock@superig.com.br](mailto:vitorrock@superig.com.br); e-mail: [gilvany@ig.com.br](mailto:gilvany@ig.com.br)  
<sup>2</sup>Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. da Unidade Acadêmica de Garanhuns, UFRPE. Av. Bom Pastor s/n Bairro Mundaú, CEP:55296-190 Garanhuns, PE, e-mail: [claudia@nlink.com.br](mailto:claudia@nlink.com.br); <sup>3</sup>Graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, UFRPE, bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq, e-mail: [gemimamelo81@yahoo.com.br](mailto:gemimamelo81@yahoo.com.br); e-mail: [patriciaso\\_1@hotmail.com](mailto:patriciaso_1@hotmail.com); <sup>4</sup>Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. do Departamento de Biologia, UFRPE, e-mail: [lilia@pq.cnpq.com.br](mailto:lilia@pq.cnpq.com.br).

### **INTRODUÇÃO**

A família Orchidaceae é uma das maiores dentro das Angiospermas contendo cerca de 700 gêneros e 35.000 espécies (Ruschi, 1997). As orquídeas em geral, são plantas epífitas (raízes aéreas), utilizando o hospedeiro (árvores) apenas para fins de fixação. Quando cultivadas, as orquídeas epífitas desenvolvem-se melhor em substratos de textura relativamente grossa e de drenagem livre, proporcionando as raízes, livre acesso ao ar e à luz, ocorrendo da mesma forma na natureza (Bicalho, 1969). O substrato serve de suporte para a planta e é a base para um bom cultivo de orquídeas. As qualidades básicas e indispensáveis de um substrato são: consistência para suporte, boa aeração das raízes, capacidade de retenção de água, pH adequado, entre outras (Silva, 2000; Souza, 2003).

O processo de aclimatização consiste em retirar as plântulas da condição *in vitro* e transferi-las para a condição *ex vitro* (telado), controlando os fatores que possam limitar o seu desenvolvimento, tais como: temperatura, luminosidade, umidade, substrato e nutrientes (Grattapaglia & Machado, 1990). Esta transição de condições ambientais torna-se um fator limitante na cultura assimbiótica, uma vez que as orquídeas passam de uma condição heterotrófica para uma condição autotrófica. Durante a fase de aclimatização das orquídeas, torna-se necessária a utilização de substratos que permitam o estabelecimento vegetativo dessas plantas. Dentre os substratos mais utilizados pelos orquidófilos se encontra o xaxim. O xaxim é obtido a partir do desfibramento do caule do samambaiçu (*Dicksonia seilowiana*), o qual leva de 15 a 18 anos para atingir o estágio ideal para a extração (Lorenzi & Souza, 2001). Tendo em vista a grande utilização do xaxim e seus derivados, as autoridades ambientais brasileiras estão adotando medidas para conter a sua extração, uma vez que esta planta está na sua lista das espécies vegetais ameaçadas de extinção. No Brasil, há vários materiais com potencial de uso como substratos, entretanto, a falta de informações e de testes que comprovem a eficácia, limitam a exploração destes (Backes & Kämpf, 2000). Resíduos sólidos industriais são grupos de materiais de vegetais e de animais, constituídos de substâncias oriundas de produtos que sofreram um beneficiamento industrial. Atualmente os resíduos industriais sólidos, após biodegradação, são utilizados como fertilizantes, trazendo o benefício da reciclagem da matéria orgânica e de seus nutrientes (Kiehl, 1985).

Visando minimizar os impactos ambientais, faz-se necessária à utilização de substratos alternativos para a aclimatização e o cultivo de orquídeas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes substratos utilizados no desenvolvimento do híbrido de orquídea (*Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*) proveniente do cultivo *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no telado de aclimatização do Depto de Química da UFRPE utilizando plântulas do híbrido (*Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*) provenientes do cultivo *in vitro*. As mudas foram aclimatizadas em bandejas de plástico, contendo substratos correspondendo aos seguintes tratamentos: T1: Resíduo industrial; T2: Casca de *Pinnus*; T3: Resíduo industrial e casca de *Pinnus*; T4: Fibra de coco; T5: Casca de *Pinnus* e fibra de coco; T6: Resíduo industrial e fibra de coco, na proporção de 1:1, e mantidas em telado sobre condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade. A rega foi realizada diariamente.

Os parâmetros avaliados no início do experimento foram pH do substrato, número de raízes, altura da planta, número de folhas e área foliar. A cada 15 dias avaliou-se, a altura da planta, o número de folhas e a área foliar e aos 120 dias, foram avaliados os mesmos parâmetros do início do experimento.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente por meio do programa Assistat 7.4 beta, utilizando o teste de Tukey ao nível de 5%, para a comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, o resíduo industrial sólido (T1) foi o substrato que proporcionou menor taxa de sobrevivência das orquídeas (6,66%), enquanto que a casca de *Pinnus* (T2), a fibra de coco (T4) e a mistura casca de *Pinnus* e fibra de coco (T5) proporcionaram 100% de sobrevivência das mudas no processo de aclimatização. Já no tratamento T3 o percentual de sobrevivência das mudas foi de 60% e no tratamento T6 de 20%.

Em relação aos parâmetros altura e número de raízes o tratamento T2 foi superior ao longo dos 120 dias (Figuras 1A e 1B).

Aos 120 dias, os tratamentos T2 e T4 apresentaram maior área foliar comparada aos demais tratamentos (Figura 1C). Enquanto que, para o número de folhas, o tratamento T3 (Resíduo industrial e casca de *Pinnus*) obteve diferença estatisticamente significativa comparando com os demais tratamentos (Figura 1D).

Verificou-se que o tratamento T1 foi o substrato que apresentou decréscimo em relação ao pH, tendo como valor inicial (5,4) e após o período de 120 dias (4,8) (Figura 2); fato este semelhante ao que ocorre com o xaxim, que se decompõe em no máximo quatro anos de uso, tornando-se ácido (Rodrigues, 2001).

Este decréscimo acentuado no pH é decorrente da decomposição da matéria orgânica que afetam duas propriedades relativas à acidez do substrato: pH e poder tampão do solo, que é a sua resistência à variação de pH. A acidificação decorre da formação de ácidos orgânicos e reações de nitrificação de nitrogênio amoniacal geradas na mineralização de nitrogênio orgânico. Simultaneamente, o acúmulo de matéria orgânica pode alterar a capacidade de troca de cátions, afetando o poder tampão (Boeira, 2006).

Os substratos casca de *Pinnus* e fibra de coco mantiveram o nível do pH entre 5,8 e 5,7 respectivamente, durante os 120 dias da aclimatização (Figura 2). Esse fato pode ter contribuído para que as plântulas cultivadas nesses substratos demonstrassem melhor desenvolvimento, pois o substrato ácido desfavorece a absorção iônica, de cátions como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , contribuindo também para uma elevada concentração de alumínio tóxico  $\text{Al}^{3+}$ , cuja absorção excessiva pode causar toxidez à planta, e até a morte do vegetal. Tanto o pH ácido como o pH básico, afeta absorção de fosfatos, pois podem transformar-se em formas insolúveis e inaproveitáveis para as plantas, devido a alterações na carga iônica, como fosfatos de ferro ou de alumínio em pH ácido, e de fosfato de cálcio em pH alto (Marengo & Lopes, 2005). Segundo, Kämpf (2000), a faixa de pH considerada ideal para *Cattleya*, é entre 5,0 e 5,5.

Observou-se que, em relação aos materiais testados, os tratamentos contendo casca de *Pinnus* e fibra de coco (T2, T4, T5) mostraram-se superiores em relação ao percentual de sobrevivência comparando com os demais tratamentos.

O tratamento contendo casca de *Pinnus*, obteve melhores resultados em todas as variáveis estudadas, com exceção do número de folhas; resultados semelhantes foram observados em *Oncidium sarcodes* e *Schomburgkia crispata* (Rego et al, 2000).

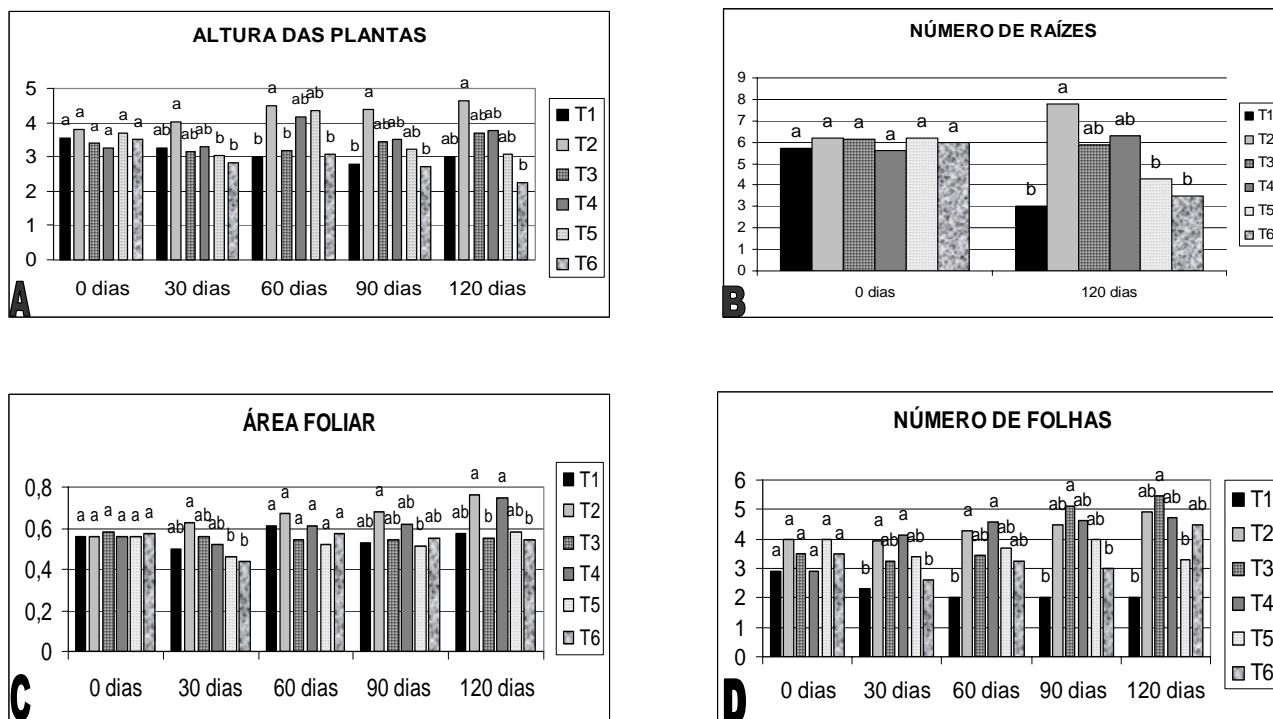


Figura 1. Desenvolvimento de plantas do híbrido (*Cattleya labiata* x *Cattleya granulosa*) na aclimatização com diferentes substratos: (1A): Altura das plantas; (1B): Número de raízes; (1C): Área foliar; (1D): Número de folhas, UFRPE, 2007.

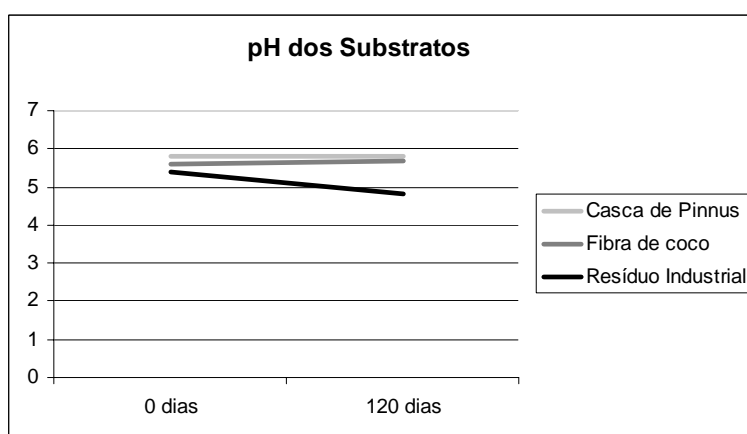


Figura 2. Nível de pH nos substratos utilizados na aclimatização do híbrido (*Cattleya labiata* x *C. granulosa*), UFRPE, 2007.

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, a casca de *Pinnus* é o substrato mais indicado para o cultivo do híbrido (*Cattleya labiata* X *Cattleya granulosa*) durante a fase de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACKES, M.A.; KÄMPF, A.N. Substrato à base de composto de lixo urbano para a produção de plantas ornamentais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n.5, p. 753-758, 1991.

BICALHO, H. D. Subsídios à orquidocultura paulista. **Bol. Inst. Bot.** São Paulo, nº 6, 1969.

BOEIRA, C.R. Lodo de esgoto como fertilizante em culturas anuais: acidez do solo. **Embrapa Meio Ambiente**. Jaguariúna, 2006.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. *In*: TORRES, A C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília DF: ABCTP/Embrapa. p. 99-170, 1990.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba RS: Agropecuária. p. 176-188, 2000.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes Orgânicos**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1985.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais do Brasil**. Editora Nova Odessa: Plantarum Ltda, 2001.

MARENCO, R.A.; LOPES, F.N. **Fisiologia Vegetal**. Viçosa: UFV, 328p. 2005.

REGO, L. V. Desenvolvimento vegetativo de genótipos de orquídeas brasileiras em substratos alternativos ao xaxim. **Revista Bras. hort. Ornam.** Campinas, v. 6, n. 1/2, p. 75-79, 2000.

RODRIGUES, V.T. Substratos e Cultivo. **Boletim da Coordenadoria das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB)**. Rio de Janeiro, n. 44, p. 50-54, 2001.

RUSCHI, A. **Orquídeas do Estado Espírito Santo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1997.

SILVA, F. S. C. Haverá algum substrato que substitua o xaxim?. **Boletim da Coordenadoria das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB)**. Rio de Janeiro, n. 44, p. 68-76, 2000.

SOUZA, M. Muito além do xaxim. **Natureza**, São Paulo, n.2, p. 32-37, 2003.

## PALAVRAS-CHAVES

Assimbiótica; biodegradação; epífitas; resíduo sólido industrial.

## Concentração de fósforo em crisântemo (*Dendrathera grandiflorum* T., salmon reagan) no período do verão.

Silva, Juliana Rodrigues Alves<sup>1</sup>; Fernandes, Eliana Paula<sup>2</sup>; Souza, Eli Regina Barboza de<sup>2</sup>, Vera, Rosângela<sup>2</sup>; Leandro, Wilson Mozena<sup>2</sup>; Oliveira Júnior, Juarez Patrício<sup>2</sup>; Costa, Gisele Lemos<sup>1</sup>; Azevedo Júnior, Hudson Bento<sup>1</sup>; Assis, Diego Frutuoso Correia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal de Goiás -Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás – email: [julianarodrigues8@hotmail.com](mailto:julianarodrigues8@hotmail.com); [gi.lemos@hotmail.com](mailto:gi.lemos@hotmail.com); [hudsonazevedo.agro@gmail.com](mailto:hudsonazevedo.agro@gmail.com); [dfcagro@gmail.com](mailto:dfcagro@gmail.com) <sup>2</sup>Docentes da Universidade Federal de Goiás - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás, fone (62)3521-1539, emails: [elianafernandes@agro.ufg.br](mailto:elianafernandes@agro.ufg.br), [eliregina1@gmail.com](mailto:eliregina1@gmail.com), [vera@agro.ufg.br](mailto:vera@agro.ufg.br); [wilson-ufg@bol.com.br](mailto:wilson-ufg@bol.com.br); [juarez@agro.ufg.br](mailto:juarez@agro.ufg.br).

## INTRODUÇÃO

A produção de flores e de plantas ornamentais é uma atividade em expansão, com potencial de crescimento e de exploração competitiva no mercado brasileiro, em função da biodiversidade existente e da amplitude de climas e solos, que possibilitam cultivos diversificados.

A região Centro-Oeste detém cerca de 8% do consumo no mercado de plantas ornamentais, e não apresenta produção significativa. Suas principais cidades são Goiânia e Brasília, que, além de representarem pólos regionais, são constituídas de um público consumidor altamente qualificado (Castro, 1998).

Entre as plantas cultivadas, o crisântemo ocupa lugar de destaque, principalmente no Extremo Oriente (China e Japão), região de origem. A palavra crisântemo significa “flor dourada”, advinda do grego “chrysos” (ouro) e “ánthemon”, (flor), existindo relatos de seu cultivo há mais de 2.000 anos como flor de jardim na Ásia, sendo considerado a flor nacional do Japão, onde é cultivada há séculos (Okuyama & Saito, 1992). O fósforo atua no processo de transferência de energia. O seu suprimento adequado, desde o início do desenvolvimento vegetativo, é importante para a formação dos primórdios das partes reprodutivas (Raij, 1991), particularmente nas plantas ornamentais.

Este trabalho teve como objetivo estudar a concentração de fósforo, no período de verão, na cultura do crisântemo (Salmon Reagan) em função do estágio de desenvolvimento da planta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período de verão em condição de ambiente protegido. A propriedade está localizada na Latitude 16°29'20" Sul, Longitude 49°18'39" Oeste Gr, a 823 m de altitude. O clima do local, segundo o Sistema Internacional de Köppen, é classificado como Tropical Chuvoso (Aw) cujas condições climáticas podem afetar a absorção de nutrientes e a exigência nutricional de crisântemos de corte.

Trabalhou-se com a cultura do crisântemo para corte, cultivar Salmon Reagan, que apresenta inflorescência de coloração salmão, do tipo margarida e velocidade de reação (período, avaliado em semanas, necessário entre o início da indução do florescimento até o início da abertura das flores) de 8,0 semanas de dias curtos para florescer.

As estacas apicais enraizadas de *D. grandiflorum* com 30 dias de idade foram obtidas já tratadas com hormônio (AIB) com concentração de 1500 ppm e transplantadas para canteiros com dimensões de 1,40 m de largura, 3,0 m de comprimento e 0,15 m de altura. O espaçamento entre os canteiros foi de 0,60 m, sendo que a densidade de plantio foi de 80 plântulas.m<sup>-2</sup>.

Nesses canteiros foram distribuídos 133 g.m<sup>-2</sup> de yorim, acrescidos de 150 g.m<sup>-2</sup> da



formulação 5:25:15 Como fonte de N, P e K foram usados os adubos químicos: uréia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente.

As plantas foram expostas a dias longos com iluminação artificial (23 h até 2 h), intercalado com quinze minutos de luz para cada quinze minutos de escuro. A iluminação artificial foi suspensa quando as plantas atingiam 25 a 30 cm de altura. Em seguida foram aplicados dias curtos (11 horas de luz natural) até o início da abertura dos botões florais.

Foram considerados como tratamentos partes da planta (folha, haste, inflorescência e planta) e estágio fenológico da cultura (45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias após o transplante).

As plantas foram preparadas e separadas em folha, haste e inflorescência e colocadas em estufa (65-70°C, 48 horas). Os teores de fósforo foram determinados por espectrofotometria, segundo metodologia de Malavolta *et al.* (1989).

O delineamento experimental foi inteiramente causalizado, em arranjo *split-plot* (parcelas subdivididas no tempo), sendo as partes da planta as parcelas (hastes, folhas e inflorescências) e as sub-parcelas sendo o estágio de desenvolvimento (aos 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias de idade da planta), com quatro repetições. Foram consideradas quatro plantas úteis como parcela.

Realizou-se a análise de variância e teste de Tukey a 5 %. A variável estudada foi concentração de fósforo nas folhas, hastes, inflorescências e planta de crisântemo no período de verão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na Tabela 1 que a planta inteira apresentou a mesma tendência dos órgãos que a constituíram, havendo decréscimo significativo de P, especialmente após 105 dias, apresentando concentrações condizentes com a faixa encontrada (0,15 % a 1,00 %) em muitas culturas ornamentais, de acordo com Jones Júnior *et al.* (1991).

As reduções nas concentrações de P na planta ocorreram em virtude do efeito de diluição, causado pelo aumento na produção de matéria seca. De modo geral, com o desenvolvimento da planta, a concentração do nutriente decresce.

Observa-se na folha concentração de P de 0,438 dag.kg<sup>-1</sup> a 0,630 dag.kg<sup>-1</sup> durante o ciclo da cultura. Valor encontrado por Lima & Haag (1989) para o crisântemo foi de 0,22 dag.kg<sup>-1</sup> e para áster de 0,43 a 0,74 dag.kg<sup>-1</sup>. Verifica-se que a haste apresentou concentrações de 0,42 a 0,68 dag.kg<sup>-1</sup> ao longo do ciclo da cultura. Já a inflorescência foi o órgão que apresentou a concentração de P (0,10 a 1,04 dag.kg<sup>-1</sup>). Desta forma, destaca-se a importância deste elemento no desenvolvimento reprodutivo do crisântemo.

Tabela 1. Concentração média de P nos diferentes órgãos da planta de crisântemo (*Dendrathera grandiflorum*, Salmon Reagan), em função do estágio fenológico, no inverno e verão. Santo Antônio de Goiás, GO.

Estádio Fenológico (dias)	Folha	Haste	Inflorescência	Planta inteira	Teste F	C.V (%)
45	0,63 Aa	0,68 Aa	0,00 Bb	0,66 Aa	32,33**	23,49
60	0,56 Aabc	0,64 Aa	0,00 Bb	0,58 Aab	87,97**	14,29
75	0,62 Aab	0,58 Aa	0,00 Bb	0,60 Aab	255,55**	8,36
90	0,53 Abc	0,48 Aa	0,00 Bb	0,50 Ab	355,45**	7,10
105	0,47 Bc	0,48 Ba	1,04 Aa	0,55 Bab	174,74**	6,46
120	0,44 Bc	0,42 Ba	0,10 Aa	0,49 Bb	53,12**	12,84
Teste F	9,25**	2,78 <sup>ns</sup>	165,82**	3,93*		
C.V. (%)	10,79	20,28	24,07	11,45		

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (entre órgãos), na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; <sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra

minúscula (idade da planta), dentro da coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem concluir que a concentração de P decresce em função do estágio fenológico da cultura. Ocorre maior demanda de fósforo pela inflorescência de crisântemo aos 105 dias de idade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C.E.F.; Cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.4, n.1/2, p.1-46, 1998.

JONES JUNIOR.; BENTON, J.; WOLF, B.; MILLS, H.A. **Plant analysis handbook**. Georgia: micro-macro publishing, 1991. 213 p.

LIMA, A.M.P.L.; HAAG, P. Absorção de macronutrientes pelo crisântemo (*Chrysanthemum morifolium*) cultivar Golden Polaris. In: HAAG, H.P.; MINAMI, K.; LIMA, A.M.L.P. nutrição de algumas espécies ornamentais. Campinas: **Fundação Cargill**, p. 64-102,1989.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. POTAFÒS. Piracicaba, 1989. 201 p.

OKUYAMA, M.H.; SAITO, I. Crisântemo (*Chrysanthemum* sp.) In: CASTRO, C.E.F.; ANGELIS, B.L.D.; MOURA, L.P.P.; SILVEIRA,R.B.A.; ANGELIS NETO, G.; SATO, N.T. **Manual de floricultura**. UEM, Maringá, 1992. 279 p.

RAIJ, B. Van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Instituto da Potassa e Fosfato. 1991. 343 p.

## PALAVRAS-CHAVES

*Dendrathera grandiflorum*; ornamental; nutrição mineral.

## Acúmulo de cálcio em crisântemo (*Dendrathera grandiflorum* T., salmon reagan) no período do inverno.

VIEIRA, Geila Marques<sup>1</sup>; FERNANDES, Eliana Paula<sup>2</sup>; SOUZA, Eli Regina Barboza de<sup>2</sup>, VERA, Rosângela<sup>2</sup>; LEANDRO, Wilson Mozena<sup>2</sup>, JUNIOR, Manoel Soares, CALIARI, Márcio; ROSA, Juliano Queiroz Santana.

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal de Goiás - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás – email: [geilapaula@gmail.com](mailto:geilapaula@gmail.com); [juliano\\_qsr@hotmail.com](mailto:juliano_qsr@hotmail.com) <sup>2</sup>Docentes da Universidade Federal de Goiás - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás, fone (62)3521-1539, emails: [elianafernandes@agro.ufg.br](mailto:elianafernandes@agro.ufg.br), [eliregina1@gmail.com](mailto:eliregina1@gmail.com), [vera@agro.ufg.br](mailto:vera@agro.ufg.br); [wilson-ufg@bol.com.br](mailto:wilson-ufg@bol.com.br) [manoel@agro.ufg.br](mailto:manoel@agro.ufg.br), [caliari@ig.com.br](mailto:caliari@ig.com.br).

### INTRODUÇÃO

O mercado internacional de flores e plantas ornamentais está em plena fase de expansão. A produção comercial que, de início, se encontrava restrita a alguns países europeus (Holanda, Itália e Dinamarca) e ao Japão, tem-se expandindo para outras regiões do mundo. O advento da globalização e a conseqüente procura por novos nichos de mercado, aliados à necessidade de redução dos custos produtivos, incentivou o cultivo de flores (corte e vaso) e plantas ornamentais em regiões de maior aptidão edafoclimática e disponibilidade de mão-de-obra (Stingheta *et al.*, 2002). O crisântemo produzido como flor de corte ou em vaso, é uma espécie ornamental extremamente importante e com destaque neste mercado.

O estado de Goiás tem características específicas quanto ao negócio de flores e plantas ornamentais, com extensas áreas de cerrado sob condições edafoclimáticas favoráveis e pontos estratégicos de comercialização, destaca-se tanto na produção de forrações como no cultivo de plantas tropicais (flores de corte, árvores e palmeiras) e floríferas como crisântemos. Apesar de todas estas condições favoráveis, um dos principais problemas para o desenvolvimento da floricultura brasileira, no entanto é a falta de informações técnicas sobre a condução dessas culturas em condições de clima tropical, principalmente quanto à adubação e à nutrição. Tais fatores têm grande impacto sobre a produção e qualidade do produto (Kampf *et al.*, 1990).

A nutrição mineral se faz durante todo o ciclo da planta. Baseado nas exigências nutricionais inter ou intra-específicas, pode-se, então, estimar a dose a ser fornecida em cada estágio de desenvolvimento, para se atingir um ótimo rendimento. Desta forma, a aplicação correta de nutrientes torna-se necessária para que sejam mantidos a fertilidade do solo e o rendimento das culturas, bem como para a obtenção de um produto mais uniforme e de melhor qualidade (Goto *et al.*, 2001). A deficiência de Ca foi descrita por Roorda Van Eysinga & Smilde (1980) em plantas de crisântemo como uma clorose aguda nas folhas e marrom nas margens. Após curto período, toda a borda da folha ficava bronzeada, ocorrendo o seu enrolamento para baixo.

Este trabalho teve como objetivo observar a marcha de acúmulo de cálcio, no período de inverno, na cultura do crisântemo (Salmon Reagan) em função do estágio fenológico da cultura.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período de inverno em condição de ambiente protegido. A propriedade está localizada na Latitude 16°29'20" Sul, Longitude 49°18'39" Oeste Gr, a 823 m de altitude. O clima do local, segundo o Sistema Internacional de Köppen, é classificado como Tropical Chuvoso (Aw) cujas condições climáticas podem afetar a absorção de nutrientes e a exigência nutricional de crisântemos de corte.

Trabalhou-se com a cultura do crisântemo para corte, cultivar Salmon Reagan, que apresenta inflorescência de coloração salmão, do tipo margarida e velocidade de reação (período, avaliado em semanas, necessário entre o início da indução do florescimento até o início da abertura das flores) de 8,0 semanas de dias curtos para florescer.

As estacas apicais enraizadas de *D. grandiflorum* com 30 dias de idade foram obtidas já tratadas com hormônio (AIB) com concentração de 1500 ppm e transplantadas

para canteiros com dimensões de 1,40 m de largura, 3,0 m de comprimento e 0,15 m de altura. O espaçamento entre os canteiros foi de 0,60 m, sendo que a densidade de plantio foi de 80 plântulas.m<sup>-2</sup>.

Nesses canteiros foram distribuídos 133 g.m<sup>-2</sup> de yorim, acrescidos de 150 g.m<sup>-2</sup> da formulação 5:25:15. Como fonte de N, P e K foram usados os adubos químicos: uréia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente.

As plantas foram expostas a dias longos com iluminação artificial (23 h até 2 h), intercalado com quinze minutos de luz para cada quinze minutos de escuro. A iluminação artificial foi suspensa quando as plantas atingiam 25 a 30 cm de altura. Em seguida aplicados dias curtos onze horas de luz natural até o início da abertura dos botões florais.

Foram considerados como tratamentos partes da planta (folha, haste, inflorescência e planta) e estágio fenológico da cultura (45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias após o transplantio).

As plantas foram preparadas e separadas em folha, haste e inflorescência e colocadas em estufa (65-70°C, 48 horas). Os teores de cálcio foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, segundo metodologia de Malavolta *et al.* (1989).

O delineamento experimental foi inteiramente causalizado, em arranjo *split-plot* (parcelas subdivididas no tempo), sendo as partes da planta as parcelas (hastes, folhas e inflorescências) e as sub-parcelas sendo o estágio de desenvolvimento (aos 45, 60, 75, 90, 105 e 120 dias de idade da planta), com quatro repetições. Foram consideradas quatro plantas úteis como parcela.

As exportações de nutrientes foram calculadas com base no conteúdo total na planta inteira (somatório de folhas, flores e hastes). Realizou-se a análise de variância e teste de Tukey a 5 %. A variável estudada foi acúmulo de cálcio nas folhas, hastes, inflorescências e planta de crisântemo no período de inverno.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crisântemo acumulou no final do ciclo 59,24 kg.ha<sup>-1</sup> (o que equivale a 74,05 mg de Ca por planta) no inverno, aos 120 dias (Figura 1). Valores inferiores ao observado por Pedrosa (1998) de 365 mg de Ca por planta de gipsofila e por Haag *et al.* (1985) de 253 mg de Ca por planta de cravo, sendo o máximo acúmulo observado aos 120 dias e superiores ao encontrado por Camargo (2001) em três ciclos de plantas de *Aster ericoides* (White master) com acúmulo de 14,54 kg.ha<sup>-1</sup>, 15,96 kg.ha<sup>-1</sup> e 8,60 kg.ha<sup>-1</sup> de Ca por planta, respectivamente.

De acordo com a Figura 1, o acúmulo de Ca foi crescente em todos os órgãos estudados, tendo a folha sido o órgão que mais acumulou este elemento, com máximo acúmulo aos 105 e 120 dias.

Não se observaram reduções desse elemento com o envelhecimento da folha ou de outro órgão, e o acentuado acúmulo verificado na planta inteira foi consequência do aumento do acúmulo nos demais órgãos, ao longo do período de crescimento. Não foram observados indícios de redistribuição de Ca, o que já era esperado, uma vez que o Ca é um dos elementos que menos circula na planta, já que apresenta mobilidade extremamente baixa ou nula no floema (Malavolta, 1980; Marschner, 1995). A haste e a inflorescência, no inverno, acumularam Ca de maneira crescente até os 120 dias (Figura 1). Segundo Katayama (1993), o K, N e Ca são extraídos em quantidades bem superiores ao P, Mg e S.

A dinâmica de absorção de nutrientes de uma cultura de ciclo curto difere da dinâmica de absorção de uma cultura perene, sendo os melhores resultados obtidos com aplicações mais freqüentes e em menores quantidades, permitindo reduzir as perdas de nutrientes, aumentando a eficiência do uso de fertilizantes e promovendo o aumento na produtividade do crisântemo.

Planta	$Y=77,292/(1+\exp(-(x-95,496)/ 20,621))$	$R^2 = 0,95$
Haste	$Y=32,437/(1+\exp(-(x-95,987)/ 14,782))$	$R^2 = 0,98$
Folha	$Y=28,941/(1+\exp(-(x-74,224)/ 18,887))$	$R^2 = 0,82$
Inflorescência	$Y=5,494/(1+\exp(-(x-105,583)/ 2,210))$	$R^2 = 0,93$

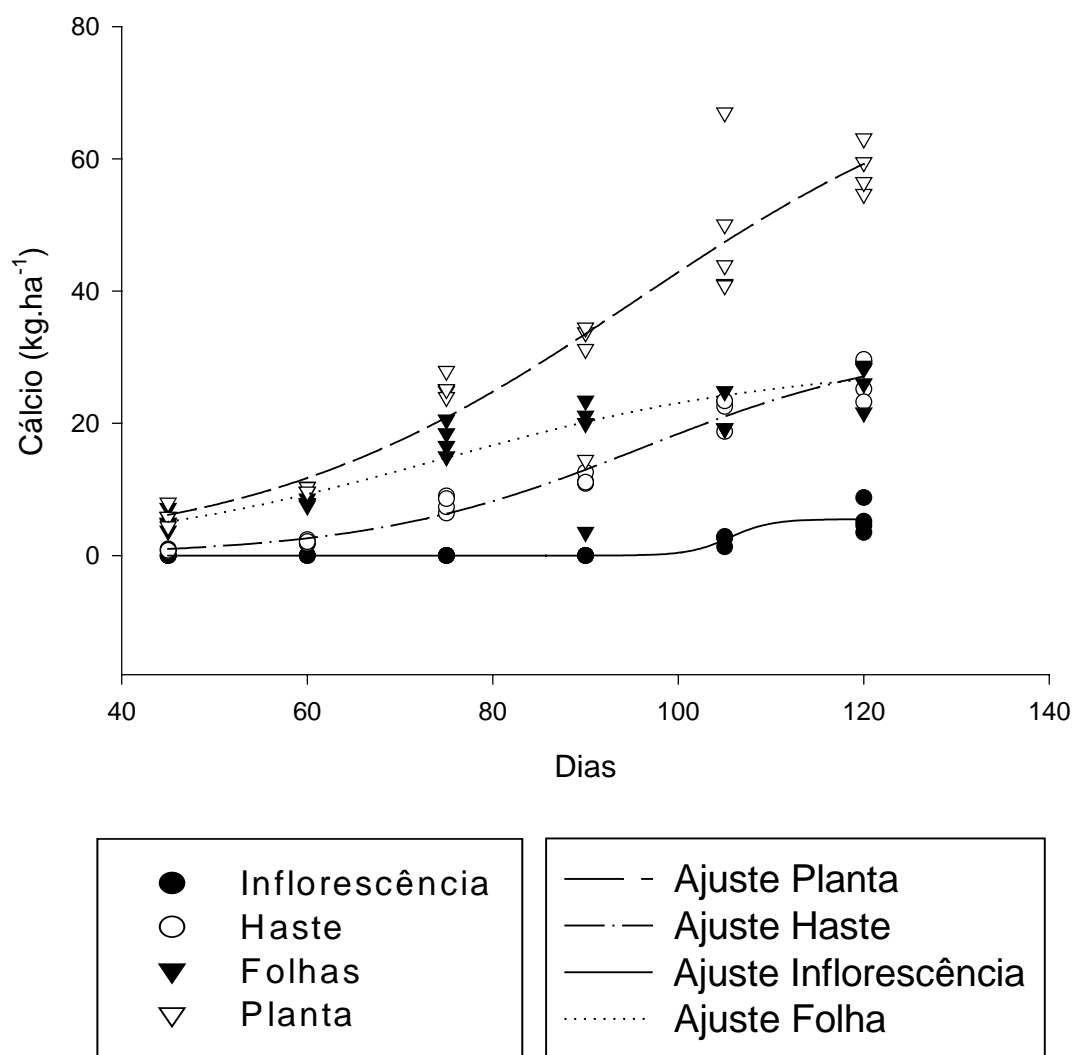


Figura 1. Cálcio extraído de diferentes órgãos (planta inteira, haste, folha e inflorescência) na variedade Salmon Reagan, avaliadas quinzenalmente em seis estádios fenológicos da cultura (média de quatro repetições, em dias), no inverno.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem concluir que o maior acúmulo de cálcio ocorre entre 105 e 120 dias de idade da planta. A maior demanda nutricional pelo cálcio pela cultura de crisântemo ocorre na folha > haste > inflorescência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMARGO, M.S. **Nutrição e adubação de *Aster ericoides* (White Máster) influenciando produção, qualidade e longevidade.** 2001. 107 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

GOTO, R.; GUIMARÃES, V.F.; ECHER, M.M. de. Aspectos fisiológicos e nutricionais no crescimento e desenvolvimento de plantas hortícolas. In FOLEGATTI, M.V.; CASARINI, E.; BLANCO, F.F.; BRASIL, R.P.C.; RESENDE, R.S. **Fertirrigação, flores, frutas e hortaliças.** Guaíba: Agropecuária, 2001. 336 p.

HAAG, H.P.; SARRUGE, J.R.; OLIVEIRA, G.D. Nutrição mineral de plantas ornamentais. XI Extração de macronutrientes e micronutrientes por sete espécies. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 1, 1980, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais, 1985, 48-49 p.

KAMPF, E.; BAJAK, E.; JANK, M.S. O Brasil no mercado internacional de flores e plantas ornamentais. **Informe-GEP/DESR**, v. 3, n. 4, p. 3-11, 1990.

KATAYAMA, M. Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão. In: FERREIRA, M.E.; CASTELLANE, P.D.; CRUZ, M.C.P. (Ed.). **Nutrição e adubação de hortaliças.** Piracicaba: POTAFOS, p.141-148, 1993.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980, 253 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** POTAFOS. Piracicaba, 1989. 201 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** NY: Academic Press, 1995. 889 p.

PEDROSA, M.W. **Crescimento e acúmulo de nutrientes pela *Gypsophila paniculata* L. em cultivo hidropônico.** Viçosa, MG, 1998. 70 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Viçosa, 1998.

ROORDA VAN EYSINGA, J.P.N.L.; SMILDE, K.W. **Nutritional disorders in chrysanthemums.** Wageningen. The Netherlands, Center for Agricultural Publishing and Documentation. 1980. 41 p.

STRINGHETA, A.C.O.; LÍRIO, V.S.; SILVA, C.A.B.; REIS, B.S.; AGUIAR, D.R.D. Diagnóstico do segmento de produção da cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais do Rio de Janeiro. **Revista brasileira de horticultura ornamental**, v. 8, n. 1-2, p. 77-90, 2002.

## PALAVRAS-CHAVES

*Dendrathera grandiflorum*; ornamental; nutrição mineral.

## **Crescimento da gérbera e produção de fitomassa seca em função de níveis de condutividade elétrica.**

Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>1,2</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>2</sup>; Ludwig, Fernanda<sup>2</sup>; Fernandes, Dirceu Maximino<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem; <sup>2</sup>Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, CEP: 18603-970, Botucatu, SP, fone (14) 3811-7218, e-mail: [polimota@fca.unesp.br](mailto:polimota@fca.unesp.br)

### **INTRODUÇÃO**

Devido ao aumento do consumo de plantas ornamentais, o consumidor tornou-se mais exigente com relação à qualidade. Tentando melhorar a qualidade do produto, são adotados padrões sobre a estatura da planta, dos quais se pode citar: a altura da planta, número de inflorescências, diâmetro das inflorescências e número de folhas. O principal motivo para a grande aceitação da gérbera no mercado são as inúmeras variedades com diferentes tonalidades.

O controle da adubação é de fundamental importância para a maioria das culturas comerciais agrícolas. Contudo, a necessidade de resultados satisfatórios tem estimulado o desenvolvimento de novas propostas de manejo da adubação, como métodos alternativos para tal controle, que sejam economicamente viáveis, pontual e proporcionem bons resultados. Dentre estas, tem-se o manejo da condutividade elétrica de forma a fornecer às plantas a quantidade ideal buscando a auto-suficiência da unidade produtiva.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os parâmetros de crescimento de plantas de gérbera e fitomassa seca submetidas a diferentes níveis de CE.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado sob cultivo protegido no Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP situado no município de Botucatu, Estado de São Paulo.

Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com cinco níveis de condutividade elétrica (CE) e quatro repetições. Os níveis de CE determinados na solução aplicada foram: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 dS m<sup>-1</sup>. A fertirrigação foi realizada de modo que cada vaso recebesse as quantidades preestabelecidas de nutrientes e um mesmo volume.

O monitoramento da CE foi realizado, ajustando a quantidade de sais aplicados para a manutenção dos valores previstos para os tratamentos. Para a avaliação da CE foi utilizada a metodologia com o uso de extratores de solução de acordo com metodologia proposta por Mota (2004). Foi cultivada gérbera (*Gerbera jamesonii* L.) cultivar Cherry de cor cereja com o centro escuro em vaso plástico com volume de 1,3 L (nº. 15), com dimensões de 12,2 cm de altura, 14,8 cm de base superior e 9,8 cm de base inferior. O substrato consistiu numa mistura de 30% de terra vermelha e 70% casca de pinus fina.

O número de folhas por planta foi contabilizado aos 19, 26 e 33 DAE (dias após espaçamento), momento em que foi encerrado o experimento. Foi realizada a determinação da distância entre as extremidades da superfície foliar no vaso, em duas medidas, sendo uma perpendicular a outra. Esta medida foi designada de diâmetro de superfície do vaso, em cm, ao final do ciclo de cultivo.

A fitomassa seca foi obtida após a coleta da parte aérea da planta, lavagem e secagem em estufa dotada de sistema de circulação e renovação de ar, à temperatura de 65°C, até obtenção de massa constante, sendo o material pesado em balança digital de precisão em g, ao final do ciclo de cultivo. O número médio de inflorescências de gérbera foi contabilizado por vaso. O diâmetro médio de inflorescências de gérbera foi obtido com a tomada de duas medidas extremas da superfície da inflorescência, sendo uma perpendicular a outra, em mm, ao final do ciclo de cultivo.

A fim de se avaliar e caracterizar o ambiente, foram realizados registros de temperatura do ar e umidade relativa do ar durante todo o período experimental.

A correlação entre os parâmetros avaliados foi obtida com a média desses e a média da CE medida com o uso do extrator de solução ao longo do ciclo de cultivo. Os efeitos dos tratamentos foram submetidos à análise de regressão, tendo sido testados os modelos linear e quadrático, escolhidas com base na significância dos coeficientes de regressão a 1% (\*\*) e 5% (\*) de probabilidade pelo teste F e no maior valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores máximo e mínimo das temperaturas médias do ar, no interior da estufa, foram de 30,1 e 17,3°C, respectivamente. De acordo com Mercurio (2002), o nível ótimo para o crescimento e florescimento da gérbera está em torno de 26 a 30°C para temperaturas durante o dia e 15 a 16°C durante a noite. Temperaturas abaixo de 12°C prejudicam o desenvolvimento das plantas. Para a umidade relativa do ar no interior do ambiente protegido os valores médios de máxima e mínima foram de 91 e 42%, respectivamente. Mercurio (2002) cita que a umidade relativa do ar ideal deve estar situada entre 60 e 85%, mas varia pode variar de acordo com a temperatura do ar.

Na Tabela 1 é apresentado o número de folhas aos 19, 26 e 33 DAE. Não houve efeito significativo dos tratamentos para teste F, mas houve efeito significativo para a regressão em todas as épocas avaliadas, assim como uma tendência de aumento do número de folhas até o tratamento 3, exceto aos 33 DAE.

Tabela 1. Número de folhas de gérbera por vaso em função dos tratamentos.

Tratamento (dS m <sup>-1</sup> )	DAE		
	19	26	33
1,00	10	13	19
2,00	14	16	21
3,00	16	18	19
4,00	14	15	18
5,00	10	12	15
F	NS	NS	NS
Regressão	Q*	Q**	L**

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade; L e Q: efeitos significativos lineares e quadráticos, respectivamente; \* e \*\*: significância ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Ao final do experimento, o tratamento que apresentou o maior número de folhas (21) foi o que recebeu 2 dS m<sup>-1</sup> de CE. Em experimento conduzido com gérbera com o mesmo cultivar, sob fertirrigação, Fanela et al. (2006), encontraram 23 folhas, portanto acima da quantidade de folhas obtida nesse experimento. Valores superiores também foram encontrados nas três últimas semanas de avaliação (21,3 a 26,1) por Ludwig (2007), ao estudar o mesmo cultivar. Já Guiselini (2002), ao estudar a influência de ambientes cobertos e diferentes sombreamentos em gérbera de vaso, encontrou para as três últimas semanas de avaliação de número de folhas, valores médios entre 12,5 e 16,6 folhas por planta.

Numa condição ideal de nutrição e adubação, as plantas apresentam maior número de folhas e, conseqüentemente, maior será a área foliar para a realização da fotossíntese, elevando a produtividade e a qualidade. Tal afirmativa pode ser observada no trabalho de Mota (2004) com crisântemo ao trabalhar com diferentes níveis de condutividade elétrica.

Os valores médios do diâmetro de superfície do vaso de gérbera, cultivado sob diferentes níveis de CE, são apresentados na Tabela 2. Nota-se que não houve efeito significativo dos tratamentos para o teste F e regressão ao nível de 5% de probabilidade. O tratamento 2 apresentou o maior diâmetro, 40,8 cm, ao final do ciclo de cultivo, inferior ao obtido por Fanela et al. (2006) em plantas de gérbera, cultivar Cherry (46,0 cm) e bem superior aos valores obtidos por Guiselini (2002) ao final do ciclo de cultivo da gérbera, que variaram entre 22,18 e 22,54 cm e por Ludwig (2007) (35,0 cm).



A análise de variância para a fitomassa seca da parte aérea das plantas de gérbera não revelou que os níveis de CE no substrato influenciaram significativamente (Tabela 2). Apesar de não ter sido significativo, observou-se um aumento da fitomassa seca até o tratamento que recebeu 3 dS m<sup>-1</sup> de CE (12,92 g) e posterior decréscimo. Ludwig (2007) também não obteve resposta significativa das soluções sob a fitomassa seca para o mesmo cultivar: 11,9 g, sendo esse valor próximo aos obtidos nesse experimento.

O número de inflorescências de gérbera por vaso em função dos níveis de CE é apresentado na Tabela 2. Não houve efeito significativo. Os valores obtidos mostram que o tratamento 4 apresentou o maior número de inflorescências por planta (3), semelhante ao encontrado por Fanela et al. (2006) e Ludwig (2007), para o mesmo cultivar. Ludwig (2007) também não obteve efeito significativo das soluções sob o número de inflorescências.

Tabela 2. Valores médios de diâmetro de superfície, fitomassa seca da parte aérea, número de inflorescências e diâmetro de inflorescências de gérbera por vaso em função dos tratamentos ao final do ciclo de cultivo.

Tratamento (dS m <sup>-1</sup> )	Diâmetro de superfície ----- cm -----	Fitomassa seca ----- g -----	Número de inflorescências	Diâmetro de inflorescências ----- mm -----
1,00	38,9	11,47	2	91,99
2,00	40,8	12,64	1	93,40
3,00	38,1	12,92	2	100,68
4,00	36,6	11,84	3	91,28
5,00	38,9	11,53	1	110,87
F	NS	NS	NS	**
Regressão	NS	NS	NS	L**

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade; L: efeito significativo linear; \*\*: significância ao nível de 1% de probabilidade.

Para os valores médios de diâmetro de inflorescências de gérbera (Tabela 2) verificou-se que os níveis de CE influenciaram significativamente linear ao nível de 1% de probabilidade. O tratamento que apresentou inflorescências com o maior diâmetro (110,87 mm) foi o que recebeu 5 dS m<sup>-1</sup> de CE na solução aplicada, superior ao encontrado por Fanela et al. (2006), de 105,12 mm, com uma média de 3 inflorescências por planta. Isso pode ter sido devido a esse tratamento ter apresentado em média uma inflorescência por planta, proporcionando assim o seu maior desenvolvimento. Saavas & Gizas (2002) encontraram valores variando entre 101,7 e 103,5 mm. Ludwig (2007) encontrou valores médios de 92,8 mm para o mesmo cultivar. Guiselini (2002) encontrou valores bem inferiores, variando de 21,9 a 68,3 mm.

O coeficiente de correlação entre os parâmetros avaliados encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3. Coeficiente de correlação entre os parâmetros avaliados e a média da CE medida com o uso do extrator de solução ao longo do ciclo de cultivo.

	Número folhas	Diâmetro superfície	Fitomassa seca	Número infloresc.	Diâmetro infloresc.	CE média
Número folhas	-	0,40	0,61	0,05	-0,76	-0,85
Diâmetro superfície	-	-	0,23	-0,87	0,08	-0,38
Fitomassa seca	-	-	-	-0,11	-0,10	-0,19
Número infloresc.	-	-	-	-	-0,55	-0,09
Diâmetro infloresc.	-	-	-	-	-	0,78**
CE média	-	-	-	-	-	-

\*\* : significância ao nível de 1% de probabilidade

Apenas o diâmetro de inflorescência apresentou correlação significativa e positiva com a CE média, evidenciando que à medida que aumentava a CE aplicada, aumentava o diâmetro da inflorescência. Esse resultado é importante, pois o diâmetro de inflorescência é um parâmetro que expressa a qualidade da planta.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o diâmetro médio de inflorescências foi o único parâmetro influenciado significativamente pelos níveis de condutividade elétrica. Para os demais, não houve interação positiva.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FANELA, T.L.M.; MOTA, P.R.D.; VILLAS BÔAS, R.L.; LUDWIG, F.; FERNANDES, D.M. Influência de diferentes níveis de tensão de água na cultura da gérbera desenvolvida em substrato. In: 2ª Mostra Científica em Ciências Agrárias, 2, Mostra Científica da FMVZ, 10, Reunião Científica em Ciências Agrárias do Lageado, 13, 2006, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2006.

GUISELINI, C. **Microclima e produção de gérbera em ambientes protegidos com diferentes tipos de cobertura**. 2002. 53 f. Dissertação (Mestrado Agronomia) -Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

LUDWIG, F. **Cultivares de gérbera (*Gerbera jamesonii* L.), em vaso, sob dois níveis de fertirrigação**. 2007. 79f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

MOTA, P.R.D. **Níveis de condutividade elétrica da solução do substrato em crisântemo de vaso, em ambiente protegido**. 2004. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Irrigação e Drenagem) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. 2004.

SAVVAS, D.; GIZAS, G. Response of hydroponically grown gerbera to nutrient solution recycling and different cation ratios. **Scientia Horticulturae**, v. 96, p. 267-280, 2002.

ZHENG, Y.; GRAHAM, T.; RICHARD, S. and DIXON, M. Potted Gerbera production in a subirrigation system using low-concentration nutrient solutions. **HortScience**. v. 39, n.6, p. 1283-1286. 2004.

## PALAVRAS-CHAVES

*Gerbera jamesonii* L., fertirrigação, nutrição, manejo de nutrientes, floricultura.

---

## AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

## **Teores de macronutrientes em gérbera em razão da condutividade elétrica sob fertirrigação.**

Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>1,2</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>2</sup>; Ludwig, Fernanda<sup>2</sup>; Fernandes, Dirceu Maximino<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem; <sup>2</sup>Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, CEP: 18603-970, Botucatu, SP, fone (14) 3811-7218, e-mail: [polimota@fca.unesp.br](mailto:polimota@fca.unesp.br)

### **INTRODUÇÃO**

Atualmente existe um interesse crescente por pesquisas sobre os aspectos de qualidade das plantas devido à competitividade por parte dos produtores. Na floricultura, a disputa por mercado é intensa e a qualidade das plantas é determinante.

O diagnóstico nutricional é importante, pois alguns elementos podem apresentar sintomas de carências durante o ciclo e o sintoma visual pode não se expressar claramente a deficiência ou o excesso deste, ou ainda expressar uma sintomatologia que pode ser semelhante para vários nutrientes. Esses desequilíbrios podem resultar em danos na qualidade final das flores.

Além disso, alguns nutrientes podem afetar a absorção de outros, inibindo-a, em ação de antagonismo ou favorecendo-a, em ação de sinergismo. Por isso, é aconselhável realizar a análise química para diversos nutrientes, mesmo que o interesse direto não seja por todos (Rajj, 1991), visando o manejo das plantas de forma que apresentem nos seus tecidos todos os elementos em quantidades e proporções adequadas, sendo capaz de proporcionar altas produções e adequado aspecto visual.

Segundo Camargo (2001), a análise química das plantas pode ser utilizada como técnica de diagnose do teor de nutrientes, e ainda para determinar a relação entre a sua disponibilidade e o estado nutricional da planta de forma a melhorar a qualidade das plantas. A composição química da planta pode variar com a idade, órgão da planta, fatores climáticos e variedades.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes níveis de condutividade elétrica sob os teores de macronutrientes na parte aérea de plantas de gérbera ao final do ciclo de cultivo.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado sob cultivo protegido no Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP situado no município de Botucatu, Estado de São Paulo.

Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com quatro repetições e de cinco níveis de condutividade elétrica (CE). Os níveis de CE determinados na solução aplicada foram: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 dS m<sup>-1</sup>. A fertirrigação foi realizada de modo que cada vaso recebesse as quantidades preestabelecidas de nutrientes e um mesmo volume.

O monitoramento da concentração de sais da solução do substrato na zona radicular das plantas foi realizado de acordo com o valor da CE obtido por meio da extração da solução com o uso de extratores de solução, segundo metodologia proposta por Mota (2004), duas vezes por semana, ajustando a quantidade de sais a serem aplicados para a manutenção dos valores previstos para os tratamentos.

Como fontes de fertilizantes, foram utilizados os seguintes produtos: nitrato de cálcio, nitrato de potássio, sulfato de amônio, sulfato de magnésio, monofosfato de amônio (MAP), tenso cektall e chauffer.

O experimento foi conduzido em vaso plástico com volume de 1,3 L (nº. 15), com dimensões de 12,2 cm de altura, 14,8 cm de base superior e 9,8 cm de base inferior, onde foi

cultivada a cultura da gérbera (*Gerbera jamesonii* L.), cultivar Cherry (cor cereja com o centro escuro). O substrato consistiu numa mistura de 30% de terra vermelha e 70% casca de pinus fina.

A lâmina de irrigação correspondeu à quantidade de água requerida para elevar a umidade do substrato contido no vaso, ao valor correspondente à condição de máxima retenção. Para o monitoramento da irrigação foram instalados quatro tensiômetros com manômetro de mercúrio por tratamento, na profundidade de 9,5 cm.

Foi padronizado como momento de colheita das plantas para o encerramento do experimento em estufa, o ponto considerado padrão para comercialização: o surgimento de duas fileiras de estames nas inflorescências. Após o encerramento do experimento em estufa, as plantas foram conduzidas para o Laboratório do Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo da FCA/UNESP, onde foi cortada a parte aérea das plantas de gérbera e realizadas as determinações dos teores de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) de acordo com a metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

Os efeitos dos tratamentos foram submetidos à análise de regressão, tendo sido testados os modelos linear e quadrático e escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão a 1% (\*\*) e 5% (\*) de probabilidade pelo teste F e no maior valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os valores de concentração para nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S). Constatou-se efeito linear dos níveis de CE no substrato sobre a concentração de N, P, Ca e Mg (Figura 1).

O teor de N foi significativo linearmente ao nível de 1% de probabilidade. Os valores de teor de N aumentaram à medida que aumentou a CE aplicada. O maior teor de N ( $31 \text{ g kg}^{-1}$ ) foi encontrado no tratamento que recebeu  $5 \text{ dS m}^{-1}$  (Tabela 1), estando de acordo com o valor estabelecido como limite superior ótimo para o desenvolvimento da gérbera ( $27 \text{ a } 31 \text{ g kg}^{-1}$ ) por Mercurio (2002). Já o menor valor,  $23 \text{ g kg}^{-1}$ , encontra-se abaixo, possivelmente justificando a cor verde mais clara das folhas das plantas desse tratamento. Ludwig (2007) estudando quatro cultivares de gérbera e duas soluções, para o cultivar Cherry encontrou valores de 27 e  $29 \text{ g kg}^{-1}$  de N ao final do ciclo de cultivo para as soluções de 50 e 100%, respectivamente. Paradiso et al. (2003) estudando dois níveis de CE ( $1,6 \text{ e } 2,4 \text{ dS m}^{-1}$ ) e dois cultivares, encontraram valores entre 24, 9 e  $38,9 \text{ g kg}^{-1}$ .

Tabela 1. Concentração de macronutrientes na parte aérea da planta de gérbera, em  $\text{g kg}^{-1}$ , em função dos tratamentos.

Treatamento ( $\text{dS m}^{-1}$ )	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- $\text{g kg}^{-1}$ -----					
1,00	23	2,5	49	9	3,0	1,3
2,00	27	3,6	48	11	3,3	1,2
3,00	27	3,5	47	11	3,4	1,2
4,00	27	4,9	45	14	3,6	1,4
5,00	31	5,9	44	16	4,1	1,5
F	**	**	NS	**	**	NS
Regressão	$y=1,6416x+22,019^{**}$ ( $R^2=0,82$ )	$y=0,8192x+1,6252^{**}$ ( $R^2=0,94$ )	NS	$y=1,71x+7,07^{**}$ ( $R^2=0,98$ )	$y=0,245x+2,74^{**}$ ( $R^2=0,93$ )	NS

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade; L: efeito significativo linear; \*\*: significância ao nível de 1% de probabilidade.

De forma geral, o teor de P apresentou aumento linear à medida que a condutividade elétrica (CE) aplicada aumentou (Tabela 1). Os teores variaram de 2,5 a 5,9 g kg<sup>-1</sup> no momento da colheita. O menor valor obtido encontra-se dentro da faixa proposta por Mercurio (2002) e o maior, bem acima desta (1,9 a 3,5 g kg<sup>-1</sup>). A faixa de variação obtida por Ludwig (2007) foi de 2,2 a 2,9 g kg<sup>-1</sup> para este mesmo cultivar, submetida a duas soluções. Bellé (1998) encontrou teores entre 2,3 e 3,6 g kg<sup>-1</sup>. Pouca variação nos valores de P (2,3 a 2,7 g kg<sup>-1</sup>) foi citada por Savvas & Gizas (2002) em folhas de gérbera sob cultivo hidropônico. Jones Jr. et al. (1996) determinou como faixa ótima para o cultivo de gérbera teores entre 2,0 e 5,0 g kg<sup>-1</sup> de P.

Para os teores de K (Tabela 1), não ocorreu interação significativa entre os tratamentos. Entretanto, apresentou um decréscimo à medida que aumentou os níveis de condutividade elétrica aplicado, tendo sido o maior valor obtido, 49 g kg<sup>-1</sup>, no tratamento que recebeu 5 dS m<sup>-1</sup> de CE e o menor, 44 g kg<sup>-1</sup>, para a CE de 1 dS m<sup>-1</sup>. Esses valores foram bem superiores aos citados por Mercurio (2002), que estabeleceu uma faixa ideal de 30,6 a 36,4 g kg<sup>-1</sup>; por Savvas & Gizas (2002), com concentrações variando entre 30 e 34,7 g kg<sup>-1</sup> e por Ludwig (2007) que obteve valor médio para o cultivar Cherry de 39 g kg<sup>-1</sup>, e não obteve efeito significativo sob os teores de K ao estudar diferentes soluções.

Em relação ao Ca (Tabela 1), a análise de regressão revelou efeito linear crescente dos níveis de CE no substrato sobre a concentração deste elemento, evidenciando que a concentração de Ca na parte aérea da planta de gérbera aumentou com a elevação da condutividade elétrica no substrato, tendo variado de 9 a 16 g kg<sup>-1</sup>, inferiores a faixa estabelecida para gérbera por Mercurio (2002) (16,6 a 21,8 g kg<sup>-1</sup>) e superiores aos de Savvas & Gizas (2002): 7,1 a 7,5 g kg<sup>-1</sup>. Os teores de Ca determinados por Bellé (1998) variaram entre 11 e 13 g kg<sup>-1</sup>, dentro da faixa encontrada no presente experimento. Ludwig (2007) encontrou valor médio de 9 g kg<sup>-1</sup>. Jones Jr. et al. (1996) recomenda teores de Ca entre 10 e 35 g kg<sup>-1</sup>.

Os níveis de CE influenciaram linearmente os teores de Mg na parte aérea das plantas de gérbera, aumentando à medida que aumentou a CE aplicada. Esses valores variaram de 3,0 a 4,1 g kg<sup>-1</sup> (Tabela 1) e se encontram dentro da faixa determinada como ótima por Mercurio (2002) (3,0 a 4,8 g kg<sup>-1</sup>) e por Jones Jr. et al. (1996) (2 a 7 g kg<sup>-1</sup>) para a produção de gérbera e acima dos valores obtidos por Savvas & Gizas (2002) (2,5 a 2,7 g kg<sup>-1</sup>) e por Ludwig (2007): 2,9 g kg<sup>-1</sup>.

Verificou-se que não houve influencia significativa entre os teores de enxofre (S) nas plantas de gérbera e os tratamentos. A maior média do teor de S foi obtida no tratamento que recebeu 5 dS m<sup>-1</sup> (1,5 g kg<sup>-1</sup>). Ludwig (2007) encontrou para duas diferentes soluções (50 e 100%) valores de 1,87 e 1,55 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Esses valores encontram-se abaixo da faixa proposta por Jones Jr. et al. (1996) para S: 2,5 a 7 g kg<sup>-1</sup>.

## CONCLUSÕES

O tratamento que recebeu 5 dS m<sup>-1</sup> de condutividade elétrica apresentou os maiores teores de N (31 g kg<sup>-1</sup>), P (5,9 g kg<sup>-1</sup>), Ca (16 g kg<sup>-1</sup>), Mg (4,1 g kg<sup>-1</sup>) e S (1,5 g kg<sup>-1</sup>), com exceção do K onde o maior teor foi obtido no tratamento com 1 dS m<sup>-1</sup> (49 g kg<sup>-1</sup>). A ordem decrescente dos teores dos macronutrientes foi: K > N > Ca > P > Mg > S.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLÉ, S. **Sistemas de irrigação e concentrações de adubação complementar na produção de *Gerbera jamesonii* cv 1187 em vaso**. 1998. 122 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

CAMARGO, M.S. **Nutrição e adubação de *Áster ericoides* (White Máster) influenciando produção, qualidade e longevidade.** 2001. 107 f. Tese (Doutorado em Agronomia / Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

JONES Jr., J.B.; WOLF, B.; MILLS, H.A. **Plant analysis handbook.** Thens: Micro-Macro Publishing, Inc., 1996. 213p.

LUDWIG, F. **Cultivares de *gerbera* (*Gerbera jamesonii* L.), em vaso, sob dois níveis de fertirrigação.** 2007. 79f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.

MERCURIO, G. *Gerbera* cultivation in greenhouse. The Netherlands: Schreurs, 2002. 206 p.

MOTA, P.R.D. Níveis de condutividade elétrica da solução do substrato em crisântemo de vaso, em ambiente protegido. 2004. 82f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Irrigação e Drenagem) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

PARADISO, R.; DE PASCALE, S.; APREA, F.; BARBIERI, G. Effect of electrical conductivity levels of nutrient solution on growth, gas exchanges and yield of two gerbera cultivars in soilless system. **Acta Horticulturae**, v. 609, p. 165-171, 2003.

RAIJ, B.V. **Fertilidade do solo e adubação.** Piracicaba: CERES: POTAFOS, 1991. 343p.

SAVVAS, D.; GIZAS, G. Response of hydroponically grown gerbera to nutrient solution recycling and different cation ratios. **Scientia Horticulturae**, v. 96, p. 267-280, 2002.

PALAVRAS-CHAVES

*Gerbera jamesonii* L., estado nutricional, manejo de nutrientes, floricultura.

---

#### AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

## **Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Camptosema grandiflorum* Benth.**

Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>1</sup>; Casali, Lavinia Pereira<sup>2</sup>, [Iha, Liriane LaGuardia<sup>2</sup>](#)

<sup>1</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>2</sup> Engenheira Agrônoma, email: [lasali@yahoo.com.br](mailto:lasali@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [lirriha@yahoo.com.br](mailto:lirriha@yahoo.com.br);

### **INTRODUÇÃO**

A espécie *Camptosema grandiflorum* Benth. é uma trepadeira volúvel da Família Fabaceae, nativa do Brasil. Muito ramificada e vigorosa, floresce no outono-inverno, apresentando inflorescências longas, pendentes, com flores vermelhas muito vistosas e bastante visitadas por beija-flores; as folhas são também muito atraentes, compostas por 3 folíolos. Propaga-se por sementes, alporquia e, ainda, com maior dificuldade, por estaquia (Lorenzi e Souza, 2001).

A porcentagem de germinação de sementes dessa espécie, normalmente, é muito baixa. Dessa forma, é importante o estudo de fatores que interferem no sucesso desse processo.

Labouriau (1983) comenta que dentre os principais fatores que afetam a germinação das sementes, merecem destaque a temperatura e a luz.

O efeito da temperatura na germinação afeta a velocidade de absorção de água pelas sementes e pode alterar, entre outros aspectos, a porcentagem total, a velocidade e a uniformidade de germinação (Bewley & Black, 1996; Carvalho & Nakagawa, 2000; Castro & Hilhorst, 2004). Há uma faixa térmica característica para cada espécie e com temperaturas cardiais mínima e máxima, acima ou abaixo das quais pode não ocorrer a germinação das sementes (Carvalho & Nakagawa, 2000); além disso, dentro desta faixa a temperatura também atua sobre o tempo necessário para atingir o máximo de germinação (Bewley & Black, 1985).

A análise de sementes tem como objetivo a avaliação da qualidade destas quanto à composição do lote e a capacidade germinativa, por meio de procedimentos padronizados pelas Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 1992). O teste de germinação é o suporte para todas as outras análises e experimentos, neste contexto, o conhecimento das estruturas do processo germinativo e das plântulas é importante para uma correta interpretação, bem como, dos fatores básicos como temperatura, substrato ou algum tratamento específico, como os de quebra de dormência. Esta padronização visa à obtenção de resultados uniformes para um lote de sementes, analisado em diferentes laboratórios; os procedimentos são estabelecidos por meio de experimentação prévia, que possibilitam a avaliação da qualidade da semente; no entanto, para espécies nativas e exóticas de menor interesse econômico, a padronização de métodos é bastante escassa, representando menos de 0,1% das prescrições e recomendações. Nos últimos 20 anos, houve um grande aumento de pesquisas na área de sementes florestais, devido ao crescente interesse econômico e conservacionista (Oliveira et al., 1989). No entanto, são raras as pesquisas para definição de padrões das demais espécies nativas com potencial ornamental.

Desta forma, devido ao grande potencial como ornamental e à carência de informações sobre a produção de mudas dessa espécie. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Camptosema grandiflorum*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes de Plantas Hortícolas do Departamento de Produção Vegetal da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, UNESP/FCAV.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Foram testadas seis condições de temperatura (constantes de 20°C, de 25°C, de 30°C e de 35°C e alternadas de 20-30°C e de 25-35°C - fotoperíodo de 12 horas. Utilizou-se quatro repetições de 25 sementes.

As sementes foram dispostas em caixas plásticas (tipo gerbox), contendo vermiculita fina previamente umedecida, mantendo a capacidade de campo de 100%, sendo, posteriormente, colocados em câmara de germinação, cuja temperatura foi regulada de acordo com o tratamento.

Diariamente, avaliou-se o número de sementes que germinaram (plântula normal). Após estabilização da germinação foi calculada a porcentagem de germinação utilizando-se a fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) e o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), calculado utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

Os dados de porcentagem total de germinação foram transformados em  $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ . Foi realizada análise estatística e as médias foram comparadas pelo Teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade.

As sementes que germinaram foram contadas diariamente até o 14º dia. A porcentagem (14º dia) e o índice de velocidade de germinação foram avaliados. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em valores angulares [ $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ ] antes da análise estatística. Realizou-se análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Skott-Knott, a 1% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo da temperatura na germinação de sementes de *Camptosema grandiflorum* (Tabela 1) tanto para porcentagem de germinação como IVG. Maiores porcentagens de germinação foram obtidas nas temperaturas de 30°C e 20-30°C. A velocidade de germinação foi semelhante nas temperaturas testadas exceto 20°C, que significativamente inferior às demais.

Tabela 1. Porcentagem de germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *A. alexandrae* submetidas a seis temperaturas.

Causa da Variação	GL	Germinação (%) <sup>1</sup>	IVG <sup>2</sup>
Temperatura	5	343,46**	0,20**
Resíduo	18	33,8	0,01
CV (%)		14,79	12,37
Médias			
20°C		29,7 <sup>1</sup> (24,5) <sup>2</sup> b	0,36 b <sup>2</sup>
25°C		30,8 (26,2) b	0,86 a
30°C		51,5 (61,2) a	0,96 a
35°C		38,0 (37,9) b	0,90 a
20-30°C		49,6 (58,0) a	0,96 a
25-35°C		36,2 (34,9) b	0,81 a

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ ; <sup>2</sup> Dados não transformados

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Maiores porcentagens de germinação de sementes de *Camptosema grandiflorum* foram obtidas nas temperaturas de 30°C (61%) e 20-30°C (58%) e a velocidade de germinação foi semelhante nas temperaturas testadas exceto 20°C, cujas sementes germinaram mais lentamente quando comparado com as demais temperaturas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds**. Berlim: Springer - Verlag, 1985. 540p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1996. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária, 1992. 365p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção** 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.149-162.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983, 174p.

LORENZI, H. J; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**. 3. ed. São Paulo: Inst. Plantarum, 2001. 1088p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. Propostas para a padronização de metodologias em análise de sementes florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.11, n.1,2,3. p.1-25. 1989.

PALAVRAS-CHAVES: *Camptosema grandiflorum*, sementes, temperatura, germinação.

## Utilização de substratos alternativos ao xaxim para o crescimento de um híbrido de *Cattleya* Lindley (ORCHIDACEAE)

Galdiano Júnior, Renato Fernandes<sup>1</sup>; Moraes, Murici<sup>2</sup>; Lemos, Eliana Gertrudes de Macedo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2600, e-mail: [renatofgaldianojr@yahoo.com.br](mailto:renatofgaldianojr@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Aluno do curso de Graduação em Agronomia da FCAV-UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2600, e-mail: [muricimoraes@hotmail.com](mailto:muricimoraes@hotmail.com); <sup>3</sup>Professora titular do Departamento de Tecnologia (FCAV-UNESP), Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s.n., CEP 14887-900, Jaboticabal, São Paulo, fone (16) 3209 2675 ramal 217, e-mail: [egerle@fcav.unesp.br](mailto:egerle@fcav.unesp.br)

Orchidaceae compreende uma das maiores famílias dentro das Angiospermas, contendo cerca de 700 gêneros e 35.000 espécies. O gênero *Cattleya* possui 70 espécies, mais de 100.000 híbridos e constitui uma das orquídeas neotropicais mais cultivadas no mundo inteiro. O xaxim foi amplamente utilizado como substrato adequado para o cultivo destas plantas, porém o extrativismo predatório de *Dicksonia sellowiana* (Pteridófito da qual é retirado o xaxim), colocou esta espécie na lista de ameaçadas de extinção, daí a importância de se pesquisarem materiais equivalentes que o possa substituir. Para a produção comercial de orquídeas, é imprescindível a utilização de um bom substrato e, na seleção deste material, é muito importante avaliar aspectos do ponto de vista biológico, ecológico, econômico, físico e químico. Este trabalho teve como objetivo avaliar substratos alternativos ao xaxim no cultivo do híbrido obtido de *Cattleya* Francis 'Florália' e *Cattleya lueddemanniana* var. semi alba. Os substratos avaliados foram: xaxim, coco em pedaços, fibra de coco, casca de Pinus + carvão (1:1v/v) e esfagno. Para cada tratamento, 20 mudas de um ano de idade foram cultivadas em vasos de polipropileno (totalizando 100 plantas), distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, permanecendo em casa de vegetação com 60% de retenção da radiação luminosa e irrigadas por nebulizadores para obtenção de umidade relativa do ar constante. Os parâmetros avaliados 90 dias após o início do experimento foram: massa fresca total, altura da parte aérea, número de raízes, número de brotos, pH e condutividade elétrica do substrato, sendo as médias submetidas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Houve resultados significativos para número de brotos e altura da parte aérea, sendo o substrato constituído de casca de Pinus + carvão apresentou baixa eficiência, ao passo que a fibra de xaxim, seguido de fibra de coco, esfagno e coco em pedaços, respectivamente, proporcionaram maior crescimento. Os valores de pH para os diferentes substratos utilizados apresentaram-se próximos, variando entre 4,75 (fibra de xaxim) a 5,80 (coco em pedaços) e, para a condutividade elétrica, os substratos apresentaram baixos valores (entre 0,15 mS.cm<sup>-1</sup> e 0,88 mS.cm<sup>-1</sup>), indicando que estes substratos apresentam poucos sais solúveis na solução. De acordo com a literatura, a faixa ideal de pH para o cultivo de *Cattleya* é de 5,0 a 5,5 e valores abaixo de 1,0 g L<sup>-1</sup> de teor total de sais dissolvidos (condutividade elétrica), sendo que os valores encontrados entre os substratos avaliados estão dentro de uma faixa aceitável. Para o cultivo de orquídeas, o maior crescimento e quantidade de brotos são muito convenientes, visto que resultam em maior número de pseudobulbos e flores na fase adulta. Foi possível perceber que o coco em pedaços apresentou resultados menos favoráveis no cultivo desse híbrido quando comparado à fibra de coco, pois este último demonstrou maior retenção de umidade. O substrato fibra de coco proporcionou bons resultados e, devido ao risco de extinção do xaxim e do esfagno, em função do extrativismo indiscriminado, este substrato renovável pode ser considerado alternativo ao xaxim no cultivo do híbrido *Cattleya* Francis 'Florália' x *Cattleya lueddemanniana* var. semi alba.

### PALAVRAS CHAVES:

Orchidaceae, substratos, xaxim, fibra de coco, *Cattleya*

## Ordem de limitação de nutrientes em *Heliconia* “Golden Torch”, sob diferentes adubações.

Ferreira, Luciana Domingues Bittencourt<sup>1</sup>; Oliveira, Sebastião Alberto de<sup>2</sup> Fernandes, Eliana Paula<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadora da AGENCIARURAL, CENTRAR, Campus Samambaia, CEP: 74001-970, Goiânia GO e Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (EA/UFG), e-mail: [lucianadbf@terra.com.br](mailto:lucianadbf@terra.com.br);

<sup>2</sup>Prof. Dr. da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (FAV/UnB), Caixa Postal 04508, 70.910-970 Brasília - DF. e-mail: [oliveira@unb.br](mailto:oliveira@unb.br) <sup>3</sup>Profª Drª da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos – UFG, Campus Samambaia, Cx.P. 131, CEP: 74001-970, Goiânia – GO, e-mail: [elianafernandes@agro.ufg.br](mailto:elianafernandes@agro.ufg.br)

### INTRODUÇÃO

As helicônias são de procedência neotropical, com destaque para o noroeste da América do Sul, região onde se registram altos índices pluviométricos e solos ricos em nutrientes (CASTRO, 1995). Produzem belas inflorescências com forma exótica tornando-as fortes candidatas à arte floral. O híbrido natural *Heliconia psittacorum* L. f. x *Heliconia spathocircinata* Aristeguieta “Golden Torch”, está entre as variedades plantadas comercialmente para a produção de flor de corte.

Sabe-se que grande número de plantas ornamentais são supridas por regimes não harmônicos de nutrição, porém crescem de forma comercialmente aceitável, todavia constata-se a diminuição na qualidade do produto final e na durabilidade da flor depois da colheita (KÄMPF, 2000). A otimização do uso de fertilizantes ocasiona um maior rendimento das culturas com menor custo possível (MALAVOLTA, 1993). Porém, quando há insuficiência, excesso ou desequilíbrio de um ou mais nutrientes ocorrem restrições no crescimento vegetal, com implicações no seu metabolismo. Sintomas de deficiência podem ser causados não apenas por um baixo fornecimento de nutrientes pelo solo ou pela baixa capacidade genética da planta em absorver e transportar íons, mas também, pela interação destes com outros íons (CRESTE et al., 1999).

Como técnica auxiliar e complementar à análise química de solo, a análise foliar determina quantitativamente os nutrientes presentes no tecido vegetal, permitindo uma avaliação do nível nutricional dentro da planta, na época em que a amostra foi tomada (CRESTE et al., 1999). Dentre os critérios de interpretação dos resultados de análise foliar, o Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação - DRIS, é um método abrangente que considera vários fatores determinantes da produção (SUMNER, 1979). Contempla as interações existentes entre os nutrientes, a variação de suas concentrações de acordo com a idade e o grau de desenvolvimento da planta e as diferenças varietais, além de avaliar quais os nutrientes mais limitantes para a produção (MALAVOLTA et al., 1997). Uma das principais pressuposições na aplicação do DRIS é que as relações entre dois nutrientes, transformadas em índices, são melhores indicadoras do estado nutricional do que simplesmente o uso das concentrações tomadas isoladamente (JONES, 1981). Além de permitir fazer uma classificação dos nutrientes de acordo com seu grau de limitação, não apresentando a desvantagem de serem interpretados individualmente (OLIVEIRA, 1993).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estado nutricional de *Heliconia psittacorum* L. f. x *Heliconia spathocircinata* Aristeguieta “Golden Torch”, a partir de resultados de análise química de folhas e produtividade de inflorescências, sob o efeito da aplicação de diferentes doses de N, P e K, em plantio com 10 meses de idade.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em condição de campo, na propriedade Sítio Fiore Mio, no município de Santo Antônio de Goiás (GO). Trabalhou-se com o híbrido natural *Heliconia psittacorum* L. f. x *Heliconia spathocircinata* Aristeguieta “Golden Torch”, durante o período de janeiro a outubro de 2002. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, arranjos de acordo com matriz experimental Plan Puebla II (FERNANDEZ & LAIRD, 1978), com 15 tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram a combinação de quatro níveis de N (0, 200, 400 e 600 kg/ha de N, via sulfato de amônio), quatro de P (0, 80, 160 e 240 kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, via termofosfato Yoorin) e quatro de K (0, 80, 160 e 240 kg/ha de K<sub>2</sub>O, via cloreto de potássio).

O adubo fosfatado, de acordo com cada tratamento, foi adicionado às covas de plantio. A adubação nitrogenada e potássica foram parceladas em três vezes e distribuída à lanço, aos 30, 90 e 150 dias após o plantio. Os micronutrientes, na forma de fritas (FTE BR-12), foram acrescentados em porções iguais para todos os tratamentos, na quantidade de 50 kg/ha ou 5

g/m<sup>2</sup>, em cobertura aos 90 dias após o plantio. A condução do experimento, antes e durante foram: preparo das mudas; análise do solo; aplicação de 0,93 t/ha de calcário dolomítico (saturação por bases, para V<sub>2</sub> = 50%); limpeza da área por meio de capina; plantio das mudas e irrigação por aspersão convencional.

Para determinação dos teores totais de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn nas folhas, coletou-se amostra composta representativa de cada parcela (cinco folhas por parcela), aos 245 dias após o plantio. Os parâmetros de amostragem de folhas de helicônias ainda não foram definidos. Para tal, utilizou-se os procedimentos usados na cultura da banana, segundo TRANI et al. (1983) e SILVA (1999). As análises dos tecidos foliares foram realizadas de acordo com metodologia definida por MALAVOLTA et al. (1997).

Com os resultados das concentrações dos nutrientes nas folhas e dos dados de produtividade (nº de inflorescências total.m<sup>-2</sup> até 270 dias após o plantio), fez-se um banco de dados necessário para o desenvolvimento do método DRIS (BEAUFILS, 1973 *apud* CRESTE, 1999). Os índices DRIS foram calculados através de programas computacionais desenvolvidos por OLIVEIRA<sup>1</sup> baseado na metodologia descrita em MALAVOLTA et al. (1997). Para a definição da população de referência, o parâmetro utilizado foi a média da produtividade total, onde valores abaixo da referência são do grupo A (menos produtivo) e valores acima são do grupo B (mais produtivo).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizaram-se os dados das concentrações dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn) e o número total de inflorescências.m<sup>-2</sup> de *Heliconia* "Golden Torch" até 270 dias após o plantio, para dividi-los em grupos de mais ou menos produtivos de acordo com a população de referência, estabelecida pela média da produtividade que foi de 11,4 inflor.m<sup>-2</sup>. Após o cálculo dos índices DRIS, para cada nutriente, observou-se os sinais de cada valor encontrado, e classificou-os em ordem de importância de limitação (Tabela 1), onde quanto mais negativo o índice mais limitante estava o nutriente, quanto mais positivo menos limitante e quando zero estava na melhor condição de balanço nutricional (OLIVEIRA, 1993).

Os resultados identificaram que o Mn foi o nutriente mais limitante em 40,0% dos tratamentos. Deste 83,3% tiveram suas médias de produtividade abaixo da população de referência. O segundo nutriente mais limitante foi o Mg, apresentando índices negativos em 26,6% dos tratamentos, deste 75,0% estão acima da população de referência. Em seguida os mais limitantes foram o P, K, B e N cujos valores percentuais em relação à ordem de limitação foi 13,3%, 6,7%, 6,7%, e 6,7%, respectivamente.

Observou-se que os menores índices DRIS de Mn ocorreram nos tratamentos em que não houve a aplicação de N e que aumentos nos valores destes índices coincidiram com o aumento da quantidade do N aplicado no solo. MALAVOLTA (1981) cita que há um abaixamento do pH da solução quando da aplicação de sulfato de amônio e BORKERT (1991) afirma que a disponibilidade do Mn tende a aumentar com a diminuição do pH. Verificou-se que na maioria dos tratamentos onde o magnésio foi o mais limitante coincidiu com uma maior aplicação de K ao solo, indicando que o potássio afetou a absorção do Mg, nesta variedade. O boro foi o nutriente limitante por excesso, em 40,0% dos tratamentos.

Os menores índices DRIS de N, P e K foram obtidos quando os tratamentos não continham N, ou seja, tratamento 9 e 15. A *H. "Golden Torch"* obteve-se as menores produtividades, 6,9 e 7,2 inflor.m<sup>-2</sup>, respectivamente. CRILEY & BROCHAT (1992), relatam a exigência de helicônias em nitrogênio. No tratamento 13, ou seja, com ausência de K, os índices de N, P e K também foram baixos, obtendo-se 10,4 inflor.m<sup>-2</sup>, ficando a produtividade abaixo da média. Já, no tratamento 11, com ausência de P, os índices se mostraram de maneira diferenciada, porém com valores intermediários em relação aos outros tratamentos.

---

<sup>1</sup> OLIVEIRA, S. A. de (Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB). Dados não publicados, 2003.

Tabela 1 – Índices DRIS primário e ordem de limitação dos nutrientes para *Heliconia* “Golden Torch”, sob adubação NPK e produtividade de inflorescências até 270 dias após o plantio, Santo Antônio de Goiás - GO.

Tratamentos (N – P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> – K <sub>2</sub> O) kg/ha	Prod. (inflor./m <sup>2</sup> )	Índices DRIS											Ordem de limitação
		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
1: 200 - 80 - 80	9,3	-28	-58	-4	-18	-17	-35	61	-47	38	-53	54	P > Mn > Cu > S > N > Ca > Mg > K > Fe > Zn > B
2: 200 - 80 - 160	10,4	-21	-22	45	-37	-39	-38	28	-6	-2	-45	20	Mn > Mg > S > Ca > P > N > Cu > Fe > Zn > B > K
3: 200 - 160 - 80	11,9	-30	-33	-18	-41	6	-61	30	-46	50	-81	46	Mn > S > Cu > Ca > P > N > K > Mg > B > Zn > Fe
4: 200 - 160 - 160	11,7	-10	-9	51	-31	-34	-24	6	14	-4	-24	19	Mg > Ca > S = Mn > N > P > Fe > B > Cu > Zn > K
5: 400 - 80 - 80	12,1	5	-34	4	-31	-38	-3	44	-36	22	-28	36	Mg > Cu > P > Ca > Mn > S > K > N > Fe > Zn > B
6: 400 - 80 - 160	9,3	-36	-60	9	0	-23	-25	47	-32	70	-41	99	P > Mn > N > Cu > S > Mg > Ca > K > B > Fe > Zn
7: 400 - 160 - 80	14,1	-10	13	-46	3	49	-38	15	-17	-11	-28	-14	K > S > Mn > Cu > Zn > Fe > N > Ca > P > B > Mg
8: 400 - 160 - 160	15,6	-3	-33	27	-17	-42	10	14	-20	30	-18	57	Mg > P > Cu > Mn > Ca > N > S > B > K > Fe > Zn
9: 0 - 80 - 80	6,9	-91	-252	-156	-192	-7	-317	361	-264	172	-418	266	Mn > S > Cu > P > Ca > K > N > Mg > Fe > Zn > B
10: 600 - 160 - 160	17,2	30	14	-8	44	-3	73	-36	13	10	80	-20	B > Zn > K > Mg > Fe > Cu > P > N > Ca > S > Mn
11: 200 - 0 - 80	13,4	-12	-1	5	21	9	9	-6	21	0	15	5	N > B > P > Fe > K = Zn > Mg = S > Mn > Ca = Cu
12: 400 - 240 - 160	10,6	-27	-52	-77	-53	33	-95	87	-85	69	-120	73	Mn > S > Cu > K > Ca > P > N > Mg > Fe > Zn > B
13: 200 - 80 - 0	10,4	-41	-83	-72	-111	7	-164	170	-108	16	-210	72	Mn > S > Ca > Cu > P > K > N > Mg > Fe > Zn > B
14: 400 - 160 - 240	10,8	-17	-55	44	-59	-63	-17	21	-41	83	-52	80	Mg > Ca > P > Mn > Cu > N = S > B > K > Zn > Fe
15: 0 - 0 - 0	7,2	-138	-192	-218	-219	90	-394	385	-242	103	-480	191	Mn > S > Cu > Ca > K > P > N > Mg > Fe > Zn > B

## CONCLUSÕES

Para as condições testadas, o Mn foi o nutriente que se apresentou como o mais limitante, seguido do Mg. Nos tratamentos com ausência de aplicação de nitrogênio, observou-se o menor índice DRIS para N, P e K, onde ocorreram também as menores produtividades.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORKERT, C. M. Manganês. In: FERREIRA, M. E. & CRUZ, M. C. P. da (ed.). **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Potafos, p. 171-190. 1991.

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília: MAARA/SDR/FRUPEX/SPI, 1995. 44 p. (Publicações Técnicas, 16).

CRESTE, J. E.; NAKAGAWA, J.; GRASSI FILHO, H. Uso do DRIS no manejo da adubação em pomares cítricos. In: SIMPÓSIO SOBRE MONITORAMENTO NUTRICIONAL PARA A RECOMENDAÇÃO DA ADUBAÇÃO DE CULTURAS, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Potafos, 1999. 1 CD.

CRILEY, R. A.; BROCHAT, T. K. Heliconia: botany and horticulture of new floral crop. In: JANICK J. (ed.). **Horticultural Reviews**. v. 14, p. 1-55. 1992.

FERNANDEZ, A. T.; LAIRD, R. J. La matriz experimental Plan Puebla, para ensayos sobre practicas de produccion de cultivos. **Revista Agrociência**, n. 19, 3ª ed., Colégio de Postgraduados de la Escuela Nacional de Agricultura, S.A.G., Chapingo, Mexico, 27 p., 1978.

JONES, C. A. Proposed modifications of the dianosis and recommendation integrated system (DRIS) for interpreting plant analysis. **Comm. Soil Sci. Plant Anal.** v. 12, n. 8, p. 785-794, 1981.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 254p.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 594 p.

MALAVOLTA, E. **Nutrição mineral e adubação do cafeeiro: colheitas econômicas máximas**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1993. 210 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 201 p.

OLIVEIRA, S. A. de Avaliação do balanço nutricional no sistema solo-planta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24., Goiânia, 1993. **Anais...** Goiânia, SBCS, 1993. v. 1, p. 43-44.

SILVA, D. J. **Análise de plantas: amostragem e interpretação**. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido, 1999. 9 p. (Documentos, 149).

SUMNER, M. E. Interpretation of foliar analysis for diagnostic purposes. **Agro. Y.**, v. 71, p. 343-348, 1979.

TRANI, P. E.; HIROCE, R.; BATAGLIA, O. C. **Análise foliar: amostragem e interpretação**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 18 p.

## PALAVRAS CHAVES:

*Heliconia psittacorum* L. f. x *Heliconia spathocircinata* Aristeguieta “Golden Torch”, flor de corte, nutrição de planta, diagnose foliar, índices DRIS.

## Resposta de *Laelia purpurata* a diferentes doses e fertilizantes minerais e orgânicos.

Barros, Aline Ferreira<sup>1</sup>; Braga, Mônica de Cássia<sup>2</sup>; Rodrigues, Donizetti Tomaz<sup>3</sup>; Alvarez V., Víctor Hugo<sup>4</sup>; Novais, Roberto Ferreira<sup>4</sup>, Lana, Lívia Dias<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estudante especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, email: [afbarros2004@yahoo.com.br](mailto:afbarros2004@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Estudante de Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, email: [monicacbraga@yahoo.com.br](mailto:monicacbraga@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-2575, email: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Professor Titular do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000, Viçosa, Minas Gerais. <sup>5</sup>Estudante de Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, CEP: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, email: [liviadialana@yahoo.com.br](mailto:liviadialana@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A floricultura brasileira vem investindo em qualidade e se consolida como um importante setor da economia nacional. O agronegócio de flores e plantas ornamentais ramificou-se pelo país e conquista mercados no exterior.

No Brasil, o setor gera 120 mil empregos. As floriculturas no Brasil garantem U\$ 2 bilhões/ano e lucram com exportação de U\$ 13 a 15 bilhões/ano. O consumo per capita nacional está estimado em U\$ 6,00. No mundo, o setor de floricultura movimenta U\$ 94 bilhões/ano (Sebrae, 2005).

Dentre as espécies ornamentais, as orquídeas destacam-se pela beleza e exotividade de suas flores. Pertencem à família Orchidaceae, a mais evoluída do reino vegetal, com cerca de 20 a 30 mil espécies e mais de 100 mil híbridos. No Brasil já foram descritas 2.350 espécies, distribuídas em 203 gêneros (Zuin, et al., 2007).

As orquídeas são de grande importância para as empresas de jardinagem, devido ao longo período de duração de suas flores, permitindo que as mesmas sejam utilizadas como ornamentais. Atualmente há grande demanda por plantas exóticas, principalmente no mercado internacional, fazendo com que as orquídeas conquistem cada vez maior espaço como produto para exportação.

Algumas espécies de orquídeas, em estado silvestre, são plantas ameaçadas de extinção, sendo muito importante o desenvolvimento de tecnologias para a propagação e o cultivo (Moura, 1993).

A adubação química, com macro e micronutrientes solúveis em água, podem ser de aplicação foliar ou radicular, ou ainda, aplicação simultânea em folhas e raízes. A adubação orgânica pode ser melhor aproveitada que a adubação química, quando usada adequadamente, devido a sua composição bastante variável. Contudo, é importante conhecer as diferentes fases do ciclo de desenvolvimento das orquídeas, para que se possa selecionar o adubo que deve ser empregado e utiliza-lo corretamente (Campos, 1998).

Dos nutrientes fornecidos por meio de adubação química, destacam-se o nitrogênio, o fósforo e o potássio, que devem ser aplicados em níveis compatíveis às exigências de cada cultura e ao método de adubação utilizado (Haag et al., 1993).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação simultânea de adubo mineral e orgânico em diferentes concentrações visando o melhor desenvolvimento da orquídea.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, utilizando 14 combinações de adubo mineral e orgânico segundo a matriz experimental de Box Beard (Quadro 1). Os tratamentos foram distribuídos no delineamento de blocos ao acaso com seis repetições.

Foram utilizados vasos de plástico com capacidade de 1 dm<sup>3</sup> preenchidos com uma mistura de 70% de brita e 30% de cinasita, com uma planta de orquídea (*Laelia purpurata*)

por vaso. As plantas foram irrigadas todos os dias no verão e alternando os dias durante o inverno.

Quadro 1 - Tratamentos aplicados

TRATAMENTOS	B&G	ORGÂNICO
	----- g/vaso -----	
1	0,060	4,0
2	0,060	12,0
3	0,180	4,0
4	0,180	12,0
5	0,030	8,0
6	0,210	8,0
7	0,120	2,0
8	0,120	14,0
9	0,012	4,0
10	0,228	12,0
11	0,060	0,8
12	0,180	15,2
13	0,120	8,0
14	0,012	0,8

O adubo orgânico utilizado foi uma mistura de torta de mamona, farinha de osso e cinza na proporção 1:1:0,5, respectivamente. O adubo mineral utilizado foi o B&G, com formulação contendo: N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, B, Zn, Mn, Mo, Cu, Cl.

A aplicação do adubo orgânico foi realizada num intervalo de 2 meses, o adubo foi pesado de acordo com cada tratamento e colocado em cima da brita e cinasita. A aplicação do adubo mineral foi realizada num intervalo de 14 dias, adicionando-se 20 mL da solução, em cada vaso, de acordo com os tratamentos.

Ao final de 12 meses do experimento foram avaliados o número de folhas, matéria fresca total, altura da máxima e altura média de pseudobulbo com folhas.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa SAEG 9.0.

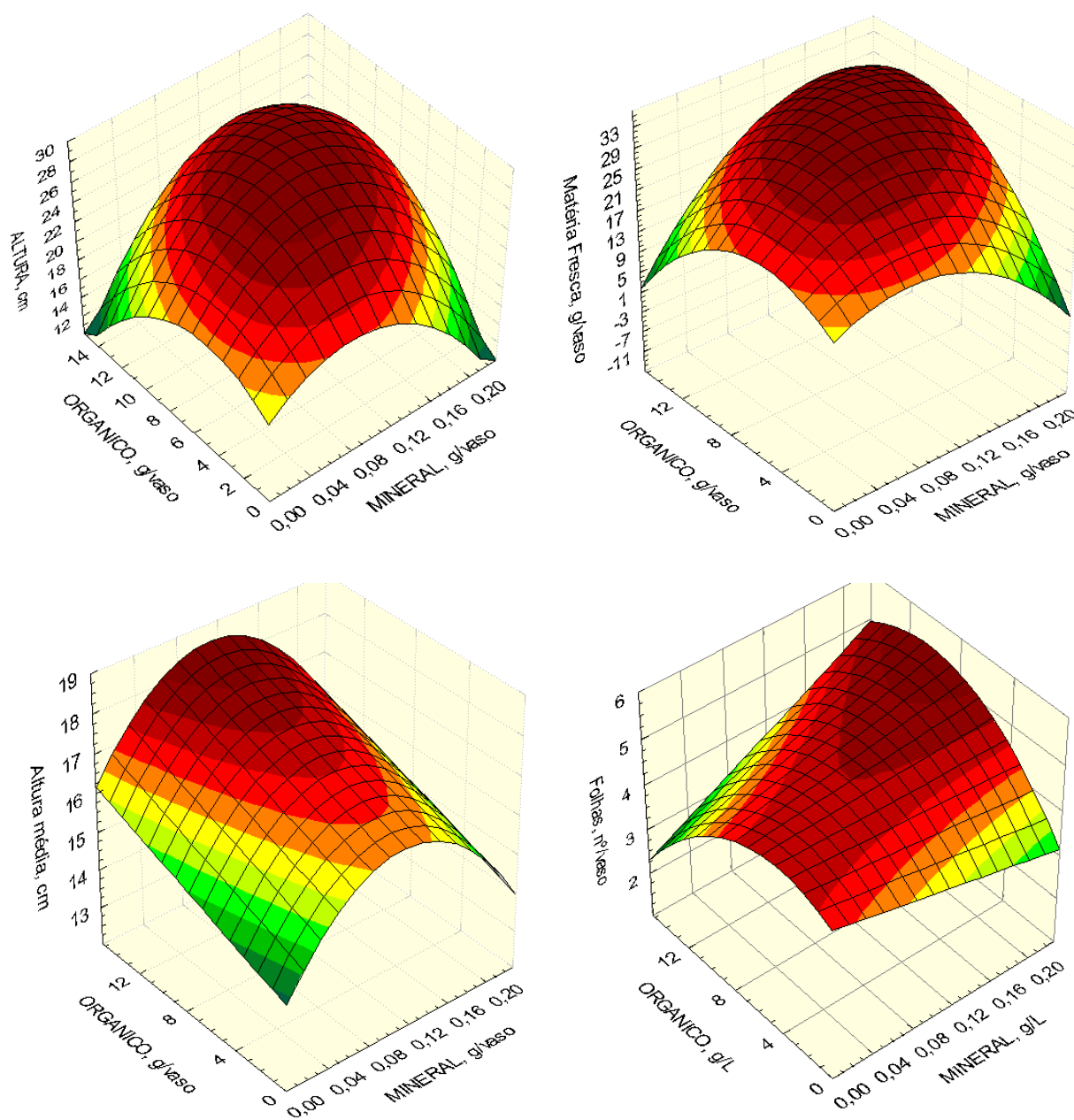
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando-se a dose de 15,2 g/vaso de fertilizante orgânico observa-se um incremento linear no número de folhas para doses crescentes de fertilizante mineral, porém o inverso ocorre para a dose de 0,8 g/vaso, onde o aumento da quantidade de fertilizante mineral promove uma redução na quantidade de folhas produzidas pela planta. Já para matéria fresca total e para altura a figura 1 mostra que tanto para a menor dose quanto para a dose maior há uma perda de produtividade, pois os melhores resultados se observam nas doses intermediárias de ambos os fertilizantes, ainda para essas variáveis percebe-se que na dose de 8 g/vaso de fertilizante orgânico ou 0,14 g/vaso de fertilizante mineral os incrementos nos resultados em função de doses crescentes de um fertilizante em relação ao outro são menos expressivos. Já para a altura média houve um incremento linear positivo em resposta a doses crescente de fertilizante orgânico, dessa forma os maiores valores para altura média considerando ambos fertilizantes foram encontrados nas doses médias de fertilizante mineral que promoveu incrementos curvilineares para doses desse fertilizante.

Observa-se que há um efeito positivo do uso simultâneo de fertilizantes orgânicos e minerais, fato esse observado em outros trabalhos, Rodrigues, 2005 cita em seus trabalhos que plantas adubadas simultaneamente com fertilizantes orgânicos e minerais apresentavam crescimento superior em relação ao uso de apenas um desses fertilizantes. Acredita-se que a melhor forma de adubação seja aquela que considera o uso em conjunto de fertilizantes minerais e orgânicos, alicerçada no fato de que o uso concomitante dessas fontes possa ser a melhor forma de aquisição de nutrientes pela planta, visto a influência direta de substâncias orgânicas sobre a absorção de nutrientes minerais. Trabalhos recentes demonstram que substâncias húmicas, mais especificamente ácidos húmicos,



desempenham determinada regulação nas bombas de H<sup>+</sup> induzindo a síntese de H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática e vacúolo e, conseqüentemente, influenciando a absorção de nutrientes (Canellas, 2002).



$$\text{Altura} = 12,32 + 4,88^{***}\text{Org} - 0,45^{***}\text{Org}^2 + 281,62^{***}\text{Min} - 1578,94^{***}\text{Min}^2 - 90,999^{***}\text{Org Min} + 7,74^{***}\text{Org}^2\text{Min} + 451,23^{***}\text{OrgMin}^2 - 33,97^{***}\text{Org}^2\text{Min}^2 \quad R^2 = 0,70$$

$$\text{Matéria Fresca} = -9,9 + 7,9^{**}\text{Org} - 0,76^{***}\text{Org}^2 + 291,73^{\circ}\text{Min} - 1621,63^{\circ}\text{Min}^2 - 117,52^{\circ}\text{Org Min} + 11,41^{**}\text{Org}^2\text{Min} + 552,62^{\circ}\text{OrgMin}^2 - 46,85^{\circ}\text{Org}^2\text{Min}^2 \quad R^2 = 0,69$$

$$\text{Altura média} = 14,22 + 0,127^{\circ}\text{Org} + 43,32^{**}\text{Min} - 195^{**}\text{Min}^2 \quad R^2 = 0,63$$

$$\text{Número de folhas} = 4,38 + 0,17^{\text{ns}}\text{Org} - 0,0202^{\circ}\text{Org}^2 - 5,44^{\text{ns}}\text{Min} + 1,12^{\circ}\text{OrgMin} \quad R^2 = 0,57$$

Figura 1 – Superfícies de resposta para altura, matéria fresca, altura média e número de folhas, em resposta a diferentes fertilizantes e doses.

## CONCLUSÃO

A aplicação simultânea de fertilizantes, mineral e orgânico, propiciou um excelente crescimento das plantas evidenciado pelas superfícies de resposta para as variáveis estudadas.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ZUIN, A.H.L.; CARVALHO, V.S.; VENTURA, G.M. Orquídeas. In: JUNIOR, T. J. P; VENZON, M. **101 Culturas**: manual de tecnologias agrícolas. Belo Horizonte: Epamig, 2007. p. 595.

Sebrae; Disponível em

<http://sebraepi.interjornal.com.br/noticia.kmf?noticia=3879593&canal=250> Acessado: 26/04/2007.

MOURA, V. **Natureza violentada: flora e fauna agredidas**. Porto Alegre: Leal, 1993. p.239.

CAMPOS, D. M. **Orquídeas**: manual prático de cultura. 2. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1998. p.140-141.

HAAG, H. P.; DECHEN, A. R.; CARMELLO, Q. Q. C.; MONTEIRO, F. A. Princípios de nutrição mineral; aspectos gerais. In: **Simpósio sobre nutrição e adubação de hortaliças**, 1990, Jaboticabal. *Anais...* Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1993. p.51-73.

CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. O.; OLIVARES, F. L. & FAÇANHA, A. R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiol.**, 130: 1951-1957, 2002

RODRIGUES, D. T. **Nutrição e fertilização de orquídeas *in vitro* e em vasos**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2005. 90 p. (Tese de Mestrado)

## PALAVRAS – CHAVE

*Laelia purpurata*, orquídea, adubo mineral, adubo orgânico

## **Resposta de *Epidendrum ibaguense* a doses e intervalos de aplicação de fertilizante mineral**

**RODRIGUES, D. T.<sup>1</sup>; RESENDE, V. A.<sup>2</sup>; ALVAREZ V., V. H.<sup>3</sup> & NOVAIS, R. F.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas (UFV), Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, email: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Estudante de Graduação em Agronomia (UFV), Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, email: [resendeaq@yahoo.com.br](mailto:resendeaq@yahoo.com.br) <sup>3</sup>Professor Titular do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais.

### **INTRODUÇÃO**

O mercado de flores e plantas ornamentais é um setor muito dinâmico na atividade agrícola de muitos países. A Holanda, por exemplo, em 1994 movimentou 7 bilhões de dólares somente neste setor (Matsunaga, 1995). Além disso, segundo Castro (1998), o comércio mundial de flores e plantas ornamentais movimentou 100 bilhões de dólares ao ano, sendo que EUA, Japão e Colômbia destacam-se entre os principais produtores e exportadores, enquanto que Suíça e Noruega estão entre os maiores consumidores de flores, sendo o consumo per capita superior aos 150 dólares ao ano. Por outro lado, no Mercosul, o consumo per capita ao ano está muito abaixo desta cifra: na Argentina, 25 dólares e no Brasil apenas seis dólares. O Brasil, em 1997, possuía cerca de 4.500 ha cultivados e 3.600 produtores (Matsunaga, 1997), movimentando 600 milhões de dólares na cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais, com uma estimativa que, em 1999, esta cadeia movimentaria mais de 1 bilhão de dólares, significando crescimento superior a 20 % ao ano. Entretanto, dados recentes mostram uma morosidade do mercado brasileiro de flores, com um saldo comercial negativo para este setor: exportação menor que a importação (Kiyuna et al., 2003a). A adubação de orquídeas durante muito tempo foi desprezada, acreditando-se que os nutrientes no substrato de cultivo seriam suficientes para a manutenção da planta. Entretanto, percebeu-se que plantas bem adubadas apresentavam flores melhores, antecipação da fase adulta, além de um importante aumento na resistência a pragas e doenças. Pode-se, com a adubação, obter mudas que floresçam mais depressa, que contenham mais folhas e flores por planta, comparativamente às que estão na natureza. Entretanto, à medida que se aumenta o nível tecnológico aplicado, aumentam-se também os riscos de perdas, tendo em vista que as plantas na natureza encontram-se em um ritmo de crescimento e desenvolvimento muito lento em relação àquele onde se encontram em cultivos comerciais. Desta forma, percebe-se que existem limites a serem observados pelo homem em relação aos tratamentos culturais com tais plantas; dentre estes, torna-se importante a adubação, à qual pode redundar em grandes benefícios (Novais & Rodrigues, 2005).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a resposta de *Epidendrum ibaguense* a doses e intervalos de aplicação de fertilizante mineral.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

A unidade experimental foi constituída por um vaso de barro de 1 dm<sup>3</sup>, preenchido com uma camada de 100 cm<sup>3</sup> brita zero (gnaisse) no fundo e o restante, 800 cm<sup>3</sup>, preenchido com xaxim desfibrado onde foram cultivadas duas mudas de *Epidendrum ibaguense*. As mudas utilizadas neste ensaio foram obtidas em um campo de cultivo no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia, sendo estas retiradas de hastes florais de plantas adultas.

O experimento, em blocos ao acaso com seis doses de fertilizante mineral e 3 intervalos de aplicação para a cada dose, com 4 repetições, foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

Foram realizadas fertirrigações a cada 7 ou 14 ou 28 dias fornecendo ao final de 28 dias 0,15; 0,44; 0,89, 1,48 e 2,2 g dm<sup>-3</sup> do fertilizante solúvel B&G.

Os dados obtidos foram: produção de matéria seca de folhas (MSF), caule (MSC), raiz (MSR), total (MST) e relação raiz/parte aérea da produção de matéria seca (RA/PA).

Para as variáveis relativas à produção de flores os dados obtidos foram insuficientes para a análise estatística realizando-se apenas observação dos vasos com flor.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

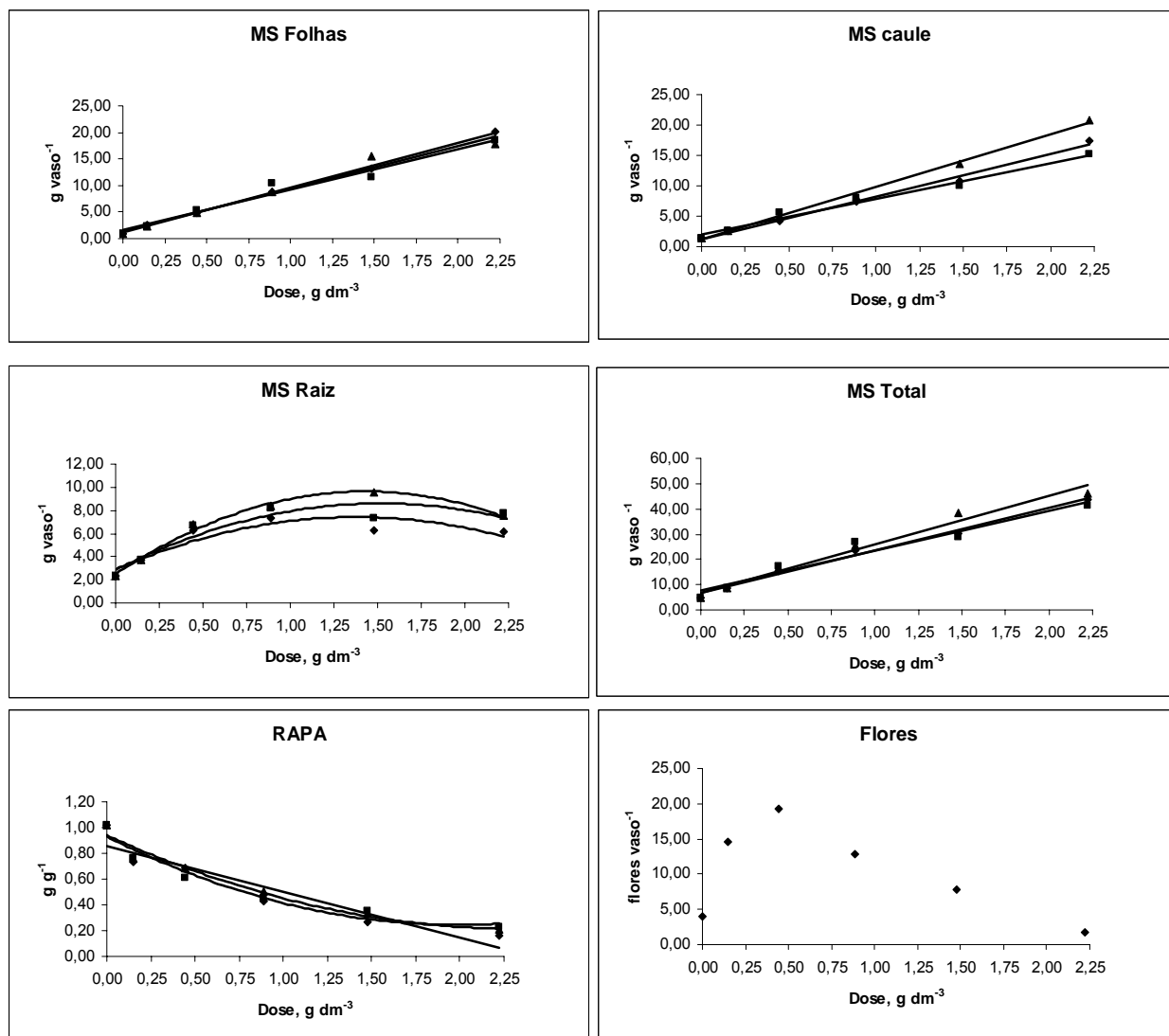
Os resultados encontrados mostram uma resposta linear na produção de matéria seca de folhas, caules e matéria seca total (Quadro 1 e Figura 1). O que se recomenda, atualmente, para adubação de orquídeas são doses que se situam entre 0,1 e 0,2 g dm<sup>-3</sup> aplicadas quinzenalmente, isso devido ao fato das mesmas serem sensíveis a salinidade (Novais & Rodrigues, 2004), porém a sensibilidade é variável entre espécies e também com o tipo de fertilizante utilizado. O fertilizante utilizado nesse trabalho apresenta menores valores de condutividade elétrica em comparação com outros fertilizantes hidrossolúveis para a mesma concentração da solução, o que permite o uso de doses mais elevadas do mesmo. Porém o incremento da dose de fertilizante utilizado nesse trabalho mostra uma redução na produção de matéria seca de raízes para as maiores doses de fertilizante, sem contudo, perda na produtividade da parte aérea da planta, evidenciada pela relação raiz/parte aérea (RAPA) que diminui a medida que se aumenta a quantidade de fertilizante aplicado (Figura 1). Essa diminuição na relação raiz parte aérea pode significar perda no sistema radicular devido à salinidade ou então um aumento na eficiência de absorção de nutrientes que com um sistema radicular menor consegue absorver nutrientes para que haja um crescimento superior nas maiores doses de fertilizante (Figura 1).

Quadro 1 – Equações ajustadas para as variáveis matéria seca de folhas (MSF), caules (MSC), raízes (MSR), total (MST) e relação raiz parte aérea (RAPA) para os intervalos 7, 14 e 28 dias

Variável	Intervalo de aplicação	
	7	
MSF <sup>1</sup>	$\hat{y} = 1,06 + 0,13^{***}x$	R <sup>2</sup> = 1,00
MSC	$\hat{y} = 1,27 + 0,10^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,99
MSR	$\hat{y} = 2,21 + 0,20^{***}x - 0,002^{***}x^2 + 0,000009^{*}x^3$	R <sup>2</sup> = 0,99
MST	$\hat{y} = 6,48 + 0,25^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,99
RAPA	$\hat{y} = 0,85 - 0,005^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,89
	14	
MSF	$\hat{y} = 1,61 + 0,11^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,97
MSC	$\hat{y} = 2,0 + 0,09^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,98
MSR	$\hat{y} = 1,96 + 1,06^{***}x^{0,5} - 0,05^{*}x$	R <sup>2</sup> = 0,91
MST	$\hat{y} = 7,79 + 0,23^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,94
RAPA	$\hat{y} = 1,01 - 0,08^{***}x^{0,5} + 0,002^{ns}x$	R <sup>2</sup> = 1,00
	28	
MSF	$\hat{y} = 1,39 + 0,12^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,97
MSC	$\hat{y} = 1,14 + 0,13^{***}x$	R <sup>2</sup> = 1,00
MSR	$\hat{y} = 2,48 + 0,15^{***}x - 0,0008^{*}x^2$	R <sup>2</sup> = 0,99
MST	$\hat{y} = 6,85 + 0,28^{***}x$	R <sup>2</sup> = 0,98
RAPA	$\hat{y} = 1,0 - 0,06^{***}x^{0,5} + 0,00002^{ns}x$	R <sup>2</sup> = 0,99

<sup>1</sup> Para o cálculo das curvas os valores de x correspondem ao volume de solução (15,8 g L<sup>-1</sup>) aplicado 0; 10; 30; 60; 100 e 150 mL vaso<sup>-1</sup> o que corresponde a 0; 0,15; 0,44; 0,89; 1,48 e 2,2 g dm<sup>-3</sup>.

Os dados obtidos para a produção de flores indicam que o aumento na dose diminui a produção das mesmas nas doses acima de 0,5 g vaso<sup>-1</sup> de fertilizante, ou atrasam o florescimento visto que o experimento foi colhido antes que todas as plantas apresentassem flores (figura1).



**Figura 1** – Matéria seca (MS) de Folhas, caule, raízes, total e Relação raiz parte aérea (RAPA) e em função de doses e intervalos de aplicação de fertilizante (♦ 7, ■ 14 e ▲ 28 dias) e produção de flores em função de dose de fertilizante.

## CONCLUSÃO

O uso de doses crescentes de fertilizante mostra um incremento linear positivo na produção de material vegetativo, e uma redução na produção de flores em elevadas doses de fertilizante, não houve diferenças significativas para intervalos considerando-se a mesma dose de fertilizante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C.E.F. Cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais. **Rev. Bras. de Hortic. Ornam.**, 4:1-46, 1998.

KIYUNA, I.; FRANCISCO, V. L. F. S.; COELHO, P. J.; CASER, D. V.; ASSUMPÇÃO, R.; ÂNGELO, J. A. A floricultura brasileira no início do século XXI. XIV Congresso brasileiro de floricultura e plantas ornamentais e I Congresso brasileiro de cultura de tecidos de plantas. **Anais**. 2003. 462 p.

MATSUNAGA, M. A Indústria da flor no mundo e o comércio internacional do Brasil. **Rev. Bras. de Hortic. Ornam.**, 3: 1-4, 1997.

MATSUNAGA, M. Potencial da floricultura brasileira. **Agroanalysis**, 15: 56, 1995.

NOVAIS, R. F; RODRIGUES, D. T. Nutrição e Fertilização de Orquídeas. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA**, 2004, Viçosa. Simpósios Palestras e Mesas Redondas. Sociedade Botânica do Brasil, 2004.

### PALAVRAS – CHAVE

*Epidendrum ibaguenses*, nutrição, adubação

---

<sup>1</sup> Agradecimento ao CNPq e a CAPES

## **Efeito do silicato de potássio no desenvolvimento e produção de copo-de-leite.**

Almeida, Elka Fabiana Aparecida<sup>1</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2\*</sup>; Oliveira, Nilma Portela<sup>2\*\*</sup>; Fonseca, Juliana<sup>2\*\*</sup>; Carvalho, Janice Guedes de<sup>3</sup>; Lima, Alysso Ferreira<sup>3</sup>; Carneiro, Daniela Nogueira Moraes<sup>3\*\*</sup>; Alves, Camila Magalhães Lameiras<sup>3\*</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadora, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, EPAMIG/ CTSM/ FERN, BR 494 – Km 2, Colônia do Bengo – CTAN, Cep 36300-000, São João Del Rei, MG, e-mail: elka@epamig.br, <sup>2</sup>Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa Postal 3037, Cep 37200-000, Lavras, MG. <sup>3</sup>Departamento de Ciências dos Solos (UFLA), Caixa Postal, 37, Cep 37200-000, Lavras, MG. <sup>4</sup>Departamento de Floresta (UFLA), Caixa Postal, 37, Cep 37200-000, Lavras, MG.

Projeto financiado pela FAPEMIG  
\*Bolsista FAPEMIG, \*\*Bolsista CNPq

O silício pode afetar a produção vegetal por meio de várias ações indiretas, como melhorar arquitetura das plantas, com folhas mais eretas, diminuir o auto-sombreamento, reduzindo o acamamento, aumentando a rigidez estrutural dos tecidos e diminuindo a incidência de patógenos. Os estudos sobre o efeito do silício na produção de flores-de-corte ainda são bastante escassos, desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do silicato de potássio no desenvolvimento e produção de inflorescências de copo-de-leite. O experimento foi conduzido no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG. Mudanças de copo-de-leite provenientes da micropropagação, depois de aclimatizadas, foram transplantadas para vasos de 7 dm<sup>3</sup> com substrato a base de areia lavada, esterco bovino curtido e latossolo vermelho, na proporção de 1:1:2. Após o transplante as plantas receberam a adubação silicatada, via solo utilizando-se as concentrações de 90, 180, 270 e 360 mg dm<sup>-3</sup> de silicato de potássio, mais a testemunha. As plantas receberam adubação básica com macro e micronutrientes, sendo realizada a correção do valor do K para padronização do teor deste nutriente no substrato. Assim, foi possível a observação do efeito isolado do silício. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com 4 repetições e três plantas por parcela. Seis meses após a adubação silicatada as plantas foram avaliadas quanto ao número de folhas, número de brotos, altura, massa seca das folhas e produção de inflorescências. Não houve diferença significativa entre os tratamentos, verificando-se que em média, as plantas apresentaram 5,47 folhas, 18,57 cm de altura, 5,48 brotos, 8,57 gramas de massa seca e uma produção de 2,79 inflorescências por planta. Assim, conclui-se que as plantas de copo-de-leite não respondem à adubação silicatada ou a concentração de silício utilizada pode ter sido insuficiente, sendo necessários novos estudos com doses mais elevadas.

### **PALAVRAS CHAVES**

*Zantedeschia aethiopica*, silício, nutrição mineral, flor-de-corte.

## Descrição dos sintomas de deficiência de N, P, K, Ca, S, Fe e B em plantas de copo-de-leite.

Almeida, Elka Fabiana Aparecida<sup>1</sup>; Paiva; Patrícia Duarte de Oliveira<sup>2\*</sup>, Frazão, Jussara Ellen Moraes<sup>3</sup>; Carvalho, Janice Guedes de<sup>3</sup>; Oliveira, Nilma Portela<sup>4\*\*</sup>; Fonseca, Juliana<sup>4\*</sup>; Carneiro, Daniela Nogueira Moraes<sup>2\*\*</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisadora, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, EPAMIG/ CTSM/ FERN, BR 494 – Km 2, Colônia do Bengo – CTAN, Cep 36300-000, São João Del Rei, MG, e-mail: elka@epamig.br; <sup>2</sup>Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 3037, Cep 37200-000, Lavras, MG, [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br); [daninog27@yahoo.com.br](mailto:daninog27@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Departamento de Ciências dos Solos (UFLA), Caixa Postal, 37, Cep 37200-000, Lavras, MG, [jmoraesfrazao@yahoo.com.br](mailto:jmoraesfrazao@yahoo.com.br); [jgcarvalho@ufla.br](mailto:jgcarvalho@ufla.br); [nilmaportela@yahoo.com.br](mailto:nilmaportela@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Departamento de Floresta (UFLA), Caixa Postal, 37, Cep 37200-000, Lavras, MG, [julianafonseca2005@yahoo.com.br](mailto:julianafonseca2005@yahoo.com.br).

Projeto financiado pela FAPEMIG

\*\*Bolsista FAPEMIG, \*Bolsista CNPq

### INTRODUÇÃO

Para o cultivo de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica*), assim como para muitas outras culturas do setor da Floricultura, as informações sobre o correto manejo são bastante restritas, principalmente com relação os aspectos nutricionais.

A avaliação do estado nutricional das plantas, pela qual é possível se detectar quais os elementos limitam a produção em uma cultura, pode ser realizada por diversos procedimentos. Dentre esses procedimentos utilizados, pode-se destacar a diagnose de desordens nutricionais por sintomas visíveis (Marschner, 1995).

Os estudos de sintomas de deficiências nutricionais em espécies ornamentais são bastante insipientes. Para plantas da família *Araceae*, é possível se observar pesquisas direcionadas para avaliação de deficiências nutricionais em *Spathiphyllum* 'Supreme' (Broschat & Donselman, 1986), *Spathiphyllum* 'Sensation' (Yeh et al., 2000), *Philodendron scandens* (Hershey & Merrit, 1987) e *Caladium x hortulanun* Birdsey (Harbaugh, 1986) pelas quais foram detectados sintomas diferentes ocasionados pela omissão do mesmo nutriente.

Como ocorrem variações nos sintomas de deficiências nutricionais entre as espécies, torna-se necessário o estudo do comportamento das plantas cultivadas com a omissão dos nutrientes. Assim, este trabalho teve como objetivo descrever os sintomas de deficiência de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, enxofre, boro e ferro em plantas de copo-de-leite.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG. As plantas de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica*, de coloração branca) provenientes da micropropagação foram colocadas em solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950) com 25% de sua força iônica, para adaptação, onde permaneceram por 48 dias. Após este período, as mudas foram transplantadas para vasos de 1,9 litros e submetidas aos tratamentos com a utilização de solução nutritiva com 30% de sua força iônica.

O experimento foi composto por 8 tratamentos: solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950) (testemunha), omissão individual de N, P, K, Ca, S, B e Fe. As soluções foram formuladas eliminando-se um elemento específico sem mudar a concentração dos demais nutrientes.

Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com 4 repetições e 1 planta por parcela. Diariamente as plantas foram observadas quanto ao consumo de água, sendo a reposição realizada sempre que necessário para completar o volume do vaso. As soluções foram trocadas a cada 15 dias.

As plantas foram freqüentemente observadas quanto a qualquer manifestação dos sintomas de deficiência nutricional, sendo fotografadas e anotadas todas as características



das folhas, inflorescências e raízes que distinguiam as plantas com deficiência das plantas cultivadas na solução completa. O experimento foi conduzido por um período de 1 ano, desta forma, foi possível acompanhar a evolução dos sintomas de deficiência ao longo do tempo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas foram colhidas à medida que as deficiências se acentuaram, conforme o nutriente omitido. A ordem cronológica da manifestação dos sintomas de deficiência foi a seguinte: nitrogênio, enxofre, boro, ferro, potássio, fósforo e cálcio.

### Deficiência de Nitrogênio

As plantas cultivadas sob a omissão de nitrogênio apresentaram, inicialmente, clorose uniforme no limbo e no pecíolo das folhas mais velhas. Com o decorrer do tempo, o sintoma evoluiu, ocorrendo necrose nas bordas em direção ao centro do limbo das folhas mais velhas, as quais secaram completamente. Observou-se que as plantas deficientes de nitrogênio apresentaram folhas com dimensões reduzidas quando comparadas às folhas das plantas cultivadas em solução completa. Além disso, verificou-se que durante o período experimental, as plantas cultivadas com omissão de nitrogênio não produziram inflorescências. Em estudo com *Spathiphyllum*, Yeh et al. (2000) também observaram a emissão de folhas pequenas e amarelecimento das folhas mais velhas no tratamento com omissão de nitrogênio.

### Deficiência de enxofre

A deficiência de enxofre proporcionou, inicialmente, menor desenvolvimento das plantas. As folhas mais novas apresentaram clorose uniforme no limbo e no pecíolo. Com o decorrer do tempo a clorose se acentuou para todas as folhas da planta, as quais se apresentaram estreitas e bastante espessas. Ocorreu redução do crescimento da planta, emissão de folhas pequenas e com os bordos recurvados para cima e formação de raízes mais finas e em menor quantidade, quando comparado com as plantas cultivadas na solução completa. Barroso et al. (2005) também observaram crescimento suprimido e endurecimento das folhas em mudas de teca com deficiência de enxofre.

Mesmo com o crescimento e área foliar reduzidos, as plantas cultivadas com omissão de enxofre atingiram a fase de florescimento. Inicialmente, as inflorescências produzidas apresentaram menor tamanho de haste, espata retorcida, espádice bastante delgado e de coloração branca. Com o decorrer do tempo, as plantas iniciaram a emissão de inflorescências com hastes bastante curtas e espata com textura espessa de coloração branca na face superior e verde escuro na face inferior. Além disso, a espata das inflorescências não se expandiu completamente, permanecendo semi-aberta.

### Deficiência de ferro

As plantas cultivadas com omissão de ferro apresentaram desenvolvimento normal e produção de inflorescências semelhantes às inflorescências das plantas cultivadas na solução completa. Entretanto, foram observadas cloroses internervais nas folhas jovens, as quais não se agravaram com o decorrer do tempo. Os sintomas observados em plantas de copo-de-leite cultivados em solução nutritiva com omissão de ferro foram semelhantes aos sintomas observados por Yeh et al. (2000) em plantas de *Spathiphyllum* e por Harbaugh (1986) em plantas de *Caladium* na mesma condição experimental.

### Deficiência de boro

No tratamento com omissão de boro, as folhas, a princípio, se apresentaram mais espessas e com tonalidade mais escura quando comparadas com as folhas das plantas cultivadas em solução completa. As plantas apresentaram crescimento reduzido e com o decorrer do tempo, as folhas mais novas não se expandiram completamente e apresentaram manchas cloróticas. Lange et al. (2005) observaram a mesma característica de folhas espessas em plantas de mamona cultivadas em solução com omissão de boro e

Yeh et al. (2000) observaram tonalidade escura em folhas de *Spathiphyllum* cultivadas com omissão desse nutriente.

Ainda, verificou-se a morte da gema apical com conseqüente paralisação do crescimento, emissão de raízes curtas, finas e em menor volume quando comparado as plantas cultivadas em solução completa. Salvador et al. (1994) também verificaram perda da dominância apical em cupuaçuzeiro com deficiência de boro.

Observou-se também, a ocorrência de podridão no centro dos rizomas, a qual se estendeu em direção ao ápice da planta.

#### Deficiência de potássio

O primeiro sintoma visual de deficiência de potássio foi a redução do crescimento das plantas cujas folhas apresentaram a bainha e o pecíolo bastante delgado quando comparado à bainha das folhas dos outros tratamentos. Verificou-se também manchas necróticas da ponta do limbo em direção ao centro das folhas mais velhas, concordando com a descrição de Harbaugh (1996) para *Caladium*.

Inicialmente as plantas deficientes de potássio produziram inflorescências com características normais. Entretanto, com o decorrer do tempo, as plantas passaram a emitir inflorescências com hastes curtas as quais apresentaram a espata com coloração esverdeada e que não completava o processo de abertura, permanecendo semi-aberta.

#### Deficiência de fósforo

As plantas cultivadas em solução com omissão de fósforo apresentaram, inicialmente, crescimento reduzido e folhas com tonalidade mais escura quando comparado com as plantas cultivadas em solução completa. Com o decorrer do tempo, verificou-se que as folhas mais velhas apresentaram tonalidade purpúrea das bordas em direção ao centro, com ocorrência de manchas necróticas no centro do limbo. Silveira et al. (2002) observaram sintomas semelhantes para mudas de *Eucalyptus*.

Durante o período experimental observou-se a produção de inflorescências com características morfológicas semelhantes às inflorescências produzidas pelas plantas cultivadas na solução completa.

#### Deficiência de cálcio

Os sintomas de deficiência de cálcio foram caracterizados pela incidência de manchas cloróticas seguida de necrose nas margens das folhas mais novas que secaram completamente. Sintomas semelhantes foram descritos por Hershey & Merrit (1987) para *Philodendron*. A produção de inflorescências durante o período experimental não foi afetada pela deficiência de cálcio, apresentando características morfológicas semelhantes às inflorescências produzidas pelas plantas cultivadas na solução completa.

### CONCLUSÕES

- As omissões individuais de N e B impedem o florescimento de plantas de copo-de-leite.
- As deficiências de enxofre e potássio proporcionam a produção de inflorescências pequenas, com brácteas de coloração verde e com deformações.
- As deficiências de N, B, S, K, Ca e Fe induzem a emissão de folhas cloróticas.
- A omissão de P proporciona a formação de manchas purpúreas nas folhas das plantas de copo-de-leite.
- As omissões de B e S afetam as raízes de plantas de copo-de-leite.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROSO, D.G.; FIGUEIREDO, F.A.M.M. de.; PEREIRA, R. de.C.; MENDONÇA, A.V.R.; SILVA, L.da.C. Diagnóstico de deficiências de macronutrientes em mudas de teca. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.5, p.671-679, 2005.

BROSCHAT, T.K.; DONSELMAN, H. Manganese deficiency symptoms in *Spathiphyllum*. **HortScience**, n. 21, v. 5, p.1234-1235, 1986.

HARBAUGH, B. Visual nutrient symptoms in *Caladium x hortulanum* Birdsey. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, n. 111, v. 2, p. 248-253, 1986.

HERSHEY, D.R.; MERRITT, R.H. Calcium deficiency symptoms of heartleaf *Philodendron*. **HortScience**, n. 22, v. 2, p. 311, 1987.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agriculture Experiment Station, 1950. 347 p.

LANGE, A. MARTINES, A. M. SILVA, M.A.C. da.; SORREANO, M.C.M.; CABRAL, C.P.; MALAVOLTA, E. Efeito da deficiência de micronutrientes no estado nutricional da mamoneira cultivar Iris. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.40, n.1, p.61-67, jan.2005.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, 1995, 889p.

SILVEIRA, R.L.V.de.A; MOREIRA, A.; TAKASHI, E.N.; SGARBI, F.; BRANCO, E.F. Sintomas de deficiência de macronutrientes e de boro em clones híbridos de *Eucalyptus grandis* com *Eucalyptus urophylla*. **Cerne**, Lavras, v.8, n.2, p.107-116, 2002.

SALVADOR, J.O.; MURAOKA, T.; ROSSETTO, R.; RIBEIRO, G.A. Sintomas de deficiências nutricionais em cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) cultivado em solução nutritiva. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, n. 51, v.3, p. 407-414, set./dez. 1994.

YEH, D.M.; LIN, L.; WRIGHT, C.J. Effects of mineral nutrient deficiencies on leaf development, visual symptoms and shoot-root ratio of *Spathiphyllum*. **Scientia Horticulturae**, n. 86, p. 223-233, 2000.

## PALAVRAS-CHAVES

*Zantedeschia aethiopica*, copo-de-leite, *Araceae*, nutrição mineral, flor-de-corte.

## **Influencia de adubações mineral e orgânica na pigmentação de folhas de *Heliconia psittacorum* L.f.**

Santos, Glaucio Leboso Alemparte Abrantes dos<sup>1</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>2</sup>; Pinto, Sabrina Aparecida<sup>3</sup>; Seixas, Ana Alice Gastão<sup>1</sup>; Alvarenga, Ricardo Camilo Eisenberg de<sup>1</sup>; João, Tiago Moisés<sup>1</sup>; Grossi, José Antônio Saraiva<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 9319-1914, email: [glaucioalemparte@gmail.com](mailto:glaucioalemparte@gmail.com);

<sup>2</sup> Professor Adjunto II, PhD, Universidade Federal de Viçosa – Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura, Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 3899-1168, e-mail: [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br); [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br)

<sup>3</sup> Estudante de Mestrado da Universidade Federal de Viçosa Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 8441-4186, e-mail: [sabris\\_ap@hotmail.com](mailto:sabris_ap@hotmail.com)

### **INTRODUÇÃO**

Embora seja uma atividade em ascensão no Brasil e no mundo, são escassas as informações científicas sobre cultivo de flores tropicais. Entre estas plantas destaca-se a família Heliconiaceae, em que se encontra a espécie brasileira *Heliconia psittacorum* L.f., uma das helicônias mais cultivadas no Brasil. Ocorre naturalmente em locais com altas quantidades de matéria orgânica, mas pode ser plantada em solos arenosos ou argilosos com pH entre 4,5 a 6,5. Folhas oval-lanceoladas, subcoriáceas, lisas, com pecíolo curto apresentando limbo, pecíolo e bainha, e no pseudocaulé são opostas e dispostas em duas fileiras verticais (dícticas). O pseudocaulé é formado por um ápice envolto por sobreposição das bainhas das folhas (BERRY & KRESS, 1991). Estas são de grande valor comercial no mercado de folhagens por apresentarem uma cor exuberante e um tempo pós-colheita considerável. Em solos muito ácidos as plantas amarelecem e têm o desenvolvimento comprometido (PAIVA, 1998), isto pode danificar a pigmentação das folhas e flores. CASTRO (1995) indica adubações químicas parceladas em duas a três vezes ao ano com três kg/m<sup>2</sup> da fórmula NPK 18-6-12. Ainda que haja sinalização dos importadores pela preferência por flores produzidas sob manejo orgânico, não se dispõe de informações suficientes sobre esta forma de cultivo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de fontes orgânicas e minerais para a adubação de *Heliconias psittacorum* L.f., visando a pigmentação estética da planta.

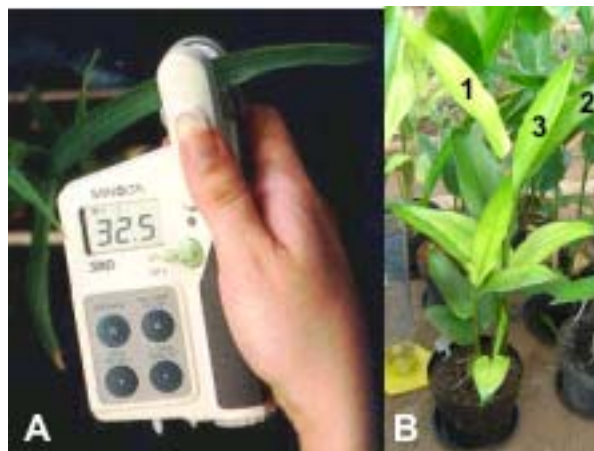
### **METODOLOGIA**

Implantado em junho de 2005, o experimento foi conduzido em casa de vegetação, no setor de Floricultura da Universidade Federal de Viçosa, sobre bancada e sob sombreamento de 50% e irrigação controlada, em vasos plásticos de 5L. O delineamento experimental utilizado foi o DBC, com 9 tratamentos, 4 repetições e duas plantas por unidade experimental. O substrato base foi solo de barranco + areia (1:1), cujos resultados de análises físicas e químicas encontram-se na Tabela 1. As mudas, com cerca de 20cm de altura, foram obtidas de rizomas de uma mesma touceira.

Os tratamentos de adubação foram:

- ❖ T1 – testemunha absoluta (sem adubação);
- ❖ T2 –orgânica com resíduos vegetais secos e esterco caprino não compostados (9% de umidade);
- ❖ T3 –composto orgânico de resíduos vegetais e esterco bovino (42% de umidade),
- ❖ T4 –mineral sob forma de adubo granulado 16g de 15-3-30 + 2,4g de MAP no plantio + 12g de SA de cobertura (45 e 90 dias);
- ❖ T5 –mineral em fertirrigação, dividida em 16 aplicações;
- ❖ T6 –orgânica x mineral ½ de T2 + ½ de T4;
- ❖ T7 –orgânica x mineral ½ de T2 + ½ de T5;
- ❖ T8 –orgânica x mineral ½ de T3 + ½ de T4;
- ❖ T9 –orgânica x mineral ½ de T3 + ½ de T5.

Foi avaliada ao longo do experimento e aos 395 dias do plantio a clorofila, com o medidor portátil de clorofila *Spad*<sub>502</sub>. Foram realizadas 3 medições por folha, nas 3 últimas folhas da planta mais alta do vaso (Figura 1).



**Figura 1. A-** Medidor portátil de clorofila *Spad*<sub>502</sub>  
**B-** Local de avaliação de pigmentação

A média dos resultados das unidades experimentais sofreu análise de variância, com teste de Duncan para comparação das médias a 5% de probabilidade.

**Tabela 1.** Propriedades químicas e características físicas do substrato base utilizado.

pH	P	K	Na	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	SB	(T)	V	m	ISNa
H <sub>2</sub> O	-----mg/dm <sup>3</sup> -----			-----cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----			-----%-----					
6,36	-	1,6	22	-	1,13	0,24	0,00	1,43	2,03	70,4	0,0	-

MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S	Ds	Dp	C.C.
Dag/kg	mg/L	-----mg/dm <sup>3</sup> -----			-----g/cm <sup>3</sup> -----		kg/kg			
-	28,6	4,98	31,6	15,3	2,18	-	-	1,28	2,70	0,125

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância (Tabela 2) demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os efeitos de tratamentos ( $p < 5\%$ ) para clorofila. As médias dos índices de clorofila dos tratamentos 2, 4, 6, 7, 8 e 9 não diferiram estatisticamente entre si, diferindo das médias dos demais tratamentos. As plantas do T9 apresentaram maior índice de pigmentação das folhas, o que pode ser observado na figura 2. Nota-se que os maiores índices de pigmentação foram obtidos pelos tratamentos 6, 7, 8 e 9, todos eles compostos de uma ou mais adubações combinadas. Este resultado indica que a mistura organo-mineral é importante quando se deseja maior índice de pigmentação, independentemente da fonte orgânica vegetal utilizada ou da forma de aplicação do adubo químico. Deve-se levar em consideração que entre as fontes orgânicas o composto orgânico obteve índice de pigmentação menor que o demonstrado pelas plantas sob adubação com a mistura de resíduos vegetais secos não compostados e esterco caprino.

**Tabela 2.** Análise de variância para a variável: clorofila (SPAD)

*TRAT/ VAR	CLO
unid	SPAD
T1	23.66 C
T2	61.09 AB
T3	56.44 B
T4	62.14 AB
T5	57.80 B
T6	65.53 A
T7	65.81 A
T8	62.75 AB
T9	66.75 A
CV%	8.15
GLR	24
M	57.996

Os valores da mesma coluna com letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

\* Tratamentos:

T1 testemunha absoluta

T2 adubação orgânica mistura flori

T3 adubação orgânica composto agro

T4 adubação mineral granulado

T5 adubação mineral fertirrigação

T6 adubação orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T2 +  $\frac{1}{2}$  de T4

T7 adubação orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T2 +  $\frac{1}{2}$  de T5

T8 adubação orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T3 +  $\frac{1}{2}$  de T4

T9 adubação orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T3 +  $\frac{1}{2}$  de T5



**Figura 2.** Despigmentação das folhas de acordo com a adubação utilizada contrastando com a testemunha.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram melhor pigmentação de plantas sob adubação combinada: orgânica e mineral. Os melhores resultados dentre as fontes orgânicas utilizadas foram obtidos para a mistura de resíduos vegetais secos e esterco caprino não compostados, mostrando sua adequação e superioridade no cultivo de *Heliconia psittacorum*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: an identification guide**. 1 ed. Washington: Smithsonian Institution Press, 1991. 334 p.

CASTRO, C. E. F. de. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília, DF: Embrapa – SPI, 1995. 43 p.

PAIVA, W.O. de. **Cultura de helicônias**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT. 20 p. 1998.

(Embrapa-CNPAT. Circular Técnica, 2).

**PALAVRAS-CHAVE:** *Heliconia psittacorum*, floricultura tropical; floricultura orgânica; resíduos vegetais.

## Efeito de diferentes substratos e aplicações de manipueira no desenvolvimento de gerânio.

Resende, Maria Leandra<sup>1</sup>; Almeida, Elka Fabiana Aparecida de <sup>2</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>3</sup>

1-UFLA1-Mestranda do programa de Pós-graduação em Fitotecnia (UFLA), Departamento de Agricultura, NEPAFLOR, C.P. 3037 Lavras, MG CEP 37200-000, fone-(35) 3829 1781-[mleandrar@yahoo.com.br](mailto:mleandrar@yahoo.com.br) ; 2- Pesquisadora da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), CTFM/ FERN km 494, Colônia do Bengo, São João Del Rei, MG, cep 36300-000, fone 38 9109 6050, [elkaflori@hotmail.com](mailto:elkaflori@hotmail.com) ; 3- Professora da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone-(35) 3829 1786- [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br) .

O mercado consumidor de flores no exterior, principalmente na Europa, está se tornando cada vez mais exigente com relação aos resíduos provenientes dos tratamentos culturais. Desta forma a agricultura orgânica apresenta-se como uma nova alternativa para a produção de flores com potencial para exportação, uma vez que são utilizados fertilizantes orgânicos que deixam menos resíduos. A manipueira é o líquido que escorre a partir das raízes carnosas da mandioca por ocasião da prensagem, sendo rica em macronutrientes, principalmente potássio e nitrogênio. O gênero *Pelargonium* pertence à família Geraniaceae, cujas plantas são muito cultivadas em vasos e jardins pela beleza e diversidade de cores de suas flores. Porém, as informações sobre o cultivo de gerânio orgânico são escassas, desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento do *Pelargonium hortorum* L.H. Bailey em diferentes substratos e fertilizações foliares orgânicas. Foram utilizadas mudas com altura média de 5 cm e com número médio de 5 folhas, adquiridas da empresa Syngenta. As mudas foram acondicionadas em vasos de polietileno contendo os substratos: A- terra vermelha, B- esterco bovino + terra vermelha na proporção 1:1 e C- esterco aviário + terra vermelha na proporção 1:5 e como adubação foi feita pulverização foliar a cada 15 dias com a manipueira diluída em água nas proporções de 1 :4; 1 :6; 1 :8; 1 :10; e o controle sem adubação mais o adicional, adubo foliar comercial Biofert<sup>®</sup>, na concentração (5 mL<sup>-1</sup>). Sendo que foram utilizados 4 repetições e duas plantas por parcela, ou seja para cada tratamento foram utilizados 8 vasos. A manipueira foi obtida a partir de mandioca mansa ralada e retirada a água residuária, a qual foi aplicada no mesmo dia de sua extração. Foram avaliados o número de folhas e a altura das plantas, sendo as análises estatísticas feitas pelo programa Sisvar e as médias comparadas pelos testes de Tukey e regressão. Quanto ao número de folhas obteve-se para o substrato esterco bovino + terra vermelha na proporção 1:1, 4,63 folhas, para o esterco aviário + terra vermelha na proporção 1:5 o número de folhas foi de 3,7 e o substrato constituído apenas de terra vermelha 2,05 folhas. Sendo o maior número de folhas para os substratos com esterco bovino e esterco aviário não havendo diferença entre eles. Para as alturas de plantas houve interação significativa entre doses de manipueira e substrato e foi realizada a análise de regressão para determinar a melhor dosagem. As alturas médias para o esterco bovino foram: diluição 1:4 16,71 cm; 1:6 15,8 cm; para 1:8 13,4 cm e para 1:10 13,5 cm. Sendo maior altura para a diluição 1:4. As alturas médias para o esterco aviário foram: diluição 1:4 8,70 cm; 1:6 11,6 cm; para 1:8 7,4 cm e para 1:10 13,4 cm. E a maior altura foi obtida com a diluição 1:10. Quanto ao Biofert<sup>®</sup> as alturas médias foram de 15,35 para o esterco bovino, 13,26 para o esterco aviário e 9,77 para terra vermelha. As maiores alturas foram obtidas pelo esterco bovino e aviário não havendo diferença estatística entre eles. Pode-se concluir que o *Pelargonium* se desenvolve bem com a adubação orgânica, sendo que o esterco bovino propicia melhor desenvolvimento principalmente se utilizar a manipueira que apresenta resultados promissores como adubo foliar.

PALAVRAS CHAVE: *Pelargonium hortorum* L.H. Bailey, gerânio, manipueira, adubação orgânica



## Avaliação de meios nutritivos na micropropagação de *Laelia purpurata*

Rodrigues, Donizetti Tomaz<sup>1</sup>; Batista, Marianna Villaça<sup>2</sup>; Novais, Roberto Ferreira<sup>3</sup>; Alvarez V., Victor Hugo<sup>3</sup>; Shiozaki, Eliane<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Solos, Avenida P H Rolfs, sem nº., Campus Universitário, Departamento de Solos, CEP 36.570-000, Viçosa, MG, fone (31) 9207-2811, e-mail: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Graduanda em Agronomia (UFV), fone (31) 3891-2476, e-mail: [mariannabatista@gmail.com](mailto:mariannabatista@gmail.com) .<sup>3</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630 e-mail: [rfnovais@ufv.br](mailto:rfnovais@ufv.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630, e-mail: [yhav@ufv.br](mailto:yhav@ufv.br); <sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UFV), fone (31) 3891-2476, e-mail: [eliana\\_heero@hotmail.com](mailto:eliana_heero@hotmail.com)

### INTRODUÇÃO

Inúmeros meios são utilizados para a propagação in vitro de orquídeas, com variada composição de sais, fontes de C, substâncias orgânicas, vitaminas e reguladores de crescimento (Ventura, 2002).

Hinnen et al. (1989), estudando o efeito de macronutrientes e de outros componentes no meio de cultura para *Phalaenopsis*, verificaram que o uso de carvão ativado (2 g L<sup>-1</sup>) e polpa de banana (100 g L<sup>-1</sup>) apresentou alto incremento na produção de matéria seca; a aplicação de N proporcionou melhores resultados, sendo que a relação raiz/parte aérea diminui com o aumento da concentração de N; a matéria fresca apresentou resposta linear à adição de K na forma de KCl, sendo a concentração mais elevada correspondente a 3 g L<sup>-1</sup>.

Dentre os materiais utilizados na propagação de orquídeas via semente o que apresenta maior custo é o meio de cultivo, sendo que estes meios poderiam ter seu custo reduzido pela simplificação dos mesmos (Stancato et al., 2001). Uma das formas de simplificar a composição do meio de cultivo é fazer uso de fertilizantes hidrossolúveis como fonte de nutrientes minerais, por vezes apresentando melhores resultados comparativamente aos meios tradicionais.

Procurou-se com esse trabalho avaliar o crescimento de seedlings de *Laelia purpurata* em diferentes meios de cultura.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Os tratamentos foram compostos por diferentes meios de cultura, com ou sem carvão, sendo eles compostos pelos sais de Knudson C (1922), Novais<sup>1</sup>, fertilizante hidrossolúvel Peters 10 30 20<sup>2</sup> e fertilizante hidrossolúvel B&G<sup>3</sup>. Para o meio Novais também foi testado a exclusão de Zn e, ou, B e também a exclusão de todos os micronutrientes presentes neste meio. Para preparo do meio Novais foram utilizados fertilizantes usados em hidroponia.

O ensaio foi conduzido em blocos ao acaso com quatro repetições sendo a unidade experimental composta por um frasco de vidro de 320 mL contendo 35 mL de meio, com cinco plântulas de *Laelia purpurata*. Esse experimento foi realizado no Laboratório de Culturas de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. A análise de variância e os contrastes foram realizados com o auxílio do programa SAEG 9.0.

---

<sup>1</sup>Nitrato de cálcio(1 g L<sup>-1</sup>), fosfato monobásico de amônio (0,5 g L<sup>-1</sup>), sulfato de potássio (0,25 g L<sup>-1</sup>), sulfato de magnésio(0,25 g L<sup>-1</sup>), sulfato ferroso(25 mg L<sup>-1</sup>), sulfato de zinco (5 mg L<sup>-1</sup>), sulfato de manganês(7,5 mg L<sup>-1</sup>), ácido bórico(5 mg L<sup>-1</sup>).

<sup>2</sup> O fertilizante Peters, na sua formulação 10 30 20, apresenta a seguinte composição: N 100 g kg<sup>-1</sup>, P 130,9 g kg<sup>-1</sup>, K 166,0 g kg<sup>-1</sup>, Mg 0,6 g kg<sup>-1</sup>, B 68 mg kg<sup>-1</sup>, Fe 500 mg kg<sup>-1</sup>, Zn 25 mg kg<sup>-1</sup>, Cu 36 mg kg<sup>-1</sup>, Mn 250 mg kg<sup>-1</sup> e Mo 9 mg kg<sup>-1</sup>.

<sup>3</sup> Fertilizante hidrossolúvel com todos os nutrientes



As plântulas, com aproximadamente 0,5 cm de altura, foram cultivadas inicialmente em meio Knudson C durante seis meses. Quando repicadas para os frascos com o respectivo tratamento, estas foram separadas individualmente e limpas do agar aderido às raízes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral a adição de carvão ativado em todos os meios de cultura proporcionou melhores resultados para as variáveis relativas a crescimento de raiz. Dentre os meios, observa-se que os melhores resultados em relação a produção de massa seca de raízes foi obtido com o meio Peters com carvão ativado, comparativamente ao tradicional Knudson (Quadro 2).

A exclusão de Zn e, ou B, ou de micronutrientes, não resultou em diferenças significativas para soma de raízes (SR), comprimento médio de raízes (CMR), maior raiz (MR), número de raízes (NR) e matéria fresca de raízes (Quadro 2).

Para a variável matéria fresca da parte aérea a adição de carvão ativado mostrou que os melhores resultados foram obtidos com os meios Novais, Peters e B&G, já para o meio Knudson a adição de carvão ativado não resultou em diferença significativa para o mesmo meio sem carvão (Quadro 4).

Para o comprimento médio da parte aérea os melhores resultados foram obtidos com B&G, Peters e Novais. Para os tratamentos referentes a exclusão de um ou mais micronutrientes do meio Novais não houve diferenças significativas para as variáveis estudadas, exceto, para comprimento médio da parte aérea (Quadro 4). Essa falta de resposta a exclusão de micronutrientes provavelmente se deu pela presença dos mesmos como contaminantes dos fertilizantes utilizados.

## CONCLUSÕES

O uso de fertilizantes hidrossolúveis com carvão ativado promoveu o melhor crescimento das plantas, mostrando-se viável em substituição aos meios tradicionais de cultura *in vitro* de orquídeas.

Quadro 1 – Análise de Variância para soma do comprimento das raízes (SR), Comprimento médio de raízes (CMR), maior raiz (MR), Número de raízes (NR) e Matéria Fresca de Raízes (MFR)

FV	GL	QM				
		SR	CMR	MR	NR	MFR
		----- cm -----			-----n <sup>o</sup> -----	-----g-----
Bloco	3	2872 ***	3,86 ***	12,05 **	235,58 *	10,11 ***
Tratamento	11	4190 ***	3,52 ***	11,23 ***	492,31 ***	3,58 ***
Resíduo	33	248	0,40	1,83	59,93	0,57
CV (%)		33,45	34,37	34,03	30,41	58,77

\*, \*\*, \*\*\* : significativo pelo Teste F a 5 , 1 e 0,1 %, respectivamente.

Quadro 2 – Teste de Médias para as variáveis soma do comprimento das raízes (SR), Comprimento médio de raízes (CMR), maior raiz (MR), Número de raízes (NR) e Matéria Fresca de Raízes (MFR)

TRATAMENTO	SR	CMR	MR	NR	MFR
	----- cm -----			----n <sup>o</sup> ----	----g----
Knudson	9,7c	1,0c	1,5c	11,0c	0,15c
Knudson/Carvão	16,1c	1,1c	2,5c	14,0c	0,34bc
Novais	26,3c	1,4bc	2,6c	19,3abc	0,50bc
Novais/Carvão	80,8ab	2,2bc	5,1bc	37,3a	2,16ab
Novais -ZN	42,3bc	1,1c	2,3c	36,3ab	1,35bc
Novais -B	45,1bc	1,4bc	3,2bc	30,8ab	1,16bc
Novais-ZN-B	47,6ab	1,3bc	5,5bc	34,3ab	1,33bc
Novais-MICRO	54,9ab	1,5bc	3,7bc	33,8ab	1,92abc
Peters	35,1c	1,5bc	4,6bc	23,0abc	0,61bc
Peters/Carvão	81,8ab	2,8ab	6,4ab	37,0ab	3,28a
B&G	34,6c	2,2bc	5,6bc	14,5c	0,48bc
B&G/Carvão	73,8ab	4,3a	9,6ab	17,8c	2,15ab

Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5 % de significância.

Quadro 3 – Análise de Variância para soma do comprimento das unidades da parte aérea<sup>1</sup> (SPA), Comprimento médio da parte aérea (CMPA), maior unidade de parte aérea (MPA), Número de unidades de parte aérea (NPA), Matéria Fresca da parte aérea (MFPA)

FV	GL	QM				
		SPA	CMPA	MPA	NPA	MFPA
		----- cm -----			----n <sup>o</sup> ----	----g----
Bloco	3	85,63 **	0,92 *	3,62 ***	0,28 ns	1,49 ***
Tratamento	11	190,03 ***	2,62 ***	7,12 ***	9,29 ***	0,96 ***
Res	33	15,17	0,27	0,50	1,99	0,11
CV (%)		27,64	27,48	23,32	19,24	45,40

<sup>1</sup> Considera-se unidade de parte aérea a estrutura vegetativa formada por caule(pseudobulbo) mais e sua folha correspondente.

<sup>ns</sup>, \*, \*\*, \*\*\* : não-significativo e significativo pelo Teste F a 5 , 1 e 0,1 %, respectivamente.

Quadro 4 – Teste de Médias para as variáveis soma do comprimento das unidades da parte aérea(SPA), Comprimento médio da parte aérea (CMPA), maior unidade de parte aérea (MPA), Número de unidades de parte aérea (NPA), Matéria Fresca da parte aérea (MFPA)

TRATAMENTO	SPA	MPA	CMPA	NPA	MFPA
	----- cm -----			----n <sup>o</sup> ----	----g----
Knudson	5,3 c	1,4 c	1,0 bc	6,5 abc	0,16 b
Knudson/Carvão	9,3 c	2,6 bc	1,5 bc	6,3 bc	0,37 b
Novais	8,2 c	2,6 bc	1,6 bc	6,3 bc	0,27 b
Novais/Carvão	23,8 a	4,3 ab	2,8 a	10,8 a	1,48 a
Novais -ZN	16,6 abc	2,8 bc	2,0 bc	8,0 abc	0,89 ab
Novais -B	14,7 abc	3,1 bc	2,0 bc	6,8 abc	0,75 ab
Novais-ZN-B	16,3 abc	2,5 bc	1,7 bc	8,0 abc	0,73 ab
Novais-MICRO	16,3 abc	2,9 bc	1,9 bc	9,5 ab	0,96 ab
Peters	6,6 c	1,6 bc	0,8 c	6,0 c	0,20 b
Peters/Carvão	17,8 abc	5,2 a	2,3 ab	6,3 bc	1,54 a
B&G	7,6 c	2,0 bc	1,2 bc	7,8 abc	0,53 b
B&G/Carvão	21,7 ab	5,7 a	3,5 a	6,0 c	1,20 a

Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste F a 5 % de significância.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- VENTURA, G.M. Propagação in vitro de orquídeas do grupo Cattleya. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2002. 147p. (Tese de Mestrado)
- STANCATO, G.C.; BELMELMONS, P.F. & VEGRO, C.L.R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes in vitro e sua viabilidade econômica: Estudo de Caso. R. Bras. Hortic. Ornam., 7:25-33, 2001.
- HINNEN, M.G.J.; PIERIK, R.L.M. & BRONSEMA, F.B.F. The influence of macronutrients and some other factors on growth of Phalaenopsis hybrid seedlings in vitro. Sci. Hortic., 41:105-116, 1989.

## PALAVRAS-CHAVE

*Laelia purpurata*, meios nutritivos, nutrição

## **Crescimento de variedades pendentes de *Zigocactus Truncatus* sob diferentes doses de adubações**

Samartini, Carolina Queiroz<sup>#</sup>; Pinto, Sabrina Aparecida<sup>1</sup>; Tomaz, Donizetti Rodrigues<sup>4</sup>; Santos, Glaucio Lebosco Alemparte Abrantes dos<sup>3</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Mestrado da Universidade Federal de Viçosa Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 8441-4186, e-mail: [sabris\\_ap@hotmail.com](mailto:sabris_ap@hotmail.com)

<sup>2</sup>Professor Adjunto II, PhD, Universidade Federal de Viçosa – Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura, Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 3899-1168, e-mail: [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br);

<sup>3</sup>Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 9319-1914, email: [glaucioalemparte@gmail.com](mailto:glaucioalemparte@gmail.com).

### **INTRODUÇÃO**

A *Schulumbergera truncata* ou *Zigocactus Truncatus*, também conhecida popularmente por flor-de-maio ou flor-de-seda, é uma cactácea do grupo das plantas suculentas, que são plantas de folhas carnosas e com elevado conteúdo de água (DAMASCENO, 2007). De origem brasileira, são plantas herbáceas epífitas, perenes, cultivadas em vasos (LORENZI, 2000), sob diversas situações de luminosidade, de pleno sol à sombra. Sua floração é muito ornamental, nas cores rósea, vermelha, branca ou amarela. O caule é segmentado em artículos suculentos, achatados, pendentes e com margens dentadas. Nas suas extremidades concentram-se flores vistosas, muito apreciadas por beija-flores (CARVALHO, 2007). Há variedades que apresentam crescimento ereto. Um dos cactos mais apreciados e difundidos, a flor-de-maio, como o nome sugere, tende a florescer no mês das mães. Por este motivo é bastante comercializado nesta época para presente (CASA E CIA., 2007). Seus artículos podem ser destacados e enraizados para formar novas plantas. A cada ano, após a floração, formam-se novos artículos que serão os responsáveis pela próxima florada. O porte da planta pode variar de 30 a 60 cm de altura, e as flores surgem do outono ao inverno. Prefere clima quente e úmido. Referências sobre a nutrição destas plantas são raras ou quase inexistentes, a indicação que se tem é em geral para plantas de vaso. Ou para as cactáceas em geral encontra-se alguns relatos de donas de casa, mostrando ser pouco exigentes em adubações. Sendo assim trabalhou objetivou analisar o desenvolvimento vegetativo de *Zigocactus truncatus* pendentes, relacionados a dois adubos em doses diferentes.

### **MATERIA E MÉTODOS**

O presente experimento foi montado em casa de vegetação sobre bancada, na Universidade Federal de Viçosa, no dia 18 de outubro de 2006. Foram utilizados artículos enraizados, e como substrato, o Bioplant®, substrato comercial amplamente utilizado na floricultura de vaso.

Características das mudas utilizadas: artículos com 3,5cm a 4,0 cm enraizados. As raízes foram padronizadas, podadas no mesmo comprimento. As plantas foram colocadas em vaso de polietileno de 8 cm de diâmetro com prato (Figura 1). As irrigações foram realizadas de forma a manter, sem excessos, a umidade do substrato.

O experimento foi montado no delineamento em blocos casualizados, com 9 tratamentos e 7 repetições, sendo que cada bloco constava de uma variedade diferente. Os adubos utilizados foram Ouro verde®(OV ) (15-15-20 + Ca, S e micros) uma adubo amplamente recomendado para ornamentais e o Belas e Grandes® (B&G), adubo formulado pelo departamento de Solos da mesma instituição com formulação similar ambos com doses recomendadas de 2 g por litro a cada 15 dias.

Aplicados quinzenalmente, os tratamentos foram:

T1 - testemunha sem adubação

T3 – 2 g L<sup>-1</sup> de B&G

T2 – 1 g L<sup>-1</sup> de B&G

T4 – 3 g L<sup>-1</sup> de B&G

T5 – 4 g L<sup>-1</sup> de B&G  
T7 – 2 g L<sup>-1</sup> de OV  
T9 – 4 g L<sup>-1</sup> de OV

T6 – 1 g L<sup>-1</sup> de OV  
T8 – 3 g L<sup>-1</sup> de OV

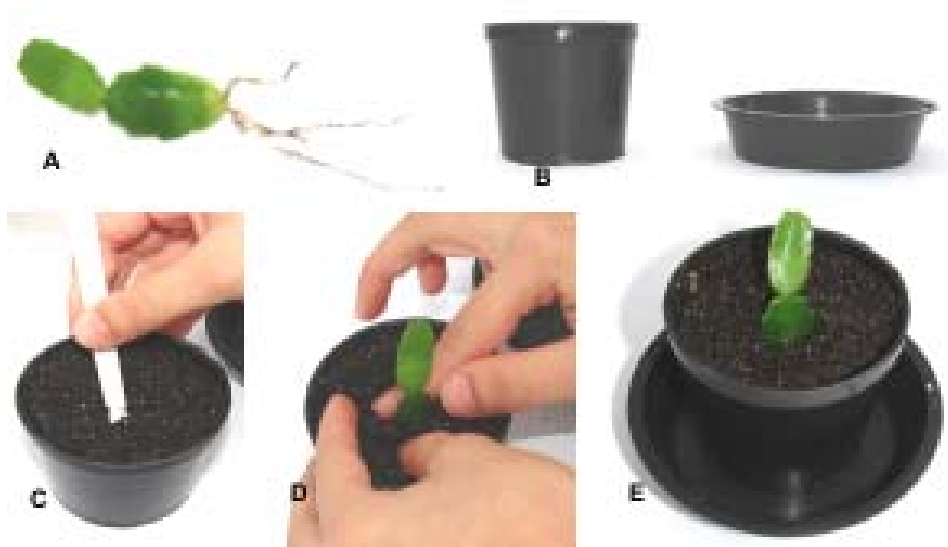


Figura 1. Características das mudas utilizadas e passos adotados no plantio

- A. Artículos com 3,5 cm a 4,0 cm enraizados
- B. Vaso de polietileno de 8cm de diâmetro com prato
- C. Substrato comercial Bioplant®
- D. Plantio
- E. Plantas padronizadas para o experimento.

Os vasos foram etiquetados com etiquetas coloridas para facilitar a visualização e aplicação dos tratamentos.

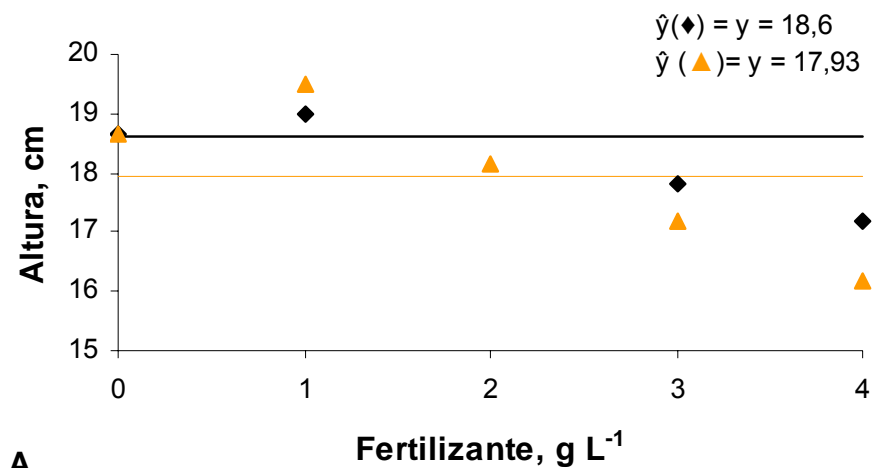
Foram avaliados ao longo do tempo: altura da planta, número de brotações. Para a medição de altura da planta foi considerada a distância do coleto até o artigo mais alto. Na avaliação do número de ramificações, foram considerados todos os ponteiros. Todas as avaliações foram realizadas mensalmente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

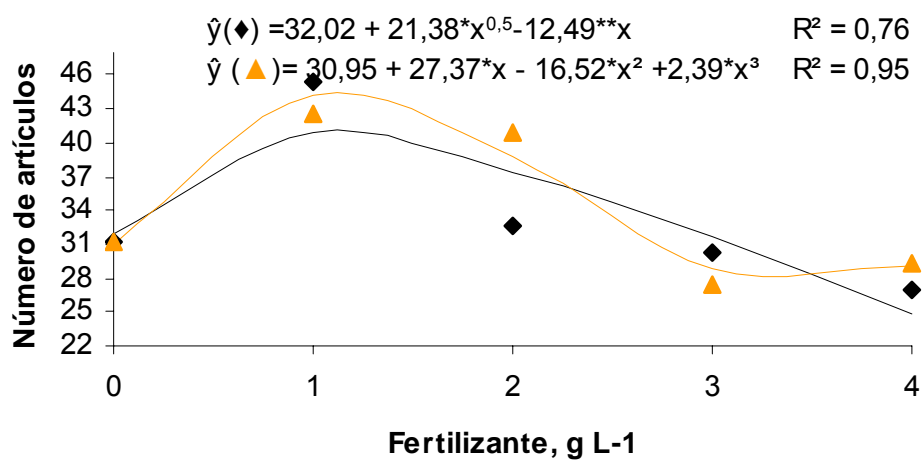
O número de ramificações é característica importante da planta, pois é deles que surgirão as flores, aspecto mais esperado desta espécie. A altura da planta é importante para a estética, levando em consideração o tipo de vaso que esta venha a ocupar.

Os resultados mostram que para a variável altura, apesar de não se ajustar às curvas de equação, há uma tendência de redução linear da mesma com o aumento das doses para ambos os fertilizantes utilizados (figura 2A), mostrando uma altura média de 18,60cm e 17,93cm para os adubos B&G e OV respectivamente.

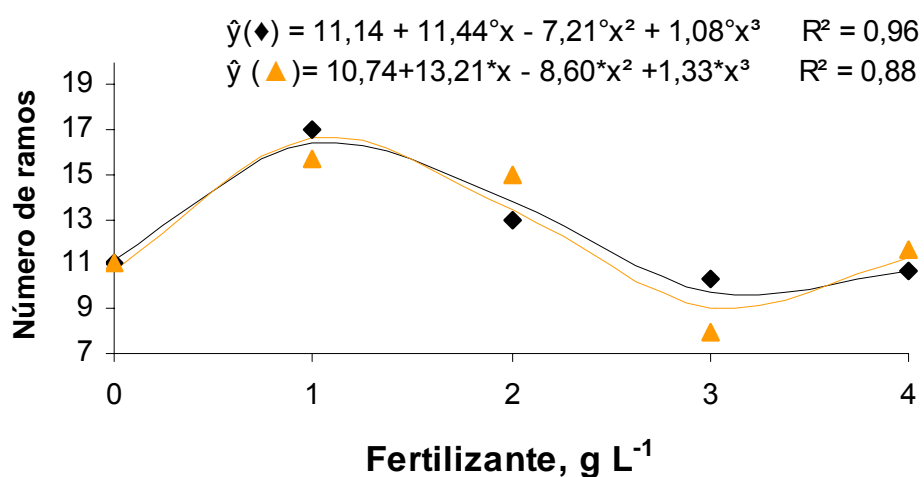
Para a variável ramificação, para ambos os fertilizantes as curvas ajustadas mostraram que para o adubo OV a dose que atingiu a média máxima de ramificações (16,68) foi 1,0 g L<sup>-1</sup>. O adubo B&G alcançou maior média de ramificações (15,25) com a dose de 0,687g L<sup>-1</sup> (figura 2B).



**A**



**B**



**C**

Figura 2. **A.** Altura, **B.** número de artículos e **C.** número de ramos de flor de seda em resposta a doses dos fertilizantes B&G® (♦) ou Ouro Verde® (▲)

A variável, número de artigos também teve as curvas ajustadas para os dois fertilizantes sendo que para o adubo OV foi necessária uma dose de 1,1g para atingir uma maior média (44,249) e para o adubo B&G esta dose foi menor 0,73g L<sup>-1</sup> para uma media de 41,17, não diferindo estatisticamente uma da outra (figura 2C).

#### CONCLUSÕES

A planta estudada, *Zigocactus truncatus*, mostrou-se como pouco exigente em adubações, considerando os resultados das doses testadas nas médias das variáveis analisadas. Ainda se fazem necessários mais estudos relacionados à adubação destas plantas, investigando outras doses e fontes.

#### REFERÊNCIAS

LORENZI, H., SOUZA, H.M., **Plantas ornamentais no Brasil – arbustivas, herbáceas e trepadeira.**, Nova Odesa, São Paulo., 2001

CASAECIA, 2007. **Suculentas e cactáceas.** Casa e cia, Disponível em <http://www.casaecia.arq.br/suculentas1.htm>. Acesso em 10 de Maio de 2007.

Carvalho, M. 1995. **Cactos caranguejeiro.** Disponível em <http://dias-com-arvores.blogspot.com/2005/12/cacto-caranguejo.html>. Acessado em 10 de Maio de 2007.

DAMASCENO, S. 2007. **Flor-de-maio.** Disponível em <http://www.jardineiro.net/botanica/banco/4flordemaio.php>. acessado em 10 de Maio de 2007.

## **Desenvolvimento vegetativo em vaso de *Zigocactus truncatus* semi - eretos sob diferentes doses de adubações.**

Pinto, Sabrina Aparecida<sup>1</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>2</sup>; Samartini, Carolina Queiroz<sup>3</sup>; Santos, Glaucio Lebos Alemparte Abrantes dos<sup>3</sup>; Tomaz, Donizetti Rodrigues<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Mestrado da Universidade Federal de Viçosa Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 8441-4186, e-mail: [sabris\\_ap@hotmail.com](mailto:sabris_ap@hotmail.com)

<sup>2</sup>Professor Adjunto II, PhD, Universidade Federal de Viçosa – Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura, Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 3899-1168, e-mail: [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br);

<sup>3</sup>Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 9319-1914, email: [glaucioalemparte@gmail.com](mailto:glaucioalemparte@gmail.com) .

### **INTRODUÇÃO**

No cultivo em vasos, as adubações devem ser realizadas com maior frequência e adequadas à espécie escolhida. As regas são fator de grande importância, pois devem ser efetuadas de acordo com as necessidades específicas de cada planta. O *Zigocactus truncatus*, também conhecida popularmente por flor-de-maio, é uma cactácea amplamente comercializada no Brasil e no exterior (SHUMANN, 1990). São plantas de folhas carnosas e com elevado conteúdo de água. De origem brasileira, são plantas herbáceas epífitas, perenes, cultivadas em vasos (LORENZI, 2000), sob diversas situações de luminosidade, de pleno sol à sombra. Sua floração é muito ornamental, nas cores rósea, vermelha, branca ou amarela. O caule é segmentado em artículos suculentos, achatados, pendentes e com margens dentadas. Nas suas extremidades concentram-se as flores vistosas, muito apreciadas por beija-flores (HAMMER, 1980). Há variedades que apresentam crescimento semi-ereto. Porém estas plantas são ainda pouco estudadas com relação a formas de adubação e fonte dos nutrientes. Existem indicações para as cactáceas, mas não são adaptadas para essas plantas como mostram estudos preliminares. Seu caule é formado de várias partes (artículos), que podem ser destacados para formar novas plantas. A cada ano, após a floração, formam-se novos artículos que serão os responsáveis pela próxima florada. Seu porte pode variar de 30 a 60 cm de altura, e as flores surgem do outono ao inverno. Prefere clima quente e úmido. A Flor-de-maio costuma ser comercializada em vasos, no período entre maio e julho, quando sua exuberância é máxima.

Existem algumas recomendações, ainda não muito estudadas, sobre as cactáceas, mas nada específico a flor-de-maio. O que se verifica é que são extremamente sensíveis a adubações pesadas. Este trabalho teve por objetivo analisar o desenvolvimento vegetativo de *Zigocactus truncatus* semi-eretos relacionados a dois adubos em doses diferentes.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente experimento foi montado em casa de vegetação sobre bancada, na Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizados artículos enraizados, e como substrato, o Bioplant®, substrato comercial amplamente utilizado na floricultura de vaso.

Características das mudas utilizadas: artículos com 3,5 cm a 4,0 cm enraizados. As raízes foram padronizadas, podadas no mesmo comprimento. As plantas foram colocadas em vasos de polietileno de 8cm de diâmetro com prato (Figura 1). As irrigações foram realizadas de forma a manter, sem excessos, a umidade do substrato. O experimento foi montado no delineamento em blocos casualizados, com nove tratamentos e cinco repetições. Os adubos utilizados foram Ouro verde® (OV) (15-15-20 + Ca, S e micros), adubo amplamente recomendado para ornamentais e o Belas e Grandes® (B&G) adubo formulado pelo Departamento de Solos da UFV com formulação similar. A dose recomendada de ambos é 2g por litro a cada 15 dias, para flores de vaso não especificamente flor-de-maio.

As avaliações foram realizadas ao longo do experimento, sendo a última delas quando as plantas atingiram seis meses de cultivo, próximo à possível primeira florada.



Tratamentos: Aplicados quinzenalmente

- T1 - testemunha sem adubação
- T2 – 1 g L<sup>-1</sup> de B&G
- T3 – 2 g L<sup>-1</sup> de B&G
- T4 – 3 g L<sup>-1</sup> de B&G
- T5 – 4 g L<sup>-1</sup> de B&G
- T6 – 1 g L<sup>-1</sup> de OV
- T7 – 2 g L<sup>-1</sup> de OV
- T8 – 3 g L<sup>-1</sup> de OV
- T9 – 4 g L<sup>-1</sup> de OV

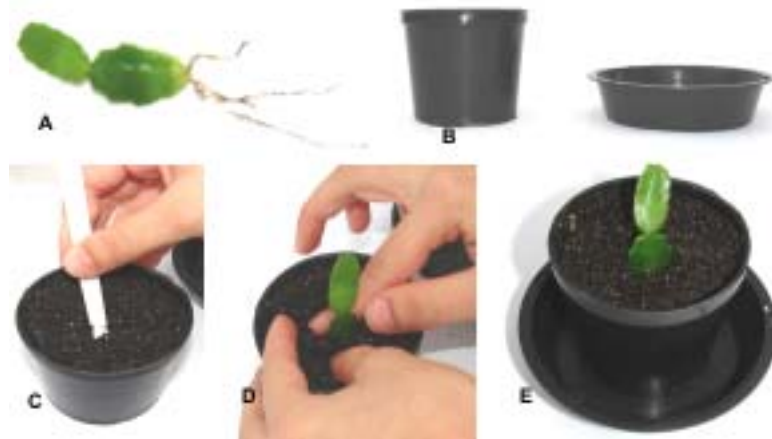


Figura 1. Características das mudas utilizadas e passos adotados no plantio

- A. Artículos com 3,5 cm a 4,0 cm enraizados
- B. Vaso de polietileno de 8,0 cm de diâmetro com prato
- C. Substrato comercial Bioplant®
- D. Plantio
- E. Plantas padronizadas para o experimento.

Foram avaliados ao longo do tempo: altura da planta, número de artículos e número de brotações. Para a medição de altura da planta foi considerada a distância do coleto até o artículo mais alto. Na avaliação do número de ramificações, foram considerados todos os ponteiros, como mostrado na figura 2. Todas as avaliações foram realizadas mensalmente.



Figura 2. Avaliações ao longo do tempo

- A- Número de ramificações (10 nesta planta)
- B- Atura da planta

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de ramificações é característica comercialmente importante para a planta, pois é deles que surgirão as flores. A altura da planta é importante para a estética, levando em consideração o recipiente em que venha a ser comercializada.

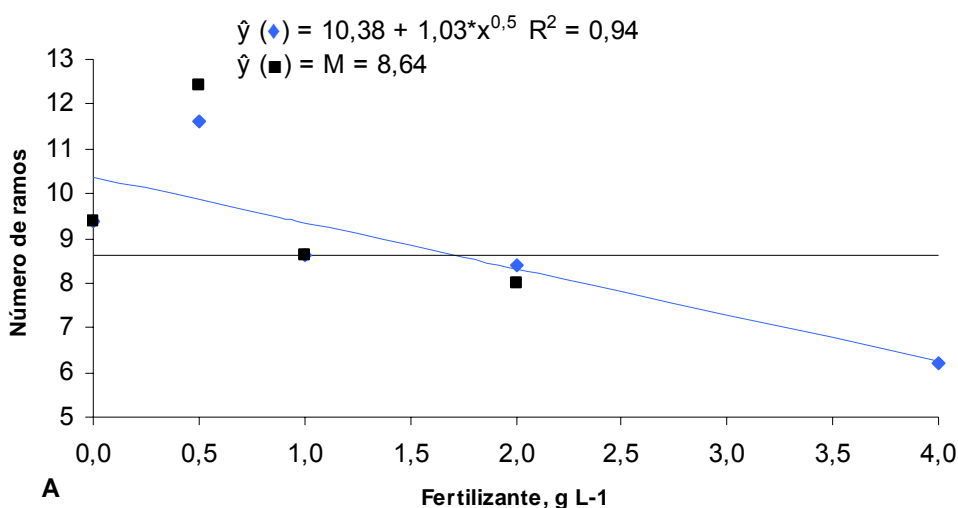
Os resultados mostram que não houve diferença estatística para os fertilizantes utilizados (Quadro 1).

Quadro ANOVA - QM						
FV	GL	QM				
		ALTURA	BROTOS	ARTÍCULOS		
Bloco	4	17,48 *	93,89 ***	340,48 ***		
Tratamento	8	9,76 **	27,9 **	134,51 ***		
BG vs OV	1	5,12 ns	8,82 ns	0,5 ns		
Resíduo	32	3,91	7,98	29,48		
C.V. (%)		12,15	32,59	26,21		

Quadro 1. ANOVA e QM referente aos dois adubos utilizados

Para a variável número de ramos, não houve ajuste de curvas de equação para o adubo OV, entretanto, seu efeito é indicado por picos de produção de ramos à dose de aproximadamente  $0,5\text{g L}^{-1}$ , mostrando produção média de 8,64 ramos. Já para o adubo B&G, há tendência de redução linear da média de produção de ramos com o aumento das doses.

Para o número de artigos novamente as médias do adubo OV não se ajustaram mostrando média de 20,28 artigos por planta. Para o adubo B&G a curva foi ajustada perfeitamente mostrando maior produção de artigos (28,52 artigos por planta) à dose de  $0,3\text{g L}^{-1}$ .



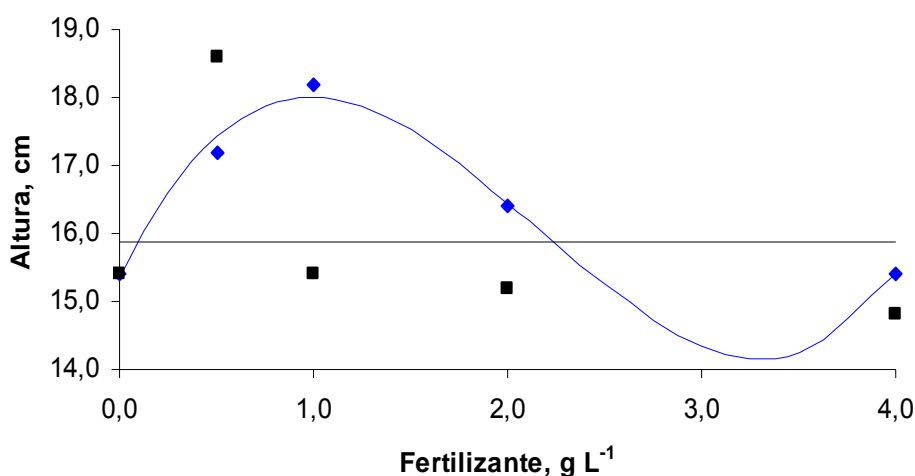
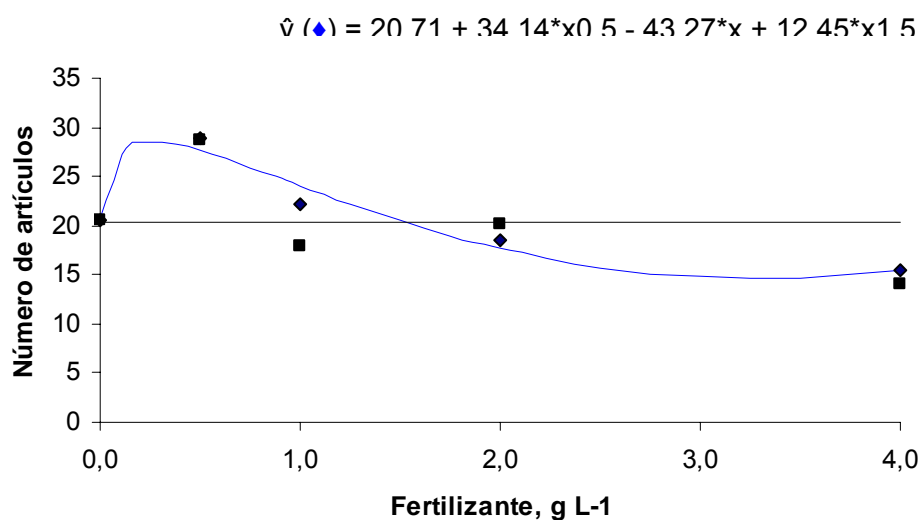


Figura 1. **A.** número de ramos, **B.** número de artigos e **C.** Altura de flor de seda em resposta a doses dos fertilizantes B&G® (◆) ou Ouro Verde® (■)

Na variável altura o desajuste de médias para o adubo OV se repete, porém mostra tendência de maior pico de altura em doses inferiores às recomendadas, mostrando altura média de 15,88 cm. Já pra o adubo B&G as médias foram ajustadas mostrando produção de plantas maiores (18,01cm) sob dose de 1,0g L<sup>-1</sup>.

#### CONCLUSÕES

Ainda é necessário maior estudo de adubação destas plantas. O *Zigocactus truncatus* é planta pouco exigente em adubações, considerando os resultados das doses e

variáveis analisadas. As doses indicadas dos dois adubos estudados mostram-se superiores as exigências das plantas nesta fase de desenvolvimento, para esta espécie.

PALAVRAS – CHAVE: *Zigocactus truncatus*, Flor-de-seda, Flor-de-maio, adubação.

#### REFERÊNCIAS

LORENZI, H., SOUZA, H.M., **Plantas ornamentais no Brasil – arbustivas, herbáceas e trepadeira.**, Nova Odesa, São Paulo., 2001.

RAMMER, P.A., *Other flowering pot plants – Schlumbergera*, In: LARSON, R. A. **Introduction to Floriculture**. New York: ACADEMIC PRESS, 1980. p. 436-475.

SHUMANN, K. , *Zygocactus*, In: SHUSTER, D., **The world of CACTI – How to select from and care for over 1000 species**. New York: Facts On File, 1990.

## Teores de Ca, Mg, P, K, S, Fe, Mn, Zn e B em folhas de *Phalaenopsis spp.* em resposta à aplicação de doses de calcário em vaso.

RODRIGUES, Donizetti Tomaz<sup>1</sup>; NOVAIS, Roberto Ferreira<sup>2</sup>; ALVAREZ V., Victor Hugo<sup>3</sup>; EUCLIDES, Thais Moraes<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Solos, Avenida P H Rolfs, sem nº., Campus Universitário, Departamento de Solos, CEP 36.570-000, Viçosa, MG, fone (31) 9207-2811, e-mail: [donitom@yahoo.com.br](mailto:donitom@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630 e-mail: [rfnovais@ufv.br](mailto:rfnovais@ufv.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Solos da UFV, fone (31) 3899-2630, e-mail: [vhav@ufv.br](mailto:vhav@ufv.br); <sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UFV), fone (31) 9303-4005, e-mail: [thaiseuclides@yahoo.com.br](mailto:thaiseuclides@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

A floricultura brasileira vem investindo em qualidade e se consolidando como um importante setor da economia nacional onde o agronegócio de flores e plantas ornamentais apresenta-se em forte expansão, conquistando novos mercados internos e externos.

A família Orchidaceae é constituída por mais de 1.800 gêneros, os quais são constituídos por cerca de 35.000 espécies (Watanabe, 2002), além de algumas centenas de milhares de híbridos obtidos a partir de cruzamentos entre gêneros e espécies.

Vários trabalhos foram realizados com a fertilização e nutrição do gênero *Phalaenopsis*, de origem asiática, nutricionalmente mais exigente quando comparado com outros gêneros de crescimento e desenvolvimento mais lentos, como *Cattleya* e *Laelia*, sendo que, no primeiro caso, algumas plantas podem apresentar flores no primeiro ano de idade (Demundo, 2004).

A concentração de íons hidrogênio (pH) é um fator importante no meio de cultivo, tendo em vista que o mesmo afeta o crescimento radicular e de microrganismos, sendo estes geralmente favorecidos em substratos levemente ácidos, 5,5 a 6,5. Em pH superior a 7, a solubilidade de P, Fe, Zn, Mn e B são fortemente reduzidas (Marschner, 1995; Taiz & Zeiger, 2004).

Procurou-se com este experimento avaliar a resposta desta espécie à adição de calcário dolomítico ao substrato de cultivo.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento, em blocos ao acaso com seis doses de calcário e oito repetições, foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. O calcário foi aplicado sobre a superfície do vaso nas doses de 0; 1; 2; 3; 4; 5 g dm<sup>-3</sup>, corrigidas para um PRNT de 100 %.

A unidade experimental foi constituída por um vaso plástico de 1.000 cm<sup>3</sup>, preenchido com uma camada de 200 cm<sup>3</sup> brita zero (gnaisse) no fundo e o restante, 800 cm<sup>3</sup>, preenchido com xaxim desfibrado com uma planta. O pH do lixiviado do substrato foi determinado quinzenalmente. Para isso, aplicou-se no vaso um volume de água suficiente para que o excesso a ser recolhido fosse de, aproximadamente, 25 mL.

O calcário utilizado apresentou um PN de 96,50 % e PRNT de 96,42 %, com 350 g/kg de CaO e 140 de MgO.

Foram realizadas fertirrigações semanais com uma solução contendo 2 g L<sup>-1</sup> de um fertilizante solúvel 30-10-10 + micro (Peters<sup>®</sup>), em doses de 100 mL vaso<sup>-1</sup>, semanalmente.

Ao final do experimento a segunda folha madura de cada unidade experimental foi coletada, pesada e submetida à análise química para determinação dos teores de Ca, Mg, P, S, Fe, Mn, Zn e B.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de calcário, como esperado, aumentou o valor de pH do lixiviado dos vasos em todos os tratamentos (Figura 1), contudo, após este aumento inicial os valores de pH decresceram ao longo do tempo (figura 2).

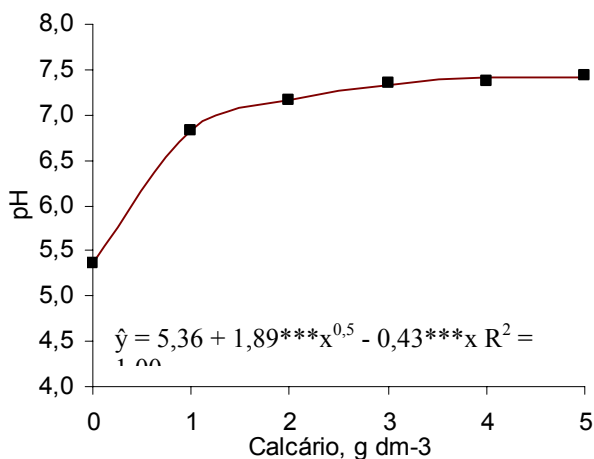


Figura 1- Variação do pH em resposta a doses de calcário.

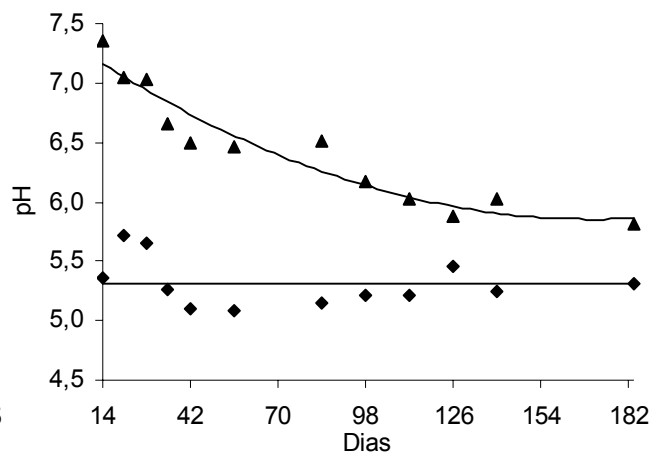


Figura 2 - pH nas doses 0 (♦) e 5 g dm<sup>-3</sup> (▲) de calcário ao longo do tempo.

Os teores de P encontrados estão dentro da faixa considerada adequada, 1 a 7,5 g kg<sup>-1</sup> (Jones Jr. et al 1991; Arditti, 1992).

Os teores de Ca aumentaram significativamente com as doses de calcário, sendo que o tratamento que não recebeu calcário apresentou teor inferior àqueles considerados adequados para o gênero *Phalaenopsis*: 15 – 25 g kg<sup>-1</sup> (Arditti, 1992). A utilização de calcário neste experimento apresentou como principal função o suprimento de Ca, tendo em vista a ausência deste nutriente na maioria das formulações do fertilizante Peters, o qual é amplamente utilizado no meio orquidófilo.

O comportamento do Mg foi semelhante ao do Ca, sendo que o teor encontrado para o tratamento que não recebeu calcário foi menor do que aqueles considerados adequados: 4 – 8 g kg<sup>-1</sup> para *Phalaenopsis* (Arditti, 1992).

Os teores de Fe, Zn, Mn e B sofreram decréscimo em resposta ao efeito de dose de calcário, porém, permaneceram dentro daqueles considerados adequados para *Phalaenopsis* (50 – 150, 20 - 60, 100 – 200 e 25 – 50, respectivamente) (Arditti, 1992). Para Mn, houve aumento do teor na primeira dose de calcário em relação ao tratamento que não recebeu calcário, mas para as doses seguintes houve queda desse valor. Provavelmente, não ocorreram problemas de deficiência ou toxicidade de Mn mesmo com o alto teor desse nutriente encontrado no xaxim: 1.593 e 62 mg kg<sup>-1</sup> (Novais & Rodrigues, 2004).

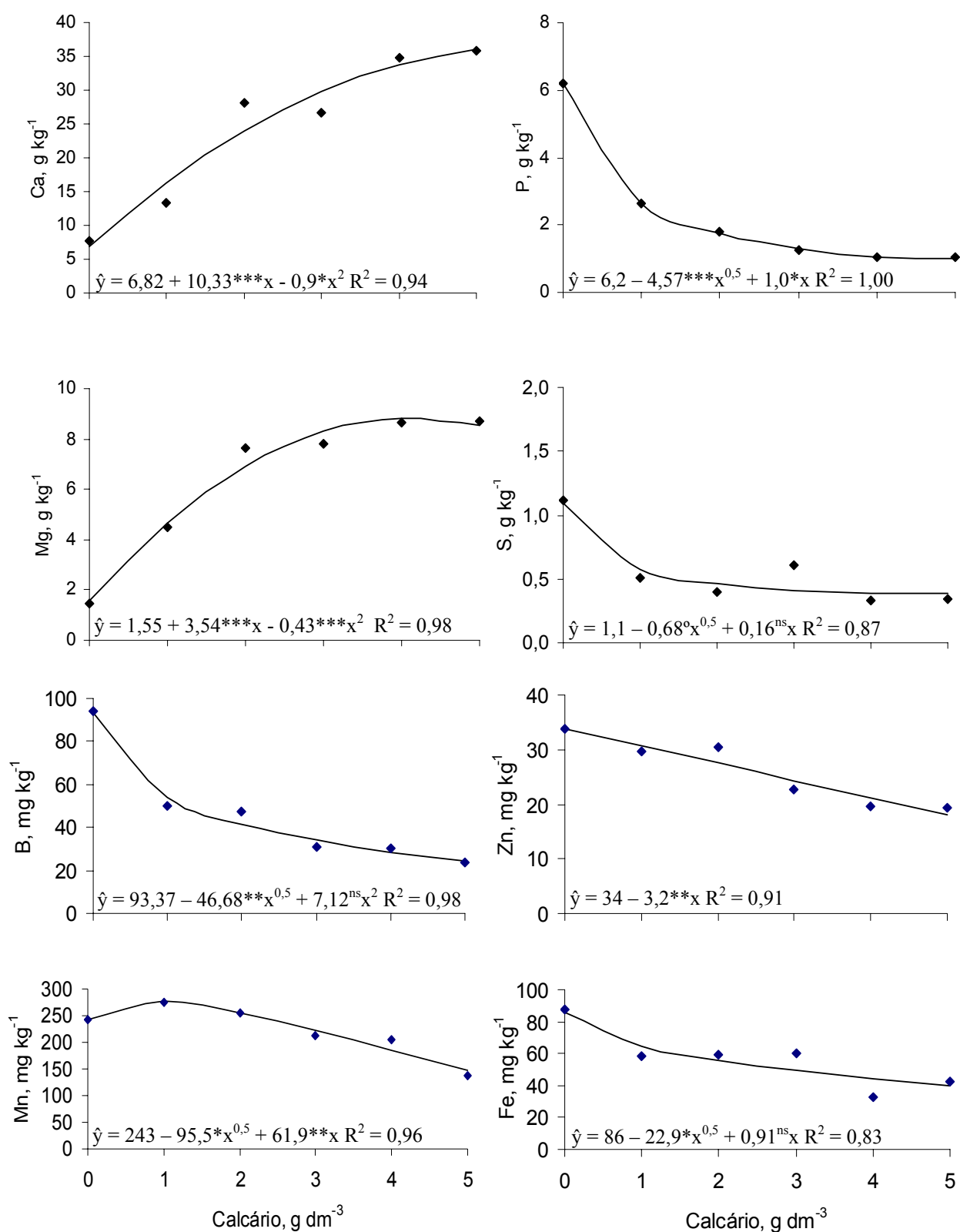


Figura 3 – Teores de cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe) em resposta a doses de calcário.

Apesar dos elevados valores de pH, as plantas conseguiram absorver quantidades adequadas de P, Fe, Mn, Zn e B; o que não era esperado. Para enxofre todas as plantas se apresentaram deficientes, resultante da carência desse nutriente no fertilizante utilizado.

#### CONCLUSÃO

A utilização do calcário foi eficiente no suprimento de Ca e Mg. Os teores de P, S, Fe, Zn, Mn e B apresentaram comportamento decrescente porem com teores adequados, exceto para S.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, Academic Press. 1995. 888p.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre, Artmed, 2004. 719p.

JONES Jr., J.B.; WOLF, B. & MILLS, H.A. **Plant analysis handbook**. Athens, Micro-Macro Publishing, Inc. 1991. 213p.

ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. New York, John Wiley & Sons. 1992. 691p.

NOVAIS, R.F & RODRIGUES, D.T. **Nutrição e fertilização de orquídeas**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA, 2004, Viçosa. Simpósios Palestras e Mesas Redondas. Sociedade Botânica do Brasil, 2004.

RÖMHELD, V. & MARSCHNER, H. **Function of micronutrients in plants**. In: MORDVET, J.J.; GIORDANO, P.M. & LINDSAY, W.L., eds. Micronutrients in agriculture. Madison, Soil Science Society of America, 1991. p.703-719.

DEMUNDO, F.A. *Phalaenopsis*. **O mundo das orquídeas**, 35:6-10, 2004.

WATANABE, D. *Orquídeas: manual de cultivo*. São Paulo, Associação Orquidófila de São Paulo, 2002. 296p.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Phalaenopsis*, nutrição, calagem.



## Substrato com fibra de coco e adubações no cultivo de *Crassula capitella*

Marília Andrade Lessa<sup>(1)</sup>, Patrícia Duarte de Oliveira Paiva<sup>(1)</sup>, Camila Magalhães Lameiras Alves<sup>(1)</sup>, Maria Leandra Resende<sup>(1)</sup> e Renato Paiva<sup>(2)</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Dep. De Agricultura - Caixa Postal. 3037, Lavras – MG, CEP 37200-000, fone (35) 3820-1781, e-mail: [marilialessa@terra.com.br](mailto:marilialessa@terra.com.br); [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br); [cacalameiras@hotmail.com](mailto:cacalameiras@hotmail.com); [mleandrar@yahoo.com.br](mailto:mleandrar@yahoo.com.br); <sup>2</sup> Dep. de Biologia - [renpaiva@ufla.br](mailto:renpaiva@ufla.br)

### INTRODUÇÃO

A espécie *Crassula capitella*, é uma planta suculenta muito atrativa por suas ramificações e arquitetura além da coloração vermelho púrpuro brilhante em suas folhas (Eggl, 2003). É uma espécie utilizada em jardim, porém é mais comumente cultivada como planta envasada.

As suculentas, de modo geral, são plantas bastante rústicas e pouco exigentes no que diz respeito a tratos culturais. Porém, pouco se conhece sobre suas condições de cultivo. Kampf (2000) descreve como necessidades para o cultivo de plantas, de maneira geral, a composição do substrato, adubação, o intervalo de irrigação e a luminosidade. O substrato exerce a função de sustentação para plantas, permitindo um bom desenvolvimento radicular, o fornecimento de água e ar (Singh & Sainju, 1998) e, ainda, fornecer nutrientes.

Atualmente, inúmeros componentes de substratos têm sido utilizados destacando a fibra de coco, a qual, pode ser empregada como material puro ou em mistura com outros componentes (Kämpf, 2000b). A fibra de coco, tem sido indicada com substrato agrícola, por apresentar uma estrutura física vantajosa, proporcionando alta porosidade, alto potencial de retenção de umidade e por ser biodegradável (Rosa et al., 2001).

Porém, os substratos constituídos de fibras de coco não possuem os nutrientes essenciais para as plantas, portanto, é necessário fornecê-los de acordo com as necessidades das espécies a serem cultivadas, adicionando adubos em replantio ou, principalmente, por meio da fertirrigação (BRASIL, 2005).

Quanto à adubação de cactos e suculentas, existem contradições entre as informações publicadas. Kramer & Worth (1997) não recomendam o uso de adubação para cactos cultivados em recipientes pequenos. Já Seixas (2001), cita que produtores utilizam adubação com nitrato de amônio, superfosfato simples, sulfato de potássio e uréia para as plantas amareladas. Seixas (2001) descreveu o melhor crescimento de algumas espécies de cactáceas quando cultivadas em substrato constituído de 1 terra vegetal : 1 areia grossa : 1 areia comum, adicionada de 50g de carvão moído (para 1,5 litros da mistura).

Este trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito de diferentes adubações e uso de diferentes fibras de coco como substrato para cultivo de *Crassula capitella*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal foram utilizadas mudas de *Crassula capitella*, sendo as plantas cultivadas em ambiente sombreado com Sombrite® 50% e a irrigação foi realizada manualmente, a cada 7 dias.

Avaliou-se, no experimento, o efeito de diferentes fibras de coco, Golden Mix, (granulado 80, misto 40, misto 98 e fibroso 80) produzidas pela empresa Amafibra®, com e sem adição de uma mistura de adubos. A mistura de adubos era composta de 5 g de farinha de osso, 5 g de calcário dolomítico e 50 g de carvão vegetal triturado, isso para cada 1,5 L de substrato.

Os tratamentos foram assim constituídos: T1 (G80): granulado 80; T2 (G80 + M): granulado 80 + mistura de adubos; T3 (M40): misto 40; T4 (M40 + M): misto 40 + mistura de adubos; T5 (M98): misto 98; T6 (M98 + M): misto 98 + mistura de adubos; T7 (F80): fibroso 80; T8 (F80 + M): fibroso 80 + mistura de adubos.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com parcelas subdivididas no tempo, sendo fatorial nas parcelas e tempo nas subparcelas, com 8

tratamentos, cada um contendo 4 repetições, com 2 plantas por parcela, cada um plantada individualmente em vaso de 1,5L.

Após 60 dias, foram iniciadas as avaliações, observando-se número de folhas, altura e diâmetro de planta. O diâmetro de planta foi obtido tendo como padrão de medida as extremidades do maior par de folhas formado na planta. As avaliações foram encerradas aos 90 dias após a instalação do experimento, quando as mesmas já se apresentavam em tamanho ideal de planta adulta, atingido estágio de maior valor para comercialização.

Os resultados observados foram submetidos à análise de variância, com auxílio do programa SISVAR<sup>®</sup> (Ferreira, 2000). Utilizou-se o teste de Sckott-Knott a 5% de probabilidade, para comparação entre as médias dos tratamentos.

O peso de matéria seca foliar e radicular não puderam ser analisados por métodos de estatística experimental, devido ao reduzido número de material vegetal. Dessa forma, estes parâmetros serão descritos com o auxílio da estatística descritiva.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar o número de folhas formadas, pôde-se observar que o uso de diferentes fibras de coco como substrato, a adição ou não da mistura de adubos ao substrato, bem como a interação entre o uso das fibras e da mistura de adubos, não proporcionaram diferenças entre as plantas.

Em relação à altura das plantas, as plantas também não foram influenciadas pelos tratamentos testados, ou seja, nem pelas diferentes fibras de coco como pela mistura de adubos ou a interação desses. Similarmente a altura e número de folhas formadas, o diâmetro de planta não apresentaram diferenças em nenhum tratamento aplicado para o cultivo da *Crassula capitella*.

Maiores pesos de folhas e da parte aérea foram obtidos em plantas cultivadas em substratos suplementados com a mistura de adubos. Também o peso das raízes tendeu a ser mais elevado nesses substratos. Apesar dessa tendência, o efeito da suplementação do substrato com os adubos não influenciou as características morfológicas analisadas, indicando que a mistura de adubos não é fundamental para o desenvolvimento das plantas, ao contrário do sugerido em BRASIL (2005).

Também, pôde-se observar que a relação folha/raiz foi maior nas plantas cultivadas nos tratamentos com fibras misto 40 (11,95:1) e fibra 80 + mistura (10,66:1).

**Tabela 1.** Pesos das matérias secas (foliar, caulinar, parte aérea total e radicular) e relação folha/raiz em mudas de *C. capitella* cultivadas em diferentes adubações em substrato.

Tratamento	Folha (g)	Caula (g)	Parte aérea (g)	Raiz (g)	Folha/Raiz
G 80	4,73	2,7	7,43	0,98	4,83 : 1
G 80 + M	5,95	2,2	8,15	0,85	7,00 : 1
M 40	4,66	1,2	5,86	0,39	11,95 : 1
M 40 + M	5,13	3,0	8,13	0,57	9,00 : 1
M 98	4,97	2,6	7,57	0,54	9,20 : 1
M 98 + M	5,38	2,3	7,68	0,79	6,81 : 1
F 80	4,87	2,3	7,17	0,62	7,85 : 1
F 80 + M	5,65	3,2	8,85	0,53	10,66 : 1

Através da análise foliar pôde-se observar que os teores de nutrientes apresentaram resultados bastante distintos, impossibilitando uma conclusão concisa e acertada. Porém, ao analisar, de forma geral o acúmulo de nutrientes por planta, as plantas que receberam adição de mistura de adubos no substrato tenderam a apresentar quantidades de Fe, Zn, K, Ca, N, Cu, Mg e P mais elevados e na respectiva ordem decrescente de acúmulo.

Já o Mn e o B tiveram maior acúmulo nas plantas cultivadas sem incremento da mistura de adubos. Ao observar o Ca, os resultados contradizem com Larcher (2000), onde o autor descreve que o valor de Ca sobrepõe ao K nas espécies da família Crassulaceae.

Pela análise química do substrato, observa-se que as fibras apresentaram pH neutro, em torno de 6,0, tendo sido esse elevado após a adição dos adubos, o qual continha calcário. Não se tem indicações de exigências nutricionais para cultivo dessa espécie, não sendo, assim, possível comparar os teores de nutrientes observados nesses substratos e as necessidades nutricionais dessa espécie. Mas, comparando as características do desenvolvimento da *Crassula capitella* analisadas, não houve diferença entre o número de folhas formadas, diâmetro de plantas, podendo ser indicado as faixas de nutrientes disponíveis para esta espécie, estão em valores satisfatórios.

**Tabela 2:** Teores de macronutrientes na matéria seca da parte aérea (folhas) de mudas de *C. capitella* cultivadas em diferentes fibras de coco como substrato

Tratamento	Macronutrientes (g kg <sup>-1</sup> )				
	N	P	K	Ca	Mg
G 80	7,0	1,6	30,7	11,8	2,2
G 80 + M	7,0	1,3	21,1	23,9	2,5
M 40	6,5	1,7	20,8	26,2	2,3
M 40 + M	5,8	3,1	20,6	17,0	2,9
M 98	7,0	2,8	19,8	16,7	2,9
M 98 + M	7,0	2,3	32,4	24,6	2,3
F 80	5,8	1,2	32,5	13,8	2,1
F 80 + M	7,0	1,2	30,3	21,7	2,0

Tratamento	Micronutrientes (mg kg <sup>-1</sup> )				
	B	Cu	Fe	Mn	Zn
G 80	8,1	4,6	218,0	129,6	40,2
G 80 + M	5,8	4,0	272,5	73,4	32,4
M 40	5,2	4,6	174,4	68,4	41,2
M 40 + M	3,6	7,0	135,2	178,4	51,9
M 98	11,5	4,7	177,6	161,4	52,7
M 98 + M	17,7	4,0	184,7	71,0	45,8
F 80	24,3	5,3	273,2	97,3	33,1
F 80 + M	5,0	7,0	189,6	73,4	26,5

## CONCLUSÕES

1. As plantas de *Crassula capitella* não diferiram entre si ao serem cultivadas nos distintos tipos de fibras de coco (G80, M80, M98, F80) Golden Mix, Amafibra.
2. As diferentes fibras, bem como a mistura de adubos (farinha de osso, calcário dolomítico e carvão vegetal triturado) não favoreceram o desenvolvimento da *C. capitella*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Sistema brasileiro de respostas técnicas. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://sbrt.ibict.br/>>. Acesso em: 02 jan. 2006.

EGGLI, U. **Crassulaceae**: illustrated handbook of succulent plants. Germany: Springer, 2003. 506 p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. Anais... São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 225-258.

Gonçalves, A.L. and Minami, K. **Efeito de substrato artificial no enraizamento de estacas de kalanchoe (*Kalanchoe x blossfeldiana* cv. singapur, crassulaceae).** *Scientia Agricola*, Ago 1994, vol.51, no.2, p.240-244.

KÄMPF, A.N. Seleção de materiais para uso como substrato. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 1., 1999, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre, RS: Gênese, 2000. p. 139-145.

KRAMER, J. & Worth, D. **Cacti and others succulents.** New York: Harry N. Abrams, 1997, 159p.

Lamb, E. & Lamb, B. **Guia de los cactus y otras suculentas.** Barcelona: Omega, 1983. 159p.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal.* São Carlos, SP: 2000. p. 183-230

ROSA, M.F.; SANTOS, F.J. de S.; MONTENEGRO, A.A.T; ABREU, F.A.P; CORREIA, D.; ARAÚJO, F.B.S. de; NORÕES, E.R. de V. **Caracterização do pó da casca de coco verde usado como substrato agrícola.** Fortaleza, CE: [s.a], 2001a, 6p. (Comunicado Técnico, 54).

ROSA, M.F.; ABREU, F.A.P de; FURTADO, A.A.L.; BRÍGIDO, A.K.L.; NORÕES, E.R. de V. **Processo agroindustrial: obtenção de pó de casca de coco verde.** Fortaleza, CE [s.a], 2001b, 3p. (Comunicado Técnico, 61).

SEIXAS, E.S. **Emergência e desenvolvimento de plântulas de Cactaceae em diferentes substratos com e sem adubação.** 2001. 74 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Produção Vegetal)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP.

SINGH, B. P.; SAINJU, U. M. Soil and morphological properties and root growth. **HortScience** v. 33, n.6 p. 966-971, 1998.

STAMATIU, A. **Cactos sítios & jardins**, n. 19, p.10-14, 1989

## **PALAVRAS-CHAVES**

Crassulaceae, planta suculenta, floricultura, fertilização.

## **AGRADECIMENTO**

À empresa Amafibra<sup>®</sup>, pelo fornecimento dos substratos a base de fibra de coco utilizados nos experimentos.

## Determinação de $\text{NO}_3^-$ em soluções extraídas com diferentes metodologias em duas cultivares de gérbera fertirrigadas.

Luz, Michele Abreu<sup>1,6</sup>; Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>2,6</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra<sup>3,6</sup>; Guerrero, Amaralina Celoto<sup>4,6</sup>; Sanches, Luis Vitor Crepaldi<sup>5,6</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia; <sup>2</sup>Doutoranda em Irrigação e Drenagem; <sup>3</sup>Prof. Dr.; <sup>4</sup>Mestranda em Horticultura; <sup>5</sup>Mestrando em Irrigação e Drenagem; <sup>6</sup>UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas - Depto de Recursos Naturais - Ciência do Solo, C.P. 237, CEP 18.610-307, Botucatu, SP. E-mail: [maluz@fca.unesp.br](mailto:maluz@fca.unesp.br)

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera jamesonii* L.) é uma espécie da família Asteraceae, de porte herbáceo, originária de Transval, sul da África. Muito apreciada por decoradores, está se tornando popular e com consumo crescente. Conta com uma grande variedade de cores que vão dos tons pastéis até o intenso vermelho. Na floricultura, cuja competição por mercados é intensa, o diferencial de produtividade consiste no manejo adequado desses fatores para uma produção satisfatória. Assim a produção em ambiente protegido se torna necessária, pois além de proteger dos fenômenos climáticos possibilita o melhor aproveitamento e controle dos recursos naturais na produção como luz, temperatura, umidade relativa do ar e principalmente a água associada à adubação através da técnica de fertirrigação.

O manejo da fertirrigação normalmente é feito através da aplicação de quantidades préestabelecidas de fertilizantes, sem qualquer monitoramento do estado nutricional da planta durante o período de cultivo (Blanco, 2004). Segundo Burgueño (1996), a fertirrigação deve ser diferenciada ao longo do ciclo da cultura, pois a absorção de nutrientes específicos alteram-se em função da fase fenológica.

Silva et al. (1999) afirmam que os conhecimentos da composição química e da condutividade elétrica da solução do solo são importantes para verificar a disponibilidade de nutrientes ao longo do ciclo de uma cultura.

A prática tradicionalmente indicada de amostragem e análise química de solo durante a fase de crescimento e desenvolvimento das culturas através de laboratórios, atualmente se mostra economicamente inviável aos produtores, além da demora dos resultados.

O método do extrato de saturação (CEes), também conhecido como pasta saturada, é o adotado como padrão nas literaturas para quantificação de nutrientes e condutividade elétrica (CE) porém é um processo trabalhoso para o monitoramento periódico numa propriedade rural. Alguns produtores adotam o método do extrato aquoso 1:2 (proporção solo: água destilada) para o acompanhamento e monitoramento nutricional da cultura.

O nitrogênio estimula a formação e o desenvolvimento de gemas vegetativas e reprodutivas, além de participar de diversas atividades metabólicas. Este nutriente é absorvido prioritariamente pela planta na forma de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ .

Os medidores portáteis de nutrientes permitem leitura direta, rápida e confiável sem destruir a planta. Guimarães et al. (1998) e Smith et al. (2000) trabalhando com tomate e algodão, respectivamente, comprovaram a praticidade e a precisão dos medidores de eletrodos específicos da marca Horiba para determinação das concentrações de  $\text{NO}_3^-$ .

O presente trabalho teve como objetivo determinar a correlação entre as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  na solução extraída pelo método da pasta saturada e do extrato aquoso 1:2.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob cultivo protegido no Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo da Fazenda Experimental Lageado pertencente à Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP situada no município de Botucatu, Estado de São Paulo.

Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com 4 repetições em esquema fatorial constando de 5 níveis de condutividade elétrica (0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e

6,5 dS m<sup>-1</sup>) e 2 cultivares de gébera (Cherry e Salmon Rose), cultivadas sob fertirrigação. Como fonte de fertilizantes para o preparo da fertirrigação, utilizou-se os seguintes produtos: nitrato de cálcio, nitrato de potássio, sulfato de amônio, sulfato de magnésio, monofosfato de amônio (MAP), tenso cektall (B 0,25%, Ca EDTA 2,57%, Cu EDTA 0,53%, FeEDTA 2,10%, FE DTPA 1,74%, Mn EDTA 2,57%, Mo 0,13% e Zn EDTA 0,53%) e chauffer (4,8% de quelato de Fé orto-orto EDDHA).

Conduziu-se o experimento em vasos plástico número 15, com volume de 1,3 L. O substrato consistiu numa mistura de 40% de terra de subsuperfície e 40% casca de pinus fina e 20% de casca de pinus grossa.

Para a obtenção do extrato aquoso 1:2, eram tomadas alíquotas de 50 mL de substrato coletadas da área central do vaso e acondicionada em recipiente plástico com adição de 100 mL de água deionizada. Após agitação eram deixadas em repouso por 30 minutos, para posterior leitura do sobrenadante.

No método da pasta saturada cada amostra de substrato foi peneirada em peneira de malha fina de 2 mm, pesada a quantidade de 250 cm<sup>3</sup> e acondicionada em copos plásticos de 500 mL. Ao substrato foi adicionado água deionizada até atingir o ponto de saturação (Richards, 1949). Os copos foram vedados com papel alumínio e deixados em repouso por 24 h. Após esse período, a pasta saturada foi transferida para um funil büchner com papel de filtro e filtrado a vácuo. O extrato foi recebido em tubo de ensaio colocado no interior do kitassato sob a haste do funil e transferido para frasco plástico para posterior análise.

Para fins de comparação todas as amostras foram submetidas ao teste rápido de determinação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, em ppm, com o equipamento Cardy Horiba C-141. As determinações foram realizadas aos 28 DAE (após o período de aclimação das mudas, estas foram colocadas no espaçamento definitivo, portanto os resultados são apresentados em dias após espaçamento: DAE), momento em que acontece a troca da solução vegetativa para a solução de floração, prática usual entre produtores de flores visando o suprimento adequado dos nutrientes para a fase de florescimento e momento que possibilita possíveis ajustes necessários para uma correta adubação da cultura visando à máxima qualidade das plantas, daí a justificativa para a tomada dos dados nesta data.

Os efeitos das soluções foram submetidos à análise de regressão, tendo sido testados os modelos linear e quadrático e escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão a 1% (\*\*) e 5% (\*) de probabilidade pelo teste F e no maior valor do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). As médias dos cultivares foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando significativos, com o uso do programa estatístico Sisvar.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo entre cultivares (FC) a 5 e 1% de probabilidade para o método do extrato aquoso 1:2 e pasta saturada, respectivamente, e a 1% de probabilidade entre soluções (FS). Ambos métodos foram significativos em relação às regressões das soluções e a interação (cultivar x solução) a 1% de probabilidade (Tabela 1).

A concentração de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mostrou tendência linear crescente com o incremento da salinidade de acordo com os tratamentos propostos, ou seja, a concentração de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> aumentou com o aumento da CE da solução aplicada.

Segundo Rhoades et al. (1999) o volume de água misturado a um mesmo volume de solo é superior no método do extrato aquoso 1:2 em relação a pasta saturada. Em função disso, os valores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na solução (solo:água) tornam-se menores no método extrato aquoso 1:2 devido ser a solução mais diluída. O valor médio da pasta saturada foi aproximadamente 2,7 vezes superior ao extrato aquoso 1:2. Para o método da pasta saturada verificou-se a concentração média do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em 1867 ppm para o cultivar Cherry e 1665 ppm para Salmon Rose, enquanto que no método extrato aquoso 1:2 foi obtido respectivamente, 564 e 762 ppm.

A correlação entre as concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> obtidas nas soluções extraídas nos métodos do extrato aquoso 1:2 e na pasta saturada apresentaram elevado coeficiente de determinação (0,94).

Silva (2002), comparando as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  em solução, determinadas pelo Cardy Horiba C-141 obteve uma precisão de 77% em relação aos métodos de laboratório. Apesar de uma menor eficiência (considerada aceitável), o autor destaca a rapidez e a praticidade do uso do Cardy.

**Tabela 1.** Concentração de  $\text{NO}_3^-$ , em ppm, determinada na solução extraída pelo método da pasta saturada e extrato aquoso 1:2 em dois cultivares de gérbera sob diferentes CE.

Cultivar	CE	Pasta Saturada	Extrato 1:2
	---- $\text{dS m}^{-1}$ ----	----- ppm -----	
Cherry	0,5	157	43
	2,0	805	151
	3,5	2150	488
	5,0	2825	938
	6,5	3400	1220
Média		1867a	564a
Salmon Rose	0,5	215	213
	2,0	658	203
	3,5	1800	800
	5,0	2675	1228
	6,5	2975	1368
Média		1665b	762b
F C		**	*
F S		**	**
F C*S		NS	NS
Regressão S		L**, Q*	L**
Regressão C*S		L**	L**

\*,\*\*: valores significativos, pelo teste F a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

NS: não significativo ao nível de 5% de probabilidade;

L e Q: efeitos significativos lineares e quadráticos, respectivamente;

## CONCLUSÃO

Houve um incremento dos valores de  $\text{NO}_3^-$  obtidos em ambos os métodos avaliados, à medida que aumentou as doses de N aplicada. A alta correlação valida o método do extrato aquoso 1:2. O método do extrato aquoso 1:2 associado ao teste rápido de determinação de íons se mostra mais prático.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLANCO, F.F. **Tolerância do tomateiro à salinidade sob fertirrigação e calibração de medidores de íons específicos para determinação de nutrientes do solo e a planta.** Piracicaba, 2004.115p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, 2004.

BURGUEÑO, H **La fertirrigacion en cultivos hortícolas con acolchado plástico.** Culiacan: BURSAR, 1996. v.1, 45p.

GUIMARÃES, T.G.; FONTES, P.C.R.; PEREIRA, P.R.G. et al. Determinação dos teores de nitrogênio na seiva do tomateiro por meio de medidor portátil. **Horticultura Brasileira**, v.16, n.2, p.144-151, 1998.

RHOADES, J.D.; CHANDUVI, F.; LESCHI, S. **Soil salinity assessment**: methods and interpretation of electrical conductivity measurements. Rome: FAO, 1999. 150p. (FAO. Irrigation and Drainage Paper, 57).

RICHARDS, L.A. Methods for mounting porous plates used in soil moisture measurement. **Agronomy Journal**, n.41, p.489-490, 1949.

SILVA, E.F.F. **Manejo da fertirrigação e controle da salinidade na cultura do pimentão utilizando extratores de solução do solo**. Piracicaba. Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, 2002.

SILVA, E.F.F.; MIRANDA, J.H.; COELHO, R.D. et al. Determinação da salinidade do solo utilizando extratores de cápsulas porosas e soluções diluídas. (compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 28, Pelotas, 1999. **Anais**. Pelotas, 1999. Pelotas: SDEA, 1999.

SMITH, J.H.; SILVERTOOTH, J.C.; NORTON, E.R. **Comparison of the two methods of the analysis of petiole nitrate nitrogen concentration in irrigated cotton**. <http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1006/az10068c.html>. (30 Mai. 2007).

Palavras chaves: *Gerbera jamesonii* L, fertirrigação, cultivo protegido, métodos de análises químicas, nitrato



## Caracterização físico-química de solos do Cerrado com ocorrência de espécies terrestres da família Bromeliaceae<sup>1</sup>.

Carneiro, Maurízia de Fátima<sup>2</sup>; Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>3</sup>; Ramos, Tatiana Vieira<sup>4</sup>; Oliveira, Saulo Araújo<sup>5</sup>.

<sup>2</sup>Pesquisadora da AGENCIARURAL, Campo Experimental do CENTRAR, ROD. R-2 q-Área, Lote AR-3, Campus Samambaia, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, email: [maurizia@uol.com.br](mailto:maurizia@uol.com.br), fone: (62) 3201-2356; <sup>3</sup>Professora da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, email: [iraidesfc@hotmail.com](mailto:iraidesfc@hotmail.com), fone (62) 3521-1530; <sup>4</sup>Bolsista do CNPq, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás, email: [tatiana.ramos@ueg.br](mailto:tatiana.ramos@ueg.br), fone (62)3247-3666; <sup>5</sup>Bolsista do CNPq, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri, Goiás, email: [agrosaulo@brturbo.com.br](mailto:agrosaulo@brturbo.com.br).

Os solos do Cerrado são considerados pobres e ácidos, com baixa disponibilidade de nutrientes para as plantas. O alumínio é o elemento que mais influencia as características da vegetação do Cerrado, tanto que, nas áreas com menor teor deste elemento, as populações vegetais apresentam-se mais densas e com maior diversidade. No bioma Cerrado, as bromélias são encontradas em toda a sua extensão, sendo os gêneros *Dyckia*, *Bromelia* e *Ananas* os de maior ocorrência. As espécies de *Dyckia* são citadas ocorrendo, preferencialmente, em solos arenosos, mas ainda são necessários estudos e observações mais rigorosos para verificar a distribuição das espécies da família Bromeliaceae no Cerrado. Este trabalho teve como objetivo caracterizar física e quimicamente os solos no bioma Cerrado com ocorrência de espécies de bromélias, bem como estudar o comportamento dessas espécies em relação à textura e à fertilidade dos mesmos, no Estado de Goiás. Em cada área amostral foram identificadas, quantificadas e obtidos os dados biométricos das plantas de bromélias no estágio vegetativo, sendo, também, retirada uma amostra composta de solo em torno da planta a uma profundidade de 0-20 cm, para análises químicas e físicas. Foram observadas cinco espécies do gênero *Bromelia* e quatro espécies do gênero *Dyckia* vegetando como terrestres nas formações vegetacionais Cerrado *stricto sensu*, Mata de Galeria e Campo Rupestre. As análises indicaram diferenças nos teores dos elementos nos solos das áreas de ocorrência e de não ocorrência de bromélias, bem como entre as formações vegetacionais. Os solos apresentaram baixos teores de cátions trocáveis, altos teores de alumínio e baixos teores de fósforo e, portanto, uma baixa saturação de bases, indicando uma tendência das bromélias se adaptarem em solos com limitadas reservas de nutrientes disponíveis.

### PALAVRAS-CHAVES:

Bromeliaceae, Bromélia terrestre, *Bromelia* sp, *Dyckia* sp, solos, Cerrado.

---

<sup>1</sup> Apoio financeiro do CNPq

## Efeito de níveis de sombreamento sobre o desenvolvimento de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) em ambiente protegido.

Carneiro, Iraídes Fernandes<sup>1</sup>; Duarte, Edson Ferreira<sup>2,3</sup>; Silva, Natan Fontoura<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Professor da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (UFG-EA), Campus Samambaia, Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1530, email: [iraidesfc@hotmail.com](mailto:iraidesfc@hotmail.com), [natan@agro.ufg.br](mailto:natan@agro.ufg.br); <sup>2</sup> Professor do Instituto de Ciências Biológicas (UFG-ICB), Campus Samambaia, CEP 74690-280, Goiânia, Goiás, fone (62) 3521-1068, email: [efduarte@zipmail.com.br](mailto:efduarte@zipmail.com.br)

### INTRODUÇÃO

As bromélias ornamentais são apreciadas em todo o mundo, seja pelas cores de suas folhas e inflorescências, seja pela forma e desenhos da própria planta. É um grupo de plantas que requer poucos cuidados e são resistentes às adversidades climáticas, crescendo muitas vezes, em solos pobres, sobre rochas nuas ou sobre troncos de árvores.

No Cerrado goiano destaca-se a espécie *Dyckia goehringii* Rauh & Gross, encontrada na Serra do Caiapó, município de Portelândia, Goiás. Suas folhas apresentam-se prateadas devido à densa cobertura por tricomas, o que as torna visualmente atraentes. Apresenta potencial de uso como planta envasada e ou para a composição paisagística, são perenes e rústicas atendendo às novas tendências de plantas utilizadas no paisagismo (Bañeras, 1999). São encontradas naturalmente como terrestres ou rupícolas, crescendo muitas vezes à sombra de arbustos e gramíneas ou sob radiação solar intensa e direta.

Poucos são os trabalhos encontrados na literatura sobre o comportamento de bromélias em cultivo *ex situ* e os existentes se referem às espécies originadas da Mata Atlântica e da Restinga (Rocha, 2002; Scarano et al., 2002). Normalmente, os cultivos comerciais de bromélias são feitos em ambientes abertos ou com sombreamento de 18% a 90%, conforme a região e a espécie (Andrade & Demattê, 1999).

Tendo em vista o potencial ornamental e o risco de extinção de *D. goehringii*, seja pelo extrativismo predatório, expansão das áreas agricultáveis e, ou ocorrência de fogo, comum em regiões do Cerrado, há a necessidade de estudos que permitam sua adequada conservação *ex situ* e ou exploração agrônômica. O presente estudo teve a finalidade de avaliar o comportamento de plantas de *D. goehringii* cultivadas em ambiente protegido, sob malhas aluminizadas com diferentes níveis de sombreamento.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido durante 12 meses, entre novembro de 2005 e outubro de 2006, em casa de vegetação localizada na área experimental da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, município de Goiânia, Goiás, Brasil.

As plântulas utilizadas foram obtidas a partir de sementes colhidas de uma população natural do município de Portelândia, Goiás, semeadas sobre papel umedecido dentro de recipientes plásticos, nas condições de laboratório. Aos 20 dias após a semeadura, as plântulas foram conduzidas para casa de vegetação, iniciando-se o processo de aclimatização à meia-sombra, utilizando tela com 70% de sombreamento, como cobertura. Após um mês, fez-se o transplante para vasos contendo 0,75 L de substrato comercial, composto por uma mistura de cascas de árvores com vermiculita expandida e turfa, mantendo-se as plântulas dentro de casa de vegetação e sob sombreamento de 70%.

Aos 80 dias após a semeadura os tratamentos tiveram início. O experimento constou de quatro tratamentos, constituídos por malhas aluminizadas de diferentes níveis de interceptação da luz: 0%, 30%, 50% e 70%. Cada tratamento constou de quatro fileiras de 14 vasos, sendo consideradas para as avaliações as 24 plantas centrais. As malhas de

---

<sup>3</sup> Agradecemos ao CNPq pela concessão de bolsa de auxílio ao segundo autor.

sombreamento foram instaladas 30,00 cm acima e ao lado dos vasos, sendo mantidas fechadas.

A irrigação foi diária nos dois primeiros meses após o transplante e, a cada dois ou três dias, do terceiro ao décimo segundo mês de avaliação. Nenhum outro trato cultural foi realizado nesse período.

Procedeu-se mensalmente a avaliação das plantas das seguintes variáveis: Diâmetro médio da roseta foliar (cm) – média aritmética obtida de duas medidas perpendiculares do diâmetro da roseta foliar; Altura média da planta (cm) – medida feita da superfície do substrato até o ápice da folhas, tomando-se como base o eixo vertical das plantas; Área foliar média (cm<sup>2</sup>) – no 12º mês de condução do experimento fez-se a avaliação da área foliar média por planta, com auxílio do medidor de área foliar da marca LI-COR, modelo Li-3000; Massa de matéria fresca média (g) e massa de matéria seca média (g) – para a obtenção da massa da matéria fresca e a massa da matéria seca da parte aérea e das raízes, estas foram à desidratação em estufa com circulação de ar forçado, à temperatura de 65°C, até que a massa se tornasse constante; Teor de água da parte aérea e das raízes (%) – utilizou-se o método anterior, calculando-se o teor de água da parte aérea e das raízes na base úmida; Relação parte aérea/raiz - a relação parte aérea/raiz foi calculada dividindo-se o valor da massa da matéria seca da parte aérea pelo valor da massa de matéria seca das raízes.

Para as análises estatísticas adotou-se o delineamento inteiramente casualizado. Ajustaram-se equações de regressão adequadas aos modelos biológicos para as séries temporais do diâmetro e da altura da planta. Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para a comparação das médias a 5% de probabilidade para área foliar, massa da matéria fresca da parte aérea e das raízes, teores de água da parte aérea e das raízes e da relação parte aérea/raiz (PA/R).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas ajustadas para o diâmetro das plantas acomodaram-se aos modelos biológicos, apresentando comportamento logístico para os tratamentos de 50% e 70%, enquanto que para os tratamentos com 0% e 30%, o comportamento foi melhor descrito por modelos quadráticos (Tabela 1).

Tabela 1. Equações ajustadas e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) das variáveis estudadas nas plantas de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae), cultivadas em casa de vegetação sob malhas aluminizadas com diferentes níveis de sombreamento (0%, 30%, 50% e 70%) em Goiânia, Goiás, Brasil.

Variável	Sombreamento (%)	Equação	R <sup>2</sup>
Diâmetro	0	$y = 0,07x^2 - 0,41x + 0,95$	0,99
	30	$y = 0,04x^2 - 0,09x + 0,58$	0,99
	50	$y = 13,70 / (1 + \exp(3,67 + (0,49x)))$	0,99
	70	$y = 11,61 / (1 + \exp(3,58 + (0,49x)))$	0,99
Altura da planta	0	$y = 5,67 / (1 + \exp(2,36 + (0,27x)))$	0,98
	30	$y = 3,80 / (1 + \exp(1,88 + (0,31x)))$	0,98
	50	$y = 5,74 / (1 + \exp(2,05 + (0,33x)))$	0,97
	70	$y = 5,82 / (1 + \exp(2,22 + (0,30x)))$	0,98

O diâmetro das plantas de *D. goehringii* foi alterado pelos diferentes níveis de sombreamento, conforme se verifica na Figura 1A. Observa-se que as plantas submetidas ao sombreamento de 50% apresentaram melhor desempenho ao longo do cultivo, sendo seguidas por aquelas que foram submetidas a 70% de sombra. Rocha (2002) também verificou maiores diâmetros de plantas de *Guzmania ligulata* acima de 40% de sombreamento e para *Aechmea fasciata* entre 60% e 80% de sombreamento, enquanto que as plantas cultivadas sem malhas termorefletoras e com 30% de sombra apresentaram diâmetros menores. Scarano et al. (2002) verificaram que plantas de *A. bromeliifolia*

apresentaram também menor área de projeção da parte aérea sob exposição direta da luz solar, corroborando com os resultados verificados no presente estudo.

A altura das plantas de *D. goehringii* apresentou menor amplitude de variação que o diâmetro, pois à medida que as folhas novas crescem tornam-se mais horizontais contribuindo para a redução na altura e aumento do diâmetro. As plantas submetidas aos diferentes tratamentos apresentaram curvas de altura média da roseta foliar semelhante ao diâmetro (Figura 1B). Para *A. fasciata*, bromélia epífita, a elevação do sombreamento promoveu estiolamento das plantas e perda da rigidez das folhas, levando à redução da altura (Rocha, 2002), assim como foi observado para as plantas de *D. goehringii* submetidas ao sombreamento de 70%.

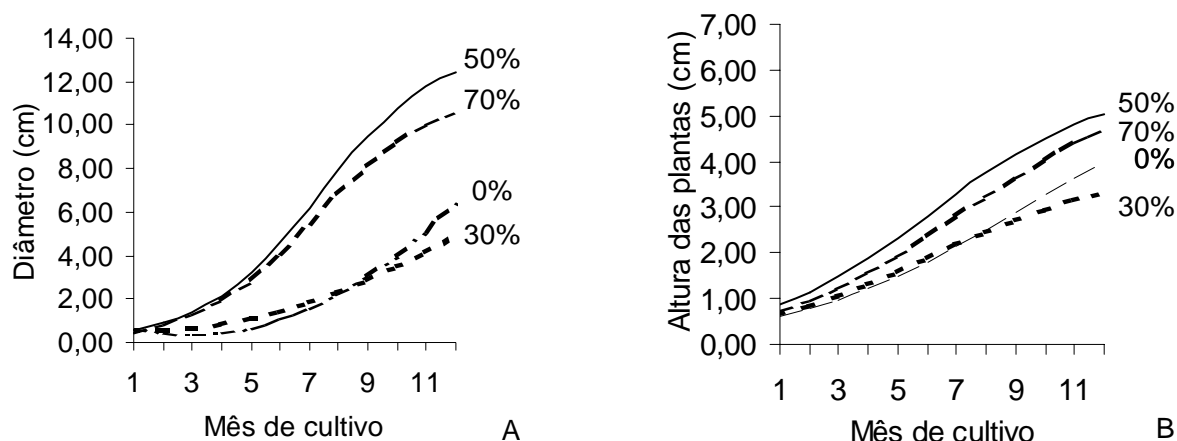


Figura 1. Comportamento das plantas de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae), ao longo de 12 meses de cultivo, de novembro a outubro de 2005, em casa de vegetação sob malhas aluminizadas com diferentes níveis de sombreamento (0%, 30%, 50% e 70%) em Goiânia, Goiás, Brasil. A. Diâmetro médio da roseta foliar; B. Altura média das plantas.

O estiolamento foi observado nas plantas de *D. goehringii* quando o sombreamento foi de 70%, apresentando folhas visualmente mais estreitas e com uma arquitetura mais ereta, além da perda da orientação dos espinhos, os quais se apresentaram voltados para o interior e ou exterior da plantas.

A área foliar e a massa de matéria seca da parte aérea de plantas sombreadas pelas malhas termorefloras de 50% foi significativamente maior que a das plantas sombreadas com 30% (Tabela 2), sendo que a formação de uma roseta foliar mais compacta tem sido associada aos efeitos da fotoinibição (Freitas et al., 2003).

O sombreamento não teve influência significativa no teor de água da parte aérea das plantas, ao passo que, nas raízes o teor de água foi maior com a utilização de 50% e 70% de sombreamento (Tabela 2). A utilização de malhas de cobertura reduz a temperatura do ar no ambiente (Guiseline & Sentelhas, 2004), promovendo menor perda de água por evapotranspiração. A presença de tricomas também pode reduzir a transpiração foliar (Benzing et al., 1978), favorecendo maior teor de água na planta.

O comportamento observado em plantas de *D. goehringii* sob progressivo sombreamento indica o favorecimento do crescimento nessas condições. Desse modo, a ocorrência das plantas em condições naturais, expostas à insolação direta, pode ser interpretada como uma adaptação ao sítio, conforme foi observado por Scarano (2002) em *A. bromeliifolia*, não se tratando, portanto, da melhor condição de cultivo.

Tabela 2. Variáveis analisadas na parte aérea (PA) e nas raízes (R) das plantas de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae), após 12 meses de cultivo em casa de vegetação, sob malhas aluminizadas com diferentes níveis de sombreamento (0%, 30%, 50% e 70%) em Goiânia, Goiás, Brasil.

Tratamentos*	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Massa de matéria seca (g)		Teor de água (%)		Relação PA/R
		PA	R	PA	R	
0%	16,63 ab	0,58 ab	0,22 a	88,60 a	60,91 c	2,63 a
30%	8,96 b	0,28 b	0,10 a	86,97 a	64,37 b	2,96 a
50%	50,78 a	1,33 a	0,34 a	90,04 a	72,61 a	4,19 a
70%	23,42 ab	0,58 ab	0,13 a	90,31 a	73,38 a	4,97 a

\* Médias seguidas por letras distintas, nas colunas, diferem entre si pelo Teste de Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade.

O presente estudo é uma contribuição ao estudo das Bromeliaceae do Cerrado, podendo ser aplicado em programas de melhoramento, bem como no seu aproveitamento agrônomo para fins ornamentais, fornecendo ainda, subsídios para a conservação da espécie estudada.

## CONCLUSÃO

As plantas de *D. goehringii* respondem ao sombreamento quando cultivadas em casa de vegetação coberta por filme plástico, alterando seu crescimento.

O cultivo de plantas de *D. goehringii*, no primeiro ano de vida, com malhas termorefletoras com 50% de sombreamento, proporciona crescimento e qualidade de plantas desejáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, F. S. A.; DEMATTÊ, M. E. S. P. Estudo sobre produção e comercialização de bromélias nas regiões sul e sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 5, n. 2, p. 97-110, 1999.

BAÑERAS, J. C. Tendências no paisagismo. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 5, n. 2, p. 93-96, 1999.

BENZING, D. H.; SEEMANN, J., RENFROWM A. The foliar epidermis in Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its role in habitat selection. **American Journal of Botany**, v. 65, n. 3, p. 359-365, 1978.

FREITAS, C. A.; SCARANO, F. R.; BIESBOER, D. D. Morphological variation in two facultative epiphytic bromeliads growing on the floor of a swamp forest. **Biotropica**, v. 35, n. 4, p. 546-550, 2003.

ROCHA, P. K. **Desenvolvimento de bromélias em ambientes protegidos com diferentes alturas e níveis de sombreamento**. 2002. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz". Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SCARANO, F. R.; DUARTE, H. M.; RÔÇAS, G.; BARRETO, S. M. B.; AMADO, E. F.; REINERT, F.; WENDT, R.; MANTOVANI, A.; LIMA H. R. P.; BARROS, C. F. Acclimation or stress symptom? An integrated study of intraespecific variation in the clonal plant *Aechmea bromeliifolia*, a widespread CAM tank-bromeliad. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 140, p. 391-401, 2002.

PALAVRAS CHAVE: *Dyckia goehringii*, bromélia, Bromeliaceae, sombreamento.

## **Aclimação de *Nidularium rubens* Mez, uma bromélia nativa de Mata Atlântica: estudos de substratos.**

Alves, Maria Aparecida Gobatto, Oliveira Junior, Clovis José Fernandes<sup>1</sup>.

Instituto de Botânica, Seção de Ornamentais, Caixa Postal 3005 CEP 01061-970, São Paulo, SP.

1. Endereço eletrônico: clovisc2@yahoo.com.br

As bromélias pertencem à família Bromeliaceae, existente no Brasil em praticamente todos seus biomas. Sua popularização é devida principalmente às características arquitetônicas de suas folhas e inflorescências, com beleza singular. O crescente interesse no uso de Bromeliáceas em projetos paisagísticos, a inexistência de aplicação de conceitos associados à conservação e a ausência de informações sobre plantio e reprodução, tem levado à diminuição drástica das populações de espécies nativas. Assim, é importante o desenvolvimento de técnicas que possam contribuir para a sua produção e conservação. O objetivo deste trabalho foi avaliar substratos que possam ser utilizados na aclimação de plântulas produzidas "in vitro". Para isso, sementes de *Nidularium rubens*, coletadas na Reserva Biológica de Paranapiacaba, foram germinadas "in vitro" e após 9 meses de crescimento foram transferidas para diversos tipos de substratos. As plantas foram cultivadas em bandejas de isopor preenchidas com: 100% de Vermiculita; 100% Fibra de Xaxim; 100% Casca de Pinus; 50% Fibra de Xaxim + Plantmax®; 50% Casca de Pinus + 50% Plantmax®. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado com 5 tratamentos e 10 repetições por tratamento, cada repetição foi composta de 10 plantas. Foram avaliados os seguintes parâmetros: massas fresca e seca da planta, número e comprimento das raízes, número e comprimento das folhas. Pela análise dos resultados verificou-se que houve uma diferença significativamente maior no desenvolvimento das plantas submetidas aos substratos de 100% Fibra de Xaxim e 50% Fibra de Xaxim + Plantmax®. Portanto, a utilização de substratos com fibras mostrou ser a melhor opção para aclimação da espécie estudada, pois possibilita uma rápida drenagem, não é compactado, propiciando condições de bom desenvolvimento do sistema radicular. No entanto, novos experimentos deverão ser constituídos para avaliar a utilização de fibras alternativas ao xaxim, como a fibra de coco, a qual já vem sendo utilizada comercialmente.

Palavras chave: substratos, aclimação, Bromeliaceae

## Propagação de *Sinningia schiffneri* Fritsch utilizando substratos alternativos ao xaxim.

Oliveira Junior, C.J.F.<sup>1</sup>; Barbosa Lee, P.M.S.; Chiea, S.A.

Instituto de Botânica, Seção de Ornamentais, Caixa Postal 3005 CEP 01061-970, São Paulo, SP.

1. Endereço eletrônico: clovisc2@yahoo.com.br

*Sinningia schiffneri* Fritsch, da família Gesneriaceae, é uma erva terrestre, perene, que apresenta caule ereto, folhas pubescentes, às vezes vináceas na parte abaxial, com flores delicadas de corola tubulosa e alva, apresentando muitas vezes pontuações de cor vinho em seu interior. Ocorre nos Estados do Rio de Janeiro e de São Paulo, nas matas do litoral, encontrando-se floridas entre dezembro e agosto. Das cerca de 3.000 espécies da família Gesneriaceae, aproximadamente 220 ocorrem no Brasil e destas 52 são encontradas em São Paulo. A maior parte dos representantes desta família cresce na Mata Atlântica, suas flores de cores vivas e a facilidade de multiplicação vegetativa, ou por sementes, favorecem a utilização das espécies como ornamentais. Muitas espécies do gênero *Sinningia* se encontram ameaçadas de extinção por possuírem distribuição restrita e sofrerem influência antrópica, principalmente por extrativismo. O objetivo deste trabalho foi testar substratos alternativos que possam ser utilizados na propagação e cultivo de espécies vegetais, visto que o uso intensivo do xaxim, conhecido também como samambaia-açú (*Dicksonia selowiana*), bastante utilizado para fabricação de vasos e substratos para plantas, tem apresentado drástica redução em suas populações, assim, torna-se muito importante o desenvolvimento de outros tipos de substratos. Neste trabalho, foram testados cinco tipos de substratos: terra vegetal (TV); casca de pinus (CP); casca de pinus mais substrato a base de turfa, marca comercial Plantmax® (P), 50% de cada (CP+P); pó-de-xaxim (PX) e pó-de-xaxim mais Plantmax®, 50% de cada (PX+P). As estacas foram preparadas com cerca de 15 centímetros cada ou respeitando a existência de pelo menos dois nós, com retirada total das folhas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 6 repetições por tratamento e 5 tratamentos, cada repetição foi representada por 3 estacas, considerada como unidade amostral. Foram avaliados os seguintes parâmetros: número de brotações; biomassa (fresca e seca) das brotações; biomassa (fresca e seca) das raízes e o comprimento da maior raiz. Os resultados mostraram que a maior biomassa das brotações foi encontrada nas estacas fixadas em PX+P, seguido por PX. As raízes tiveram melhor crescimento em TV. Os substratos compostos com CP não mostraram bons resultados, apresentando os menores valores para incorporação de biomassa, tanto em brotações como em raízes. A facilidade de propagação com 100% de enraizamento e de brotação em todos os tratamentos, o grande período com flores durante o ano e o comportamento perene mostram que a espécie pode ser melhor aproveitada como ornamental, tanto como planta de vaso, como na composição de jardins, contribuindo assim, para conservação *ex situ* desta espécie de ocorrência restrita nas matas brasileiras. Contudo, mais estudos devem ser feitos na experimentação de substratos alternativos, principalmente com a utilização da fibra de coco, por ter características mais próximas ao pó-de-xaxim, que apresentou os melhores resultados neste trabalho.

Palavras chaves: substratos, plantas nativas, Gesneriaceae

## **Indução floral em *Vriesia inflata* Wanra. (Bromeliaceae) utilizando carbureto.**

Oliveira Junior, C.J.F.<sup>1</sup>; Batida, S.S.; Chiea, S.A.

Instituto de Botânica, Seção de Ornamentais, Caixa Postal 3005 CEP 01061-970, São Paulo, SP.

1. Endereço eletrônico: clovisc2@yahoo.com.br

As bromélias vêm sendo muito utilizadas como plantas ornamentais, tanto em vasos como em jardins, devido a presença de inflorescências vistosas, formadas por brácteas coloridas, ou por modificações na coloração de suas folhas. São plantas bastante resistentes que se adaptam à diversos ambientes, sendo também consideradas como ampliadoras da biodiversidade, pois sua arquitetura foliar pode oferecer microhabitats a uma enorme gama de outros organismos, inclusive polinizadores e dispersores de sementes. As espécies da família Bromeliaceae geralmente apresentam fase vegetativa bastante longa, podendo levar cerca de dois ou três anos para atingirem estágio fisiológico para florescerem, ou até mais tempo, dependendo da espécie. Este fator as torna pouco interessante para os produtores, pois as plantas permanecem por longo tempo em viveiro, encarecendo sua produção. Esta é apenas uma das razões que contribuem para a prática do extrativismo ilegal, feito de forma não sustentável em seu ambiente natural, causando degradação e perda da biodiversidade, pois assim que uma espécie ornamental é localizada, ela passa a ser explorada intensamente até o esgotamento de suas populações. Há muito tempo o carbureto é utilizado para uniformizar a produção de frutos do abacaxizeiro, por liberar etileno que induz o florescimento nesta espécie vegetal e em muitas outras da família Bromeliaceae. Deste modo, o presente trabalho buscou estudar a utilização do carbureto como indutor de florescimento em *V. inflata*, visando fornecer subsídios para elaboração de protocolos para produção horticultural desta espécie. Para tanto, perfilhos do ano foram destacados da planta mãe e transferidos para vasos contendo terra vegetal, após um ano de desenvolvimento as plantas foram divididas em quatro grupos (20 plantas por grupo), formando 4 tratamentos (controle; 0,5; 1 e 2 gramas de carbureto por planta). O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 20 repetições por tratamento. As pedras de carbureto foram aplicadas no centro das rosetas das bromélias. Foram avaliadas a porcentagem de plantas floridas, as dimensões das inflorescências e o número de brácteas. Os resultados obtidos apontam que a aplicação do carbureto aumentou a porcentagem de plantas floridas, principalmente nas doses 0,5 e 1 grama, tratamentos estes, que praticamente dobraram o número de plantas com flores, porém as dimensões das inflorescências não alteraram em função da aplicação do carbureto. Estes resultados mostram a viabilidade da indução floral em *V. inflata* com etileno, revertendo num menor tempo de produção, e como consequência a redução dos custos. Estudos futuros devem ser feitos objetivando a identificação da melhor dose, bem como a utilização de outras fontes deste regulador de crescimento vegetal. O estabelecimento de protocolos para produção de plantas nativas é importante para o desenvolvimento de programas para produção sustentável e como consequência a preservação de espécies e da biodiversidade.

Palavras-chave: bromélia, etileno, indução floral.



## Efeito do tempo de enraizamento e condições ambientais na aclimatização de mudas micropropagadas de minirosa (*Rosa chinensis* 'Minima')

Anjos, David Correia dos <sup>(1)</sup>; Hernandez, Fernando Felipe Ferreyra <sup>(2)</sup>; Diniz, Josefa Diva Nogueira <sup>(3)</sup>; Maia Neto, Antonio Alves <sup>(4)</sup>.

<sup>1</sup>Graduando do Curso de Agronomia/CCA/UFC, Bolsista CNPq, e-mail: [david\\_agronomia@hotmail.com](mailto:david_agronomia@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Ciências do Solo (CCA/UFC), Caixa postal: 12.168, Cep. 60.356-001, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3366.9451, e-mail: [ferrey@ufc.br](mailto:ferrey@ufc.br); <sup>3</sup>Pesquisadora/UFC, Departamento de Fitotecnia-CCA/UFC, Caixa Postal 12.168, CEP 60.356-001, Fortaleza, Ceará, fone (85) 3366.9668, e-mail: [dndiniz@ufc.br](mailto:dndiniz@ufc.br); <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Solos-UFC, e-mail: [mncurisco@yahoo.com.br](mailto:mncurisco@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

As plantas ornamentais estabelecem no mundo moderno o contato mínimo desejável do homem com a natureza. Seu cultivo representa um novo setor que vem se desenvolvendo graças à utilização de técnicas modernas que visam o aumento da produção para satisfazer a crescente demanda da sociedade.

A minirosa (*Rosa chinensis* 'Minima') integra o gênero Rosa, pertencente à família Rosaceae. As flores podem ser vermelhas, róseas, brancas ou amarelas, possuem crescimento compacto, floração intensa em qualquer época do ano e se destacam pela grande durabilidade de suas flores de 5 a 7 dias (Boettcher, 1991). As mudas de minirosa podem ser obtidas por meio de sementes, estacas ou enxertos (Peletti, 2006). A micropropagação de minirosa surge como uma alternativa viável para a obtenção de mudas em escala comercial. Este processo se caracteriza pela produção rápida de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária. Desta forma pode atender às necessidades dos produtores de plantas ornamentais e flores, com mudas com certificado de garantia (Terceiro Neto et al., 2004).

A aclimatização é um processo pelo qual as plantas produzidas em condições controladas são transferidas para um ambiente com as condições climáticas naturais. Essa transferência deve ser gradual de forma a reduzir ou eliminar estresses que possam culminar em danos profundos ou mesmo a morte das plantas. A dificuldade de readaptação das plantas obtidas por micropropagação ao ambiente *ex vitro*, referente à fase de aclimatização, tem se apresentado como um dos fatores mais limitantes para o sucesso da produção de mudas pelo cultivo *in vitro* em escala comercial. Um percentual aparentemente baixo de morte de plantas quando se trabalha em grande escala, pode significar grandes prejuízos devido ao alto custo da produção de mudas pelo processo de culturas de tecidos (Fior & Kampf, 1999). A baixa taxa de sobrevivência das plantas durante a fase de aclimatização comumente é relacionada à perda excessiva de água pelas plantas (Silva et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ambiente e do tempo de enraizamento na aclimatização de mudas micropropagadas de minirosa.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três experimentos em casa de vegetação do Departamento de Ciências do Solo da UFC, localizado em Fortaleza-CE, com altitude de 47m, latitude Sul 3° 44' 35" e longitude Oeste 38° 34' 33" e em sala de crescimento do Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Fitotecnia - UFC.

No primeiro e segundo (repetindo o primeiro) experimento foi testada a aclimatização de mudas de minirosa micropropagadas e enraizadas *in vitro* em 10 substratos diferentes em condições de casa de vegetação. Usaram-se mudas de minirosas de 60 dias de enraizadas *in vitro*. Os substratos utilizados foram: 100% pó de coco seco (PCS), 75% PCS + 25% casca de arroz (CA), 50% PCS + 50% CA, 75% PCS + 25% casca de arroz carbonizada (CAC), 50% PCS + 50% CAC, 100%

substrato comercial, 100% vermiculita (V), 50% PCS + 50% V, 75% PCS + 25% areia (A) e 50% PCS + 50% A, em bandejas de plástico de 63 células de 30 mL de capacidade. Após o transplante das mudas a cada quatro bandejas foram cobertas com um protetor de plástico de 25 cm de altura por 80 cm de comprimento. As bandejas foram irrigadas diariamente. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado para 10 tratamentos com 4 repetições sendo cada unidade experimental constituída por 28 mudas de minirosas, per fazendo um total 1120 mudas.

No terceiro experimento usou-se dois ambientes de aclimatização (câmara de crescimento com  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  com  $16 \text{ h.d}^{-1}$  de luminosidade artificial de 2000 lux e telado com cobertura de plástico com temperatura de 26 a  $34^\circ\text{C}$ ) e 10 tempos de enraizamento *in vitro* (20; 27; 34; 41; 48; 55; 62; 69; 76 e 83 dias) em disposição fatorial (2x10) totalizando 20 tratamentos, seguindo-se um delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento. As unidades experimentais foram constituídas de caixas de plástico transparente do tipo G18, com o substrato pó de coco seco mais casca de arroz na proporção 3:1 e com 12 mudas.

Antes do transplante o substrato foi submerso em solução nutritiva com 8,0; 0,41; 7,5; 1,50; 4,0 e 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  de N, P, K, Ca, Mg, e S, respectivamente, preparada com  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgSO}_4$  e de 1,2; 1,1; 0,4; 0,2; 0,03 e 0,01  $\text{mg L}^{-1}$  de Fe, Mn, Zn, B, Cu e Mo, respectivamente preparada com Fe-EDTA,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Após 24 horas de imersão o substrato foi comprimido manualmente, colocado na caixa G18, realizado o transplante e lacrada. Após 21 dias do transplante as caixas foram abertas e avaliadas a porcentagem de sobrevivência e o enraizamento das plantas. Os resultados das variáveis estudadas foram submetidos à análise de variância através do teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados e discussão

Nos dois primeiros experimentos a porcentagem de sobrevivência de plantas de minirosas após a aclimatização nos diferentes substratos utilizados esteve entre 0 e 3% (figura 1).



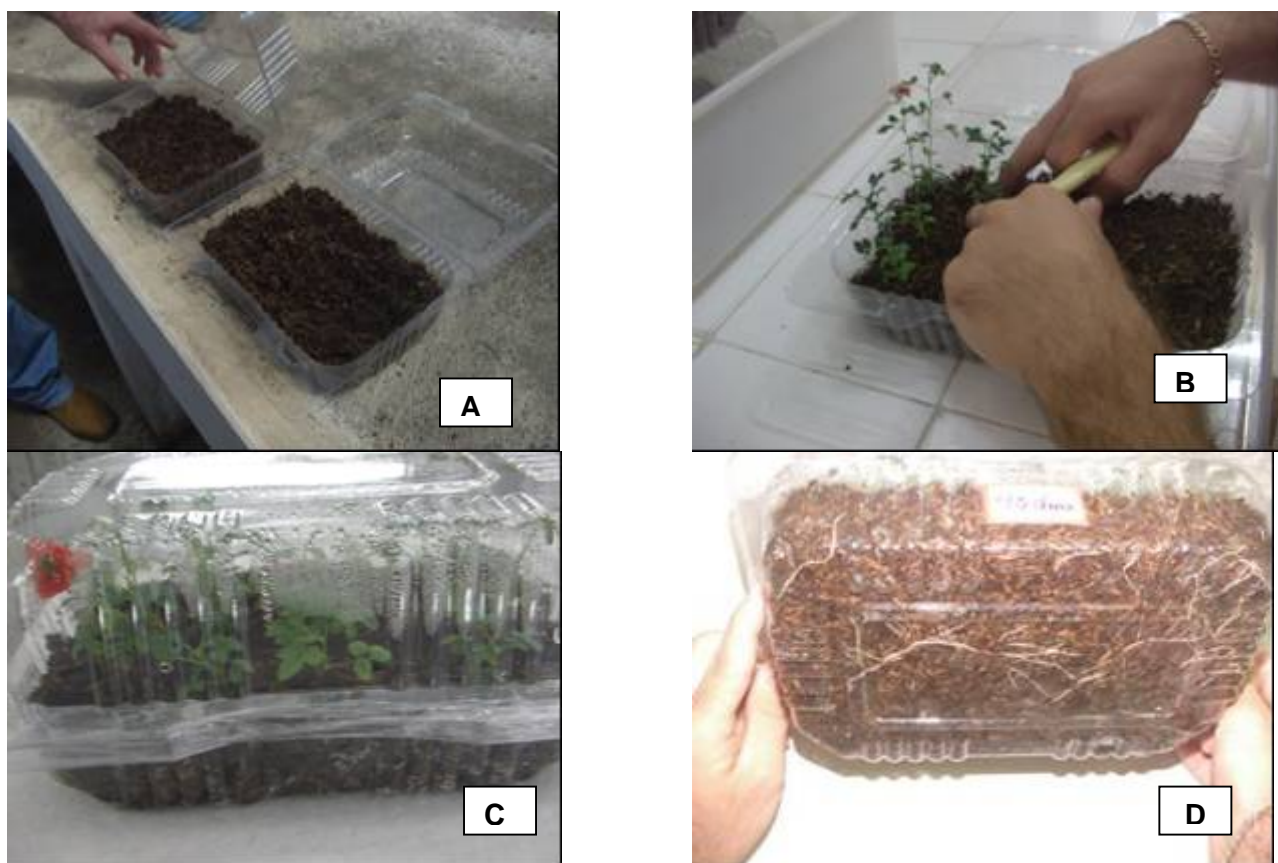
**Figura 1.** Mudras de minirosas enraizadas *in vitro*: A - antes do transplante, B - imediatamente após o transplante em bandejas de 56 células.

Durante a condução dos experimentos verificou-se que a retirada da proteção de plástico por um curto período de tempo, para realização das irrigações, provocava o murchamento das plantas, que com passar do tempo morreram.

Também foi observado que nos substratos 75% PCS + 25% CA e 75% PCS + 25% CAC foram os tratamentos em que as plantas transplantadas demoraram mais a morrer.

O comportamento observado permite atribuir a alta porcentagem de mortalidade das mudas a excessiva perda de água pelas plantas. Segundo Silva et al., (1995) a baixa taxa de sobrevivência na fase de aclimatização e causada pela transpiração excessiva devido ao mau funcionamento de abertura e fechamento dos estômatos, além da contribuição da baixa integridade da cutícula e da membrana celular na degradação dos estômatos e a baixa qualidade da raiz formada em condição *in vitro*.

No terceiro experimento utilizando caixas de plástico tipo G18 lacradas para aclimatização a porcentagem de sobrevivência foi de 100% para as plantas de 20 a 55 dias de enraizamento *in vitro*. Após 55 dias de enraizamento a porcentagem de sobrevivência diminuiu com o tempo. A análise de variância mostrou diferença estatística ( $P \geq 0,05$ ), entre as plantas com mais de 69 dias e menos de 62 dias que apresentaram maior porcentagem de enraizamento (figura 2). Estes resultados mostram que a caixa de plástico do tipo G18 cria um micro ambiente favorável a aclimatização de plantas (tabela 1). Este comportamento pode ser atribuído principalmente à manutenção da umidade relativa constante de 100% dentro da caixa similar a umidade relativa existente no enraizamento *in vitro*, evitando que a planta sofra estresse hídrico durante o período de adaptação do sistema radicular ao substrato, assim como da parte aérea a luminosidade natural.



**Figura 2.** Aclimatização de mudas de minirosa em caixas de plástico do tipo G18: A – caixa com substrato, B – transplântio das mudas, C - mudas após 21 dias de transplântio, D – desenvolvimento das raízes após 21 dias.

**Tabela 2.** Porcentagem de sobrevivência de mudas de mini rosas micropropagadas de diferentes dias de enraizamento, após aclimatização em condições ambientais (25 – 34 °C) e condições controladas (26 ± 2 °C).

Dias de Enraizamento	Aclimatização	
	Condições Controladas	Condições Ambientais
	.....%.....	
<b>20</b>	100 Aa	100 Aa
<b>27</b>	100 Aa	100 Aa
<b>34</b>	100 Aa	100 Aa
<b>41</b>	100 Aa	100 Aa
<b>48</b>	100 Aa	100 Aa
<b>55</b>	100 Aa	100 Aa
<b>62</b>	97,2 Aa	97,2 Aa
<b>69</b>	91,6 Ab	80,5 Ab
<b>76</b>	91,6 Ab	75 Ab
<b>83</b>	66,6 Ac	63,8 Ac

Médias seguidas com letras maiúsculas nas linhas e médias seguidas de letras minúsculas iguais nas fileiras não diferem entre se pelo teste de Tukey a 5%.

Comparando os ambientes de aclimatização do laboratório com o da casa-de-vegetação, não foram observadas diferenças estatísticas entre eles.

#### CONCLUSÃO

A morte das mudas micropropagadas durante a aclimatização é causada principalmente pela desidratação das plantas.

A manutenção de 100% da umidade relativa no ambiente reduz significativamente a mortalidade de mudas micropropagadas de minirosa.

Condições ambientais com temperatura variando de 24-35 °C e condições controladas a 26°C ± 2°C não influenciam na sobrevivência de mudas de minirosas durante a aclimatização.

Mudas de minirosas com tempo de 20 a 60 dias enraizamento *in-vitro* mantem em 100% sua capacidade de sobrevivência durante a aclimatização.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOETTCHER, A. Rosas. **Sítios e jardins**. São Paulo: Editora Europa, 87p, 1991.

FIOR, C. S.; KAMPF, A. N. Substrato e nutrição na aclimatização ex vitro de *Limonium Platyphyllum* Kuntze. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, São Paulo, v.1, n.1, p.78-86, 1999.

PELETTI, M. F.; ECHEVERRIGARAY, S.; BAVARESCO, L. A. Micropropagação de mini rosas. **Deptº Ciências Biológicas/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/UCS**, 1p, 2006.

SILVA, A.T.; PASQUAL, M.; ISHIDA, J.S; ANTUNES, L.E.C. Aclimatização de plantas provenientes da cultura in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 49-53, jan. 1995.

TERCEIRO NETO, C.P.C.; HERNANDEZ, F.F. F; BEZERRA, F.C.; SOUSA, R.F; CAVALCANTI, M.L.F. Efeito da concentração salina da solução nutritiva na aclimação de plantas micropropagadas de Violeta Africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n 2, 2004.

PALAVRAS-CHAVE: mudas *in vitro*, substrato, casa-de-vegetação, transplântio.

AGRADECIMENTOS - Ao CNPq pelo fornecimento da bolsa e a UFC.

## Produção de orquídeas *in vitro* sob luz natural.

Togoro, Aluísio Hideki<sup>1</sup>; Silva, Adriano Bortolotti<sup>2</sup>; Dias, Iara Eleutéria<sup>3</sup>; Silva, Juliana Aparecida dos Santos da<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Câmpus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [aluisiot@hotmail.com](mailto:aluisiot@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor Doutor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br); <sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [lara3coracoes@hotmail.com.br](mailto:lara3coracoes@hotmail.com.br); <sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [jujuapsantos@hotmail.com.br](mailto:jujuapsantos@hotmail.com.br).

As sementes de orquídeas necessitam, na natureza, uma associação simbiótica com um fungo micorrizico para germinação de suas sementes. Isto leva a menos de 1% de germinação, resultando em baixo número de plantas produzidas. A germinação de orquídeas em laboratório de biotecnologia vegetal é uma alternativa eficiente por apresentar uma forma de cultivo que proporciona grande sucesso neste processo. Entretanto, esta técnica é relativamente cara devido ao alto investimento com instalações. O presente trabalho teve como objetivo reduzir os custos de produção das plantas de orquídea advindas de culturas de tecidos através do emprego de luz natural na fase de desenvolvimento *in vitro*. O trabalho foi realizado no laboratório de Biotecnologia Vegetal da Unifenas, no Campus de Alfenas, Minas Gerais. Foram utilizado plântulas de orquídea (*Laelia tenebrosa*), já estabelecidos *in vitro* a partir de sementes. O material vegetal (plântulas com aproximadamente 1,0cm de comprimento) foram inoculados em meio de cultura Knudson, acrescido de 20g/L de sacarose, na ausência de reguladores de crescimento e com pH regulado a 5,8, onde distribui-se 40ml por frasco que foram autoclavados a 120°C por 20 minutos. Os tratamentos constaram de dois ambientes de cultivo *in vitro* (sala de crescimento e estufa com luz natural) em combinação com diferentes meios de cultura (meio liquido e solidificado com 6g/L de ágar). As plântulas em meio liquido apresentaram baixa taxa de sobrevivência (inferior a 10%). O meio sólido foi mais efetivo para o crescimento do material vegetal. A luz natural foi benéfica para o crescimento *in vitro* de orquídeas apresentando plântulas com mais de 3,0 cm de comprimento. Pode-se concluir que é possível o desenvolvimento *in vitro* de orquídea em meio de cultura sólida sob luz natural, reduzindo os custos de produção das mudas, possibilitando a rustificação do material vegetal *in vitro*, resultando com isso menores perdas no processo de aclimatização.

### PALAVRAS-CHAVES

*Laelia tenebrosa*; Cultura de tecidos; Biotecnologia.



## **Efeito da luz natural em meio de cultura líquido e sólido na propagação *in vitro* de abacaxi cv. Imperial.**

Silva, Juliana Aparecida dos Santos da<sup>1</sup>; Silva, Adriano Bortolotti<sup>2</sup>; Togoro, Aluísio Hideki<sup>3</sup>; Terra, Laís de Oliveira Ávila<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Campus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [jujuapsantos@hotmail.com](mailto:jujuapsantos@hotmail.com);

<sup>2</sup>Professor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br);

<sup>3</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS), email: [aluisiot@hotmail.com.br](mailto:aluisiot@hotmail.com.br);

<sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [laisaterra@bol.com.br](mailto:laisaterra@bol.com.br).

O abacaxi é considerado um dos mais importantes dentre os denominados frutos tropicais. Em 1997 o Brasil foi o segundo maior produtor mundial da fruta, contribuindo com 14,8% da produção (FAO, 1998). A cultura do abacaxi tem como característica a grande demanda por mão-de-obra, sendo importante geradora de emprego e renda nas regiões onde é cultivada. O presente trabalho teve como objetivo reduzir os custos de produção das mudas de abacaxizeiro advindas de culturas de tecidos, através do emprego de luz natural na fase de desenvolvimento *in vitro* do abacaxizeiro. O trabalho foi realizado no laboratório de Biotecnologia Vegetal da Unifenas, no campus de Alfenas, Minas Gerais. Foram utilizados 36 explantes de abacaxi Imperial, já estabelecidos *in vitro*. Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose, na ausência de reguladores de crescimento e com pH regulado a 5,8, onde distribui-se 40ml por frasco que foram autoclavados a 120°C por 20 minutos. Os propágulos foram inoculadas em uma câmara de fluxo laminar, com os instrumentos autoclavados. Assim, pode-se concluir que é possível o desenvolvimento *in vitro* de abacaxizeiro em meio de cultura líquida sob luz natural em estufas com 50% de sombreamento, reduzindo os custos de produção das mudas, possibilitando a rustificação do material vegetal *in vitro*, e com isso menores perdas no processo de aclimatização.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Cultura de tecidos; *in vitro*; Meio de cultura

## **Cultivo *in vitro* de orquídea sob luz natural com diferentes espectros luminosos.**

Correa, Vinicius Rodrigues Silva<sup>1</sup>; Silva, Adriano Bortolotti<sup>2</sup>; Dias, Iara Eleutéria<sup>3</sup>; Araújo, Thaís Helena<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Câmpus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [suiciniwaerroc@yahoo.com.br](mailto:suiciniwaerroc@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br); <sup>3</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [lara3coracoes@hotmail.com.br](mailto:lara3coracoes@hotmail.com.br); <sup>4</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS), email: [nenapa@bol.com.br](mailto:nenapa@bol.com.br).

As orquídeas são cultivadas pela exotividade e beleza de suas flores. A utilização de luz natural na micropropagação apresenta vantagens, como a eliminação dos gastos com luz artificial, instalações simplificadas e durante a aclimatização o estresse causado à planta é menos intenso. Além disso, o emprego de luz natural pode favorecer o cultivo fotoautotrófico ou fotomixotrófico. O presente trabalho teve por objetivo verificar o crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas em estufa com Sombrite® 50% (azul, preto, vermelho) e Clarite® em combinação com Meio de cultura MS com emprego de banana (00 ou 50g/L). A testemunha foi mantida em sala e crescimento com luz artificial e temperatura controladas (26 ± 1°C). As plântulas (*Dendrobium nobile*) utilizadas no experimento apresentavam aproximadamente 1 cm de comprimento e foram obtidas a partir da germinação *in vitro* de sementes em meio Knudson. Na montagem dos experimentos foram usados frascos com capacidade para 250 mL, nos quais foram adicionados 30 mL de meio de cultura. O experimento foi composto por um fatorial simples (4x2), constando de 4 espectros luminosos e 2 meios de cultura (com e sem banana), totalizando 8 tratamentos. O delineamento foi o inteiramente casualizado com 4 repetições e 5 plantas por parcela. As avaliações foram realizadas aos 90 dias de cultivo. Para a variável altura de plântulas, melhores resultados foram obtidos com emprego de 50g/L de banana. A massa fresca da planta apresentou maior desempenho com o uso de Clarite® combinado com meio de cultura MS acrescido de 50g/L de banana. O comprimento do sistema radicular apresentou melhor desempenho em sala de crescimento ou em ambiente com Sombrite® preto, em ambos os casos em meio de cultura MS acrescido de 50g/L de banana.

### **PALAVRAS-CHAVES**

Orquidaceae; Micropropagacao, Luz natural



## Micropropagação fotoautotrófica de abacaxizeiro.

Silva, Adriano Bortolotti<sup>1</sup>; Araújo, Thaís Helena<sup>2</sup>; Togoro, Aluísio Hideki<sup>3</sup>; Correa, Vinícius Rodrigues Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professor da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS (Orientador), Campus Alfenas, Rod. MG 179, Km 0 – Câmpus Universitário, CEP: 37130-000, Alfenas, Tel: (35) 32993000, email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br);

<sup>2</sup>Graduanda em Agronomia (UNIFENAS) email: [nenapa@bol.com.br](mailto:nenapa@bol.com.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS), email: [aluisiot@hotmail.com](mailto:aluisiot@hotmail.com); <sup>4</sup>Graduando em Agronomia (UNIFENAS), email: [suicinivaerroc@yahoo.com.br](mailto:suicinivaerroc@yahoo.com.br).

A micropropagação de abacaxizeiro a partir de gemas laterais produz plantas com alta qualidade e fitossanitária. Entretanto, as mudas produzidas neste sistema ainda são caras e de difícil acesso aos produtores rurais. A micropropagação fotoautotrófica pode ser uma alternativa para redução dos custos de produção, bem como diminuir as perdas durante a fase de aclimatização. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo verificar o sistema de ventilação natural (recipiente com filtros que permitem trocas gasosas) e o emprego da luz natural durante a fase de incubação do cultivo *in vitro*, ambos fatores essenciais para permitir a micropropagação fotoautotrófica. O trabalho foi realizado no laboratório de biotecnologia vegetal da Universidade José do Rosário Vellano. Os explantes foram inoculados no de meio de cultura contendo sais minerais e vitaminas MS suplementado, respectivamente, com concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45g/L). Os meios foram distribuídos em frascos de 250 mL de capacidade, fechados, respectivamente com tampas convencionais que não permitiam trocas gasosas e com tampas com membrana Milliseal-Millipore. O experimento foi montado em esquema fatorial (4x2), constando de 4 doses de sacarose e 2 ambiente de cultivo (tampas com e sem membrana). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições e 5 plantas por parcela. Após a inoculação, 4 frascos de cada tratamento frasco foram mantidos em casa-de-vegetação (luz natural) com 50% de sombreamento. A testemunha foi mantida em sala de crescimento com luz e temperatura controladas com as plantas crescendo em meio MS com 30g/L de sacarose. Melhores resultados foram obtidos na casa-de-vegetação com sombrite de 50% , utilizando tampas com membrana e meio MS com 30g/L de sacarose. As mudas produzidas com este tratamento foram mais altas, com maior massa fresca e seca quando comparadas com os demais tratamentos. Esta característica pode estar relacionada com a ocorrência de fotossíntese *in vitro*, o que vai facilitar a transferencia do cultivo *in vitro* para o ambiente externo.

### PALAVRAS-CHAVES

Bromeliaceae; Abacaxizeiro; Cultivo *in vitro*

## Produção de alpinia sob cultivo protegido em função do espaçamento e da adubação em região litorânea do Estado do Ceará

Natanael Santiago Pereira<sup>1</sup>; Fred Carvalho Bezerra<sup>2</sup>; Rubens Sonsol Gondim<sup>2</sup>; Daniel Barbosa Araújo<sup>3</sup>; Antônio Valdônio dos Reis Lima<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFC, Campus do Pici, Departamento de Ciências do Solo, Bloco 807, CEP 60.021-970 – Fortaleza/CE, Fone: (85)-3366.9686, [natanaelsan@hotmail.com](mailto:natanaelsan@hotmail.com)

<sup>2</sup> Pesquisador Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto Pici, CEP 60.511-110, Fortaleza/CE, Fone (85) 3299.1828, [fred@cnpat.embrapa.br](mailto:fred@cnpat.embrapa.br)

<sup>3</sup> Aluno de Graduação do Curso de Agronomia da UFC

### INTRODUÇÃO

No estado do Ceará, as flores tropicais são produzidas principalmente em regiões serranas que, pelo seu relevo acentuado e a escassez de terras para a expansão da agricultura, pois boa parte encontra-se dentro de áreas de preservação permanente, apresentando dificuldades para a instalação de novos cultivos. Dessa forma, a região litorânea vem despontando como área potencial para exploração de flores tropicais, apresentando extensas áreas planas cultiváveis, além de elevada disponibilidade de água. Devido às condições de temperatura e luminosidade nessa região, maiores do que aquelas encontradas nas regiões serranas, torna-se necessário a exploração dessas espécies em sistemas de cultivo protegido.

Entre as flores tropicais cultivadas atualmente pode-se citar a *Alpinia purpurata* (Vieill.) Schum, conhecida popularmente como alpinia vermelha, gengibre vermelho ou panamá. É uma planta tropical herbácea, ereta, rizomatosa, originária das florestas e campos da Indo-Malásia (LORENZI e SOUZA, 2001; LAMAS, 2002), é usada como flor de corte e em paisagismo, apresentando florescimento durante todo o ano. Sua introdução no mercado de flores de corte é recente, onde seu potencial tem sido reconhecido tanto pela beleza de sua inflorescência, como também pela sua longa vida pós-colheita (GONZALEZ e MOGOLLÓN, 2001a, Id, 2001b).

Para a maioria das espécies tropicais cultivadas atualmente, existem poucos dados científicos relativos ao sistema de cultivo, principalmente em ambiente protegido, sendo, dessa forma, o cultivo baseado principalmente no empirismo. Dessa forma, faz-se necessário desenvolver pesquisas no sentido de estabelecer um sistema de produção adequado para essas espécies em condições de cultivo protegido.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de doses de NPK e espaçamento entre plantas sobre a produção de hastes de *Alpinia purpurata* cv. red ginger, sob cultivo protegido, nas condições de litoral do Ceará.

### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido na estação experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, no município de Paraipaba, Estado do Ceará, Brasil, localizado a 93 km de Fortaleza, a altitude média é de 31 m, latitude de 3°28'47" S e longitude de 39°09'47" W. O clima do local, segundo o Sistema Internacional de Köppen, é classificado como tropical chuvoso clima de savana – Aw', apresentando o máximo de chuvas no outono e período seco no inverno. A área experimental apresenta solo Neossolo Quartzarênico, de acordo com a classificação da EMBRAPA (GOMES, 2004). O cultivo foi conduzido em telado de madeira com 450 m<sup>2</sup> (30m x15m) e 4,5m de altura, com 50% de sombreamento (Figura 1). no período de setembro de 2003 a agosto de 2005.



FIGURA 1 – Telado com 50% de sombreamento, na estação experimental da Embrapa/CNPAT, em Paraipaba - CE. 2007.

Neste estudo foi utilizada a *Alpinia purpurata*, variedade red ginger, cujas mudas (rizomas) foram adquiridas de um produtor do município de Baturité-CE. As mudas foram plantadas em canteiros de diferentes dimensões, de modo que houvesse pelo menos duas covas por parcela. Os tratamentos foram três níveis de adubação e três densidades de plantio, com 4 repetições. A análise estatística foi feita utilizando-se a média geral da produção de hastes, considerando o delineamento inteiramente casualizado, arranjo fatorial 3x3, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Espaçamentos testados

- E1 (1,25m x 2,00m) = 0,40 plantas/m<sup>2</sup> = 4000 plantas/ha;
- E2 (0,90m x 2,00m) = 0,56 plantas/m<sup>2</sup> = 5555 plantas/ha;
- E3 (0,65m x 2,00m) = 0,77 plantas/m<sup>2</sup> = 7692 plantas/ha.

Para a adubação mineral utilizou-se a formulação 15:15:15 (N:P:K), utilizando-se as seguintes doses:

- A1 (100% = controle) = 250g/cova;
- A2 (-25% do controle) = 187,0g/cova;
- A3 (+25% do controle) = 312,0g/cova.

Igualmente para todos os tratamentos foram adicionados 37,5kg/ha de micronutrientes (FTE – BR12) e húmus de minhoca (5kg/m<sup>2</sup>). As adubações mineral e orgânica foram parceladas em quatro vezes/ano. A adubação controle foi baseada no que é recomendado na literatura. A irrigação foi feita por microaspersores com vazão média de 39 L h<sup>-1</sup>. A umidade do solo foi mantida na capacidade de campo, de acordo com as leituras dos tensiômetros, para o cálculo da lâmina de irrigação. Três meses após o plantio iniciou-se a condução da touceira, deixando-se 9 hastes por touceira. A produção (número de hastes por m<sup>2</sup> de canteiro) acumulada durante os dois anos de cultivo foi calculada a partir da área total dos canteiros, visto que a distância entre os mesmos era uniforme (2,0m), e a colheita era feita quando o terço inferior das brácteas encontrava-se totalmente expandido, de acordo com os procedimentos adotados em plantios comerciais (LAMAS, 2002). Deve ser ressaltado que a colheita era feita sempre que as inflorescências atingiam o ponto ideal, e o acumulado era computado mês a mês.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de hastes iniciou-se no 7º mês de plantio, sendo considerado então o primeiro mês de produção. Não houve diferença significativa entre as doses de adubação NPK dentro de cada espaçamento testado. Isso pode estar relacionado com o fato de que as doses aplicadas estarem em nível adequado para a cultura e, por isso mesmo, não produzindo efeitos visíveis quando da variação das mesmas, o que sugere que a menor dose (46,9g/cova) supre as necessidades da planta. Para efeito de comparação de médias para a produção de hastes, devido a não interação entre espaçamentos e doses de NPK, foram usadas as médias dos três níveis de adubação para cada densidade de plantio (Figura 1).

TABELA 1 - Número de hastes de *Alpinia purpurata* por m<sup>2</sup> de canteiro, em diferentes espaçamentos (E) e níveis de adubação NPK (A) em dois anos de cultivo. Fortaleza, 2007.

	E1 (1,25mx2,00m)	E2 (0,90mx2,00m)	E3 (0,65mx2,00m)	Média
A1 (62,5g/cova)	53,60	59,35	67,98	60,31A
A2 (46,9g/cova)	52,50	62,59	63,66	59,58A
A3 (78,1g/cova)	58,20	64,17	64,13	62,17A
Média	54,77b	62,04a	65,26a	CV(%): 9,88

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

De uma maneira geral, a produção de hastes/m<sup>2</sup> aumentou com o aumento da densidade de plantio durante os dois anos de cultivo. Houve diferença significativa entre os espaçamentos E1 e os espaçamentos E2 e E3, porém, não havendo diferença significativa entre os dois últimos. Segundo LAMAS (2002) a produtividade média de *Alpinia* é de noventa inflorescências/cova/ano, o que corresponde a 72 inflorescências/m<sup>2</sup>, no espaçamento 1,25m x 2,00m, no entanto o mesmo autor não faz referência sobre as condições de cultivo e, principalmente, sobre a qualidade das inflorescências. Deve-se considerar ainda que a produção ótima da alpinia só ocorre após o terceiro ano de cultivo.

A produção mensal de hastes apresentou uma grande variação durante todo o período de colheita (FIGURA 2). Isso deve ser devido a cultura encontrar-se ainda em fase de desenvolvimento, em processo de formação da touceira. De acordo com LAMAS (2002) a produção nas condições do nordeste é bem linear e uniforme.

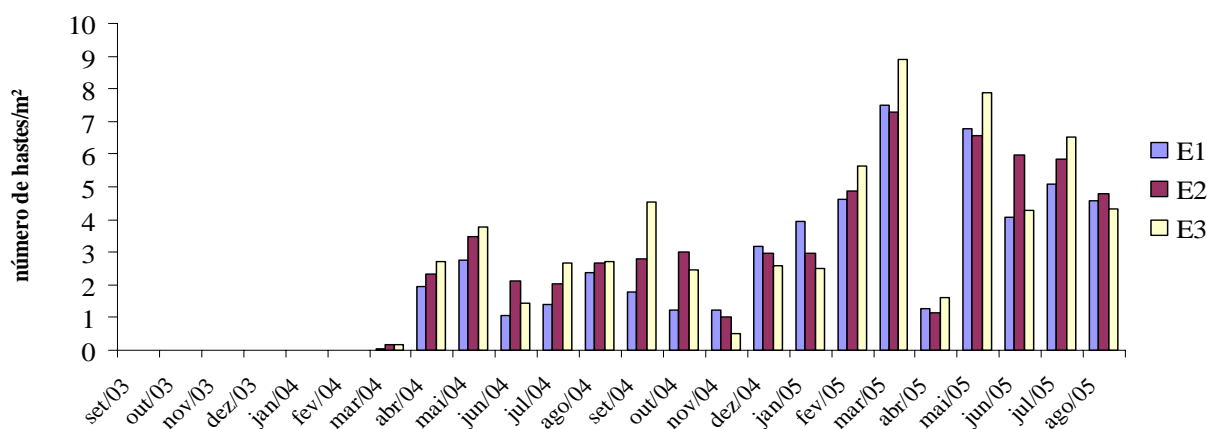


FIGURA 2 - Evolução da produção mensal de hastes de *Alpinia purpurata*, em três espaçamentos, E1 (1,25 m x 2,00 m), E2 (0,90 m x 2,00 m) e E3 (0,65 m x 2,00 m).

Observa-se que o pico da produção de hastes nesse trabalho ocorreu no mês de março/2005, aos 19 meses de idade, para os três espaçamentos, coincidindo com período chuvoso da região. De acordo com LAMAS (2002) o pico de floração ocorre de novembro a março, nas condições do nordeste.

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e para as condições em que foi desenvolvido o experimento, conclui-se que:

1. Não houve diferença entre as doses de adubação NPK, para o número de hastes/m<sup>2</sup> de canteiro, indicando que a menor dose (46,9g/cova) supre as necessidades da planta.
2. Houve aumento do número de hastes/m<sup>2</sup> entre os espaçamentos 0,90mx2,00m e 0,65mx2,00m, não havendo, contudo, diferença significativa entre os espaçamentos E1 e E2.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOMES, A.R.M. **Estimativa da evapotranspiração e coeficientes de cultivo da helicônia sob diferentes níveis de adubação e espaçamento na região de Paraipaba-CE**. Fortaleza: UFC, 2004. 75p.:il. (DISSERTAÇÃO DE MESTRADO).

GONZÁLEZ, M.T. y MOGOLLÓN, N.J.. Fertilización nitrogenada sobre el crecimiento y desarrollo de la inflorescencia en plantas de *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. 'Jungle King' provenientes de cultivo *in vitro* y de sección de rizoma. **Rev. Fac. Agron. (LUZ)**. 2001a, 18: 124-134.

GONZÁLEZ, M.T. y MOGOLLÓN, N.J. Aspectos del crecimiento, desarrollo y producción de *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum 'Jungle King' proveniente de cultivo *in vitro*. **Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.** 2001b, 43: 164-172.

LAMAS, A.M. **Floricultura Tropical**: Técnicas de cultivo. Recife: SEBRAE/PE (Série Empreendedor, 5). 2002.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. de. **Plantas Ornamentais do Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3<sup>a</sup> ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001. 1008P.

PALAVRAS-CHAVES: Flores tropicais, densidade de plantio, fertilização, sombreamento.



## Caracterização de hastes de alpinia sob cultivo protegido em função do espaçamento e da adubação em região litorânea do Estado do Ceará

Fred Carvalho Bezerra<sup>1</sup>; Natanael Santiago Pereira<sup>2</sup>; Rubens Sonsol Gondim<sup>1</sup>; Daniel Barbosa Araújo<sup>3</sup>; Antônio Valdônio dos Reis Lima<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pesquisador Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto Pici, CEP 60.511-110, Fortaleza/CE, Fone (85) 3299.1828, [fred@cnpat.embrapa.br](mailto:fred@cnpat.embrapa.br)

<sup>2</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFC, Campus do Pici, Departamento de Ciências do Solo, Bloco 807, CEP 60.021-970 – Fortaleza/CE, Fone: (85)- 3366.9686, [natanaelsan@hotmail.com](mailto:natanaelsan@hotmail.com)

<sup>3</sup> Aluno de Graduação do Curso de Agronomia da UFC

### INTRODUÇÃO

O cultivo de flores tropicais está em ascensão no Brasil, destacando-se como um agronegócio rentável, fixador de mão-de-obra no campo e como cultura alternativa para pequenos produtores. Normalmente, o uso do termo flores tropicais é aplicado às inflorescências, onde se destacam às brácteas, que geralmente apresentam colorido intenso e formas variadas. Nos últimos anos o Nordeste vem apresentado um crescimento significativo no cultivo de flores tropicais, destacando-se os estados de Pernambuco, Alagoas e Ceará como os maiores produtores/exportadores dessas espécies. O interesse por essas flores dá-se por diversas características que favorecem a sua comercialização, tais como beleza, exotismo, cores e formas diversas, resistência ao transporte, durabilidade pós-colheita, além de grande aceitação no mercado externo, em especial nos países desenvolvidos (Loges et al, 2005). Entre as flores tropicais cultivadas encontra-se a *Alpinia purpurata* (Vieill.) Schum, conhecida popularmente como alpinia vermelha, gengibre vermelho ou panamá. Segundo a literatura, essa espécie desenvolve-se bem a meia sombra, sob a copa de árvores e podendo também ser cultivada a pleno sol. O cultivo sob árvores pode representar um problema para a cultura, pois pode prejudicar a qualidade do produto final, ocasionada por queda de folhas, galhos e outras partes das árvores. Entre os principais parâmetros de qualidade para flores tropicais estão incluídos os comprimentos da haste e da inflorescência no ponto de corte, ressaltando-se que as condições de cultivo influem diretamente nessas características. No estado do Ceará, as flores tropicais são produzidas principalmente em regiões serranas, porém, a região litorânea vem despontando como área potencial para exploração dessas espécies. Devido às condições de temperatura e luminosidade nessa região, maiores do que aquelas encontradas nas regiões serranas, torna-se necessário a exploração dessas espécies em sistemas de cultivo protegido.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de três densidades de plantio e três níveis de adubação sobre as características de hastes de *Alpinia purpurata*, variedade red ginger, em cultivo protegido na região litorânea do Estado do Ceará.

### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido na estação experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, no município de Paraipaba, Estado do Ceará, Brasil, localizado a 93 km de Fortaleza, a altitude média é de 31 m, latitude de 3° 28' 47" S e longitude de 39° 09' 47" W. O clima do local, segundo o Sistema Internacional de Köppen, é classificado como tropical chuvoso clima de savana – Aw', apresentando o máximo de chuvas no outono e período seco no inverno. A área experimental apresenta solo Neossolo Quartzarênico, de acordo com a classificação da EMBRAPA (Gomes, 2004). O cultivo foi conduzido em telado de madeira com 450 m<sup>2</sup> (30 m x 15 m) e 4,5 m de altura, com 50% de sombreamento (Figura 1). no período de setembro de 2003 a agosto de 2005.



FIGURA 1 – Cultivo de alpinia em telado com 50% de sombreamento. Paraipaba - CE. 2007.

Neste estudo foi utilizada a *Alpinia purpurata*, variedade red ginger, cujas mudas (rizomas) foram adquiridas de um produtor do município de Baturité-CE. As mudas foram plantadas em canteiros de diferentes dimensões, de modo que houvesse pelo menos duas covas por parcela. Os tratamentos foram três níveis de adubação e três densidades de plantio, com 4 repetições. A análise estatística foi feita utilizando-se a média geral da produção de hastes durante os 18 meses de produção, considerando o delineamento inteiramente casualizado, arranjo fatorial 3x3, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Espaçamentos testados

- E1 (1,25m x 2,00m) = 0,40 plantas/m<sup>2</sup> = 4000 plantas/ha;
- E2 (0,90m x 2,00m) = 0,56 plantas/m<sup>2</sup> = 5555 plantas/ha;
- E3 (0,65m x 2,00m) = 0,77 plantas/m<sup>2</sup> = 7692 plantas/ha.

Para a adubação mineral utilizou-se a formulação 15:15:15 (N:P:K), utilizando-se as seguintes doses:

- A1 (100% = controle) = 250g/cova;
- A2 (-25% do controle) = 187,0g/cova;
- A3 (+25% do controle) = 312,0g/cova.

Igualmente para todos os tratamentos foram adicionados 37,5kg/ha de micronutrientes (FTE – BR12) e húmus de minhoca (5kg/m<sup>2</sup>). As adubações mineral e orgânica foram parceladas em quatro vezes/ano. A adubação controle foi baseada no que é recomendado na literatura. A irrigação foi feita por microaspersores com vazão média de 39 L h<sup>-1</sup>. A umidade do solo foi mantida na capacidade de campo, de acordo com as leituras dos tensiômetros, para o cálculo da lâmina de irrigação. Três meses após o plantio iniciou-se a condução da touceira, deixando-se 9 hastes por touceira. Foram avaliados o tamanho da haste (TH): tomado do colo da planta até a base da inflorescência e o tamanho da inflorescência (TI): baseada no comprimento da inflorescência desde a base até o ápice.

A colheita foi feita quando o terço inferior das brácteas das inflorescências encontrava-se totalmente expandido, de acordo com os procedimentos adotados em plantios comerciais (Lamas, 2002), e o acumulado era computado mês a mês.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção iniciou-se no 7º mês após o plantio e não houve diferença significativa entre as doses de adubação NPK dentro de cada espaçamento testado, porém, observou-se diferenças entre os espaçamentos para as variáveis analisadas (Tabela 1). Isso pode estar relacionado com o fato de que as doses aplicadas estarem em nível adequado para a cultura e, por isso mesmo, não produzindo efeitos visíveis quando da variação das mesmas, o que sugere que a menor dose (46,9 g/cova) supre as necessidades da planta. Para efeito de comparação de médias para as variáveis avaliadas, devido a não interação entre espaçamentos e doses de NPK, foram usadas as médias dos três níveis de adubação para cada densidade de plantio (Tabela 1).

Tabela 1- Comprimentos (cm) de hastes e de inflorescências de *Alpinia purpurata* em diferentes espaçamentos (E) e níveis de adubação NPK (A) em dois anos de cultivo. Fortaleza, 2007.

	E1 (1,25mx2,00m)	E2 (0,90mx2,00m)	E3 (0,65mx2,00m)	Média
Tamanho de haste (cm)				
A1 (62,5g/cova)	102,0	91,6	84,0	92,5A
A2 (46,9g/cova)	99,3	98,9	91,4	96,5A
A3 (78,1g/cova)	107,3	98,5	76,0	93,9A
Média	102,9a	96,3a	83,8b	CV(%): 11,23
Tamanho de inflorescência (cm)				
A1 (62,5g/cova)	22,3	20,5	19,6	20,8A
A2 (46,9g/cova)	23,3	22,0	20,4	21,9A
A3 (78,1g/cova)	24,0	21,2	17,1	20,8A
Média	23,2a	21,2ab	19,0b	CV (%): 10,46

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

De forma geral nos espaçamentos menos adensados os valores para as variáveis avaliadas foram maiores do que nos espaçamentos mais adensados. Isso é devido, provavelmente, ao aumento do vigor das plantas, resultado da menor competição por água, luz e por espaço para a melhor exploração do solo e desenvolvimento da touceira. Maiores comprimentos de haste ocorreram nos espaçamentos 1 (1,25 m x 2,00 m) e 2 (0,90 m x 2,00 m), 102,9 e 96,3 cm, respectivamente, os quais não diferiram estatisticamente entre si, mas estes diferiram do espaçamento 3 (0,65 m x 2,00 m), mais adensado, que apresentou média de 83,8 cm. Com relação ao comprimento das inflorescências, não houve diferença significativa entre o E2 (0,90 m x 2,00 m), 21,20 cm, e os demais espaçamentos, no entanto, houve diferença significativa entre os espaçamentos E1 (1,25 m x 2,00 m) e E3 (0,65 m x 2,00 m), que apresentaram médias de 23,2 e 19,0 cm, respectivamente. Em caracterização física de hastes de *Alpinia purpurata* adquiridas no CEASA-Campinas, produzidas no estado do Rio de Janeiro, Dias-Tagliacozzo et al (2003) encontraram comprimentos de haste variando entre 70 a 90 cm, sendo maior a distribuição para os comprimentos compreendidos entre 81 a 86 cm.

Observou-se nesse trabalho, que tanto o tamanho da haste como o da inflorescência aumentava à medida que a touceira ficava mais velha. Para o tamanho da haste, no



primeiro mês de produção, a média para todos os tratamentos foi de 43,8 cm, chegando a 73,2 cm, no 6º mês, 96,2 cm no 12º mês e 138,2 cm, no final do experimento (18º mês). Com relação ao tamanho da inflorescência (TI) observou-se um aumento considerável com o tempo de produção, apresentando em média, para todos os tratamentos, no primeiro mês de produção, 17,3 cm, no 6º mês 15,2 cm, e, posteriormente, 20,7 e 28,9 cm, aos 12 e 18 meses de produção, respectivamente. Dessa forma, observou-se que a partir do 6º mês de produção (1 ano de idade) a média do tamanho das inflorescências alcança o tamanho mínimo comercial (15 cm), pela classificação indicada por Lamas (2002), ou tamanho médio, utilizando os padrões adotados internacionalmente (Loges et al., 2005). Em ambas as classificações, a máxima qualidade ocorre para tamanho de inflorescência maior que 20 cm, o qual foi atingido, nesse trabalho, a partir dos 17 meses de idade. Observou-se também que nos maiores espaçamentos as inflorescências alcançam tamanho grande (alto padrão de qualidade) mais rapidamente. Segundo Lamas (2002), o tamanho das hastes mais as inflorescências para comercialização varia de 60 cm a 110 cm. A partir do segundo mês de produção (8º mês de idade) o tamanho médio das hastes mais o das inflorescências observados nesse trabalho é de 68,9 cm, chegando a 116,9 cm no 12º mês de produção (18 meses de idade), encontrando-se, portanto, dentro dos padrões de qualidade comercial exigidos

## CONCLUSÃO

Não houve diferença entre as doses de adubação NPK, para os comprimentos de hastes e de inflorescências, indicando que a menor dose (46,9 g/cova) supre as necessidades da planta.

De uma maneira geral, a melhor qualidade das hastes/inflorescências foi observada com o aumento do espaçamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dias-Tagliacozzo, G.M.; Zullo, M.A.; Castro, C.E.F. de. Caracterização física e conservação pós-colheita de alpinia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.9, n.1, p.17-23, 2003.

Gomes, A.R.M. **Estimativa da evapotranspiração e coeficientes de cultivo da helicônia sob diferentes níveis de adubação e espaçamento na região de Paraipaba-CE**. 2004. 75f.:il. (DISSERTAÇÃO DE MESTRADO). UFC. Fortaleza.

Lamas, A.M. **Floricultura Tropical: Técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE/PE (Série Empreendedor, 5). 2002.

Loges, V.; Teixeira, M.C. F.; Castro, A.C.R.; Costa, A.S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.699-702, jul-set 2005.

**PALAVRAS-CHAVES:** Alpinia purpurata, Flores tropicais, densidade de plantio, fertilização, qualidade de hastes florais.

## **Indução floral em bromélia ornamental *Guzmania dissitiflora***

Barbosa, Gustavo Caldeira Victor <sup>1</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>2</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>, Paula, Cláudio Coelho<sup>3</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>2</sup>; Santos, Nerilson Terra<sup>4</sup>; Barros, Aline Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, e-mail: [gustavovictor@msn.com](mailto:gustavovictor@msn.com); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-2613, e-mail: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br), [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br), [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1953, e-mail: [ccpaula@ufv.br](mailto:ccpaula@ufv.br); <sup>4</sup>Professor do Departamento de Estatística da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1487; [nsantos@dpi.ufv.br](mailto:nsantos@dpi.ufv.br)

O florescimento natural de bromélias ocorre de forma desuniforme, sendo necessário utilizar indutores florais para controlar seu longo período de juvenilidade. O experimento foi conduzido no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando plantas de bromélia ornamental *Guzmania dissitiflora* com 16 meses de idade, com o objetivo de analisar aspectos do desenvolvimento e qualidade das inflorescências tratadas com ethephon, acetileno e carbureto de cálcio, e uma testemunha sem tratamento com indutor floral. Foram avaliados o número de dias entre o tratamento de indução até o florescimento, e, o desenvolvimento das inflorescências. As plantas que não receberam o fitorregulador não floresceram, demonstrando a essencialidade da indução floral em cultivo comercial. As plantas que foram tratadas com as doses de 0,5, 2 e 4 gramas de carbureto de cálcio por planta não floresceram e apresentaram sintomas de queimadura nas folhas. Plantas tratadas com ethephon, ou carbureto de cálcio na dose 1g/planta, ou com acetileno induziram o florescimento. Entre as doses de ethephon, a que demonstrou ser mais eficiente foi 12 mg/planta. Plantas tratadas com acetileno apresentaram o desenvolvimento da inflorescência mais precoce e rápido, maior número de flores e maior altura da inflorescência.

## **Indução floral em bromélia ornamental *Tilandsia cyanea*.**

Grossi, José Antonio Saraiva<sup>1</sup>; Barbosa, Gustavo Caldeira Victer<sup>2</sup> Barbosa, José Geraldo<sup>1</sup>, Paula, Cláudio Coelho<sup>3</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>1</sup>; Santos, Nerilson Terra<sup>4</sup>; Barros, Aline Ferreira<sup>2</sup>; Assis, Sabrina Paula<sup>5</sup>; Batista, Raimundo Junior da Rocha<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-2613, e-mail: [jgrosso@ufv.br](mailto:jgrosso@ufv.br), [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br), [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br), <sup>2</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, e-mail: [gustavovicter@msn.com](mailto:gustavovicter@msn.com); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1953, e-mail: [ccpaula@ufv.br](mailto:ccpaula@ufv.br); <sup>4</sup>Professor do Departamento de Estatística da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1487; [nsantos@dpi.ufv.br](mailto:nsantos@dpi.ufv.br) <sup>5</sup> Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa

O florescimento natural de bromélias ocorre de forma desuniforme, sendo necessário utilizar indutores florais para controlar seu longo período de juvenilidade. O experimento foi conduzido no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando plantas de bromélia ornamental *Tilandsia cyanea* com 16 meses de idade, com o objetivo de analisar aspectos do desenvolvimento e qualidade das inflorescências tratadas com ethephon, acetileno e carbureto de cálcio, e uma testemunha sem tratamento com indutor floral. As plantas que não receberam o fitorregulador não floresceram o que mostra a essencialidade da indução floral em um cultivo comercial. As plantas que foram induzidas com carbureto de cálcio não floresceram e apresentaram sintomas de queimadura nas folhas. Apenas aquelas que foram tratadas com ethephon e com solução em que foi injetado acetileno por 60 minutos floresceram. Não houve diferença significativa entre as doses testadas de ethephon e a solução em que foi injetado acetileno por 60 minutos, para todas as características avaliadas, exceto para a característica número de dias entre a indução e o florescimento, onde as plantas que foram tratadas com ethephon apresentaram o desenvolvimento da inflorescência mais precoce e rápido.

## **Indução floral em bromélia ornamental *Vriesea* cv. 'Charlotte'.**

Barbosa, Gustavo Caldeira Victor <sup>1</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>2</sup> Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>, Paula, Cláudio Coelho<sup>3</sup> ; Zuin , Affonso Henrique Lima<sup>2</sup> ; Santos, Nerilson Terra<sup>4</sup>; Barros, Aline Ferreira<sup>1</sup> , Assis, Sabrina Paula<sup>5</sup>, Raimundo Junior da Rocha<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, e-mail: [gustavovictor@msn.com](mailto:gustavovictor@msn.com); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário , CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-2613, e-mail: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br), [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br), [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1953, e-mail: [ccpaula@ufv.br](mailto:ccpaula@ufv.br); <sup>4</sup>Professor do Departamento de Estatística da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1487; [nsantos@dpi.ufv.br](mailto:nsantos@dpi.ufv.br) <sup>5</sup> Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa

O florescimento natural de bromélias ocorre de forma desuniforme, sendo necessário utilizar indutores florais para controlar seu longo período de juvenilidade. O experimento foi conduzido no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando plantas de bromélia ornamental *Vriesea* cv. 'Charlotte' com 16 meses de idade, com o objetivo de analisar aspectos do desenvolvimento e qualidade das inflorescências tratadas com ethephon, acetileno e carbureto de cálcio, e uma testemunha sem tratamento com indutor floral. Foram avaliados o número de dias entre o tratamento de indução até o florescimento, e, o desenvolvimento das inflorescências. As plantas que não receberam o fitorregulador não floresceram o que mostra a essencialidade da indução floral em um cultivo comercial. As plantas que receberam solução em que foi injetado gás acetileno por 20 minutos apresentaram o desenvolvimento da inflorescência mais precoce e rápido, maior diâmetro de haste, maior número de flores, maior altura da inflorescência e menor número de brotações laterais.

## Efeito do substrato na aclimatização de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.].\*

Silveira, Daniela Garcia<sup>1</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>2</sup>; Ledo, Carlos Alberto da Silva<sup>2</sup> Morais Lino, Lucymeire Souza<sup>3</sup>; Cunha, Elaine Conceição<sup>4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Botânica (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Presidente Dutra, S/N, Santa Mônica, CEP 44055-000, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3625-2300, email: [danielags@ig.com.br](mailto:danielags@ig.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br), [ledo@cnpmf.embrapa.br](mailto:ledo@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), e-mail: [lsmorais@yahoo.com.br](mailto:lsmorais@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Estudante de Agronomia (UFRB), Cruz das Almas-BA, e-mail: [ellainecunha@yahoo.com.br](mailto:ellainecunha@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Professor da Pós-Graduação da UEFS, Unidade Experimental Horto Florestal-Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, email: [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

O caroá é uma espécie de Bromeliaceae nativa da Caatinga Brasileira que tem grande importância econômica e social na Região Nordeste da Bahia. As fibras retiradas das folhas dessa espécie constituem uma das matérias-primas mais utilizadas para o trabalho artesanal dessa região, gerando emprego e renda para diversas famílias. As plantas dessa espécie, no entanto, têm sido coletadas diretamente na Caatinga de forma extrativista, gerando grande pressão antrópica, que pode levar à perdas expressivas da variabilidade genética natural.

O caroá se propaga vegetativamente por meio de estolões e como o desenvolvimento vegetativo da planta é muito lento, a obtenção de mudas por esta via demanda longo período de tempo. A multiplicação de caroá por sementes também pode apresentar problemas, pois os animais e pássaros alimentam-se das bagas verdes e principalmente das maduras (Xavier, 1982), dificultando a coleta na época ideal da maturação dos frutos.

As técnicas de cultura de tecidos, como a germinação de sementes e a multiplicação *in vitro* se constituem em estratégias interessantes para a produção em larga escala, contribuindo na produção de um número elevado de mudas, em qualquer época do ano. O estabelecimento de um protocolo de micropropagação para essa espécie vem sendo desenvolvido, necessitando, no entanto, de ajustes em várias etapas (Silveira et al., 2006). A aclimatização é uma das etapas mais importantes do processo de micropropagação podendo ser um fator limitante (Grattapaglia & Machado, 1998), que constitui a transição de um modo heterotrófico para fotoautotrófico de crescimento e estabelecimento de relações hídricas normais que incluem a absorção e a perda de água. Para se obter uma melhor resposta nesta etapa, deve-se proporcionar às plantas saídas do laboratório, alta umidade relativa do ar, baixa irradiação e temperatura amena para minimizar as perdas por dessecação.

Dentre as fases da micropropagação, o enraizamento é a que antecede à etapa de aclimatização. A duração dessa fase é muito variada, podendo ser longa a depender da espécie, onerando e tornando o processo mais laborioso. Adicionalmente, o sistema radicular adventício emitido *in vitro* é, em geral, pouco ramificado, quebradiço e isento de pêlos radiculares, com raízes pouco funcionais na absorção de água e nutrientes durante a aclimatização (Hoffmann et al., 2001). A eliminação da etapa de enraizamento *in vitro* é desejável sob o ponto de vista econômico, já que quanto maior a permanência da planta na sala de cultura, maiores serão os gastos com energia e mão-de-obra (Bosa et al., 2003). Em vista do exposto, o objetivo desse trabalho foi determinar o substrato adequado para o bom

---

\* Agradecimentos a CAPES pela concessão da bolsa de doutorado do primeiro autor e ao BNB e FAPESB pelo financiamento do projeto de pesquisa.

desenvolvimento dos brotos de caroá produzidos in vitro que não foram submetidas à etapa de enraizamento in vitro.

#### MATERIAL E MÉTODOS

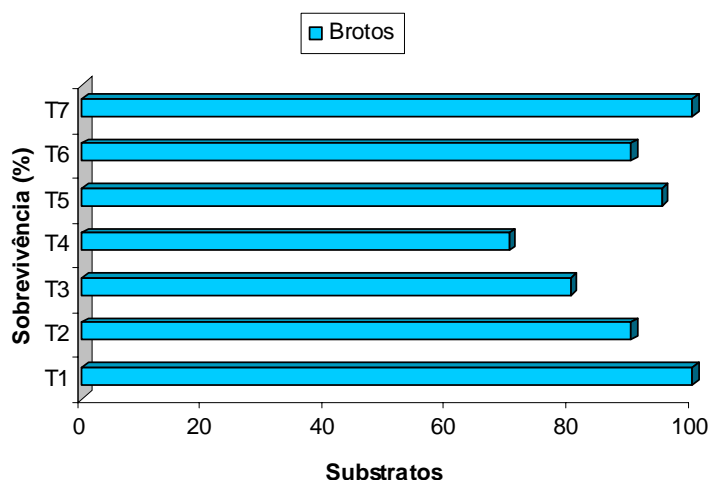
O trabalho foi desenvolvido em estufa sob nebulização da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, em Cruz das Almas, BA. Como explante, utilizou-se brotos de caroá que não apresentavam raízes provenientes do quinto subcultivo do meio de cultura MS com 0,5 µM de ANA (ácido naftalenoacético) + 4,4 µM de BAP (6-benzilaminopurina).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado utilizando-se sete substratos [areia lavada (T1); Ecoterra® (T2); fibra de coco (T3); fibra de coco + Plantmax® (1:2) (T4); Plantmax® (T5); vermiculita (T6); vermiculita + Plantmax® (1:2) (T7)], com 20 repetições por tratamento, sendo que as avaliações foram feitas em três períodos: período 1 (antes da transferência dos explantes para tubetes), período 2 (aos 150 dias de aclimatização) e período 3 (após 210 dias de aclimatização).

Foram avaliados o número de folhas e altura da parte aérea nos três períodos. A taxa de sobrevivência foi avaliada somente no segundo período. O número de raízes e o peso da matéria seca da parte aérea foram avaliados no período 3. Para as variáveis altura da parte aérea e peso da matéria seca da parte aérea, aplicou-se a transformação raiz quadrada a fim de se corrigir desvios na distribuição normal dos mesmos.

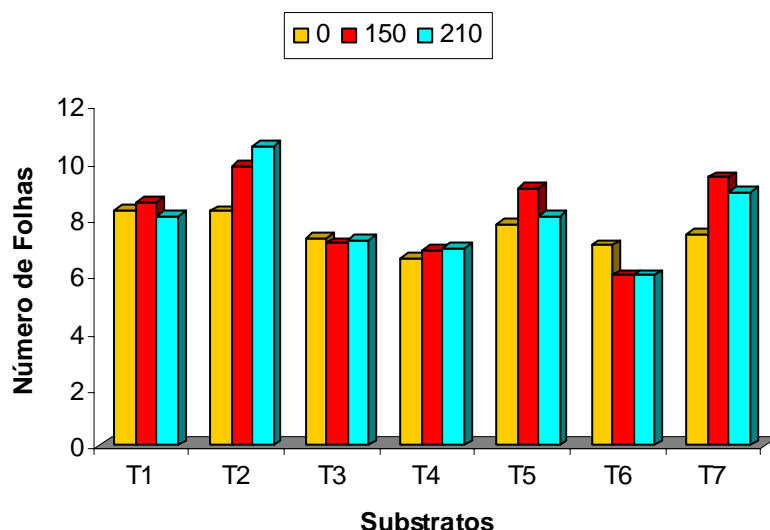
#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência dos brotos ocorreu em todos os substratos utilizados, sendo que as maiores taxas de sobrevivência (95% a 100%) foram nos substratos Plantmax® (T5), vermiculita + Plantmax® (T7) e areia (T1). O substrato composto por fibra de coco e Plantmax® (T4) foi onde se registrou a menor taxa de sobrevivência (70%) (Figura 1), ainda que é considerada uma taxa de sobrevivência razoável. Esses resultados mostram que apesar dos brotos não apresentarem raízes, esse fator parece não ter afetado substancialmente a sobrevivência dos mesmos na fase inicial de aclimatização.



**Figura 1.** Sobrevivência de brotos de caroá [*N. variegata* (Arr. Cam.) Mez.] aos 150 dias de aclimatização em diferentes substratos: areia lavada (T1); Ecoterra® (T2); fibra de coco (T3); fibra de coco + Plantmax® (T4); Plantmax® (T5); vermiculita (T6); vermiculita + Plantmax® (T7).

Observou-se que aos 150 dias de aclimatização houve aumento significativo no número de folhas nos substratos Ecoterra® (T2), Plantmax® (T5) e vermiculita + Plantmax® (T7), enquanto aos 210 dias o melhor substrato foi o Ecoterra® (T2) comparando-se com os demais tratamentos (Figura 2). Esses resultados, obtidos coincidentemente com os substratos comerciais, indicam que a composição química e as características físicas dos mesmos parecem suprir de maneira mais eficiente a demanda nutricional, dos pequenos brotos, garantindo igualmente, bom sistema de sustentação e aeração.



**Figura 2.** Número de folhas de brotos de caroá [*N. variegata* (Arr. Cam.) Mez.] nos três períodos de aclimatização em diferentes substratos: areia lavada (T1); Ecoterra® (T2); fibra de coco (T3); fibra de coco + Plantmax® (T4); Plantmax® (T5); vermiculita (T6); vermiculita + Plantmax® (T7).

Os substratos Ecoterra® (T2), Plantmax® (T5) e vermiculita + Plantmax® (T7) favoreceram o maior crescimento dos brotos, em praticamente todos os períodos de avaliação (Tabela 1). Souza Junior et al. (2001) relatam que a altura da planta é muito importante e até mesmo determinante para a definição do momento do transplante para o campo. É preciso destacar também, que o tamanho e a quantidade de folhas, determinam a área de fotossíntese da planta e conseqüentemente sua capacidade fotossintética, de uma maneira geral.

**Tabela 1.** Médias da altura (cm) da parte aérea de brotos de caroá [*N. variegata* (Arr. Cam.) Mez.] nos três períodos da aclimatização em diferentes substratos.

Substrato	BROTOS		
	Período 1 (0 dia)	Período 2 (150 dias)	Período 3 (210 dias)
T1	1,950 bC	2,745 bB	3,325 bA
T2	2,465 aC	3,955 aB	5,933 aA
T3	1,815 bB	1,775 cB	2,731 cA
T4	1,735 bC	2,207 cB	3,264 bA
T5	1,725 bC	4,300 aB	5,484 aA
T6	1,460 bC	2,789 bB	3,811 bA
T7	2,065 aC	4,010 aB	5,050 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e pela mesma letra maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. T1 = areia lavada, T2 = Ecoterra®, T3 = fibra de coco, T4 = fibra de coco + Plantmax®, T5 = Plantmax®, T6 = vermiculita, T7 = vermiculita + Plantmax®.

Em relação as variáveis que só foram analisadas no terceiro período da avaliação (Tabela 2), a maior média para o número de raízes foi observada nos substratos Plantmax® (T5), vermiculita (T6) e vermiculita + Plantmax® (T7). Já para a variável peso seco da parte aérea os brotos apresentaram maiores médias nos substratos Plantmax® (T5) e vermiculita + Plantmax® (T7), não havendo diferença estatística entre eles.

**Tabela 2.** Médias do número de raiz (NR) e peso da matéria seca da parte aérea (PSPA) de brotos micropropagados de caroá [*N. variegata* (Arr. Cam.) Mez.] multiplicados na presença de ANA (0,5 µM) + BAP (4,4 µM) após 210 dias de aclimatização em diferentes substratos.

Substrato	NR	PSPA (g)
T1	4,100 b	0,114 b
T2	3,900 b	0,371 a
T3	3,000 b	0,059 b
T4	3,000 b	0,079 b
T5	5,400 a	0,229 a
T6	4,700 a	0,119 b
T7	5,800 a	0,274 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. T1 = areia lavada, T2 = Ecoterra<sup>®</sup>, T3 = fibra de coco, T4 = fibra de coco + Plantmax<sup>®</sup>, T5 = Plantmax<sup>®</sup>, T6 = vermiculita, T7 = vermiculita + Plantmax<sup>®</sup>.

## CONCLUSÕES

Nas variáveis analisadas, constatou-se que dos sete substratos utilizados na aclimatização direta das plantas micropropagadas de caroá sem a fase de enraizamento *in vitro* os substratos Ecoterra<sup>®</sup> e Plantmax<sup>®</sup> destacaram-se por terem favorecido o desenvolvimento da parte aérea e das raízes. Além disso, esses resultados deixam evidente a possibilidade de se aclimatizar brotos de caroá sem a necessidade de uma etapa de enraizamento *in vitro*. Apesar dos resultados favoráveis nesse trabalho, há necessidade de mais estudos para otimizar o protocolo de aclimatização de plantas micropropagadas de caroá visando reduzir o período da aclimatização (210 dias), permitindo assim, a obtenção de mudas saudáveis para se estabelecer um sistema de cultivo e produção, a fim de se evitar o extrativismo predatório.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOSA, N.; CALVETE, E. O.; NIENOW, A.A. Suzin, M. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 207-210, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. p.183-260.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N.M.J.; FRÁGUAS, C.B. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'Marubakaido'. **Ciência Agrotecnica**, v.25, n.2, p.462-467, 2001.

SILVEIRA, D. G.; SOUZA, F. V. D.; PELACANI, C.; SANTANA, J. R. F. Multiplicação *in vitro* de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.]. In: Reunião Nordestina de Botânica, 29, 2006, Mossoró. **Resumos...**: Mossoró: Sociedade de Botânica do Brasil, 2006. 1 CD-ROM.

SOUZA JUNIOR, E.E. de; BARBOSA, S.B.S. C.; SOUZA, L.A.C. Efeitos de substratos e recipientes na aclimatização de plântulas de abacaxizeiro [*Ananas comosus* (L.) Merrill] CV. Pérola. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.31, n.2, p.147-151, 2001.

XAVIER, L. P. **O caroá**. 2 ed. Natal: Emparn, 1982. 270 p. (Emparn. Documentos, 7. ESAM. Coleção Mossoroense, 247).

## PALAVRAS-CHAVES

Bromeliaceae, cultura de tecidos, produção de mudas, aclimatização, extração de fibras.



## **Desenvolvimento de seis espécies arbóreas, cultivadas em embalagens de 100 litros de polipropileno branco, durante três anos.**

Silva, Luzia Ferreira da<sup>1</sup>; Machado, Ronan Pereira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda do Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Rua Pádua Dias, nº 11, 13418-900-Piracicaba-SP, fone (19)34294050, e-mail: [lfsilva@esalq.usp.br](mailto:lfsilva@esalq.usp.br), <sup>2</sup> Mestrando do Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Rua Pádua dias, nº 11, 13418-900 Piracicaba-SP, fone (19)34294190 e-mail: [ronan.m@uol.com.br](mailto:ronan.m@uol.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

No Brasil existem diversas regiões produtoras de mudas de espécies arbóreas, e um dos grandes objetivos dos viveiristas é um bom e rápido desenvolvimento das espécies produzidas, pois mais cedo as mudas poderão ser comercializadas. Os estudos no Brasil, que avaliam o desenvolvimento de espécies arbóreas em embalagem e em condições encontradas nos viveiros são poucos. O bom desenvolvimento está diretamente relacionado com a qualidade da muda. Segundo Carneiro (1995), mudas de baixo padrão de qualidade se desenvolvem em ritmo menos acentuado e apresentam menores taxas de incremento em altura anual.

Vários são os fatores que afetam o desenvolvimento de mudas. Os principais estão relacionados com a sementeira, substrato, nutrientes, umidade, temperatura, pragas e doenças.

Com o objetivo de servir de subsídio aos viveiristas e a outros estudos relacionados ao tema, este trabalho analisou o desenvolvimento do diâmetro à altura do peito (DAP) e porte em seis espécies arbóreas plantadas em embalagem de 100 litros de polipropileno branco, no período de três anos.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

As mudas foram desenvolvidas na área de produção do Viveiro Trees, localizado no município de Amparo, no Estado de São Paulo. Localização: S 22°36'09" W 46°50'00", Altitude de 835 metros.

Segundo a empresa Trees Agrocomercial e Serviços Ltda, para a escolha do local do viveiro foram levados em considerações os seguintes aspectos:

1. Disponibilidade física da área;
2. Distância dos principais centros consumidores (São Paulo e Região de Campinas);
3. Suprimento de água;
4. Facilidade de obtenção de mão de obra;
5. Extensão da área;
6. Iluminação solar;
7. Uso anterior da área;
8. Condições ambientais;

O substrato é padrão para todas as mudas e o pH varia próximo a 6,0, dependendo do lote de fabricação. Ele é composto de:

- 40% de terra vermelha (latossolo vermelho escuro);
- 20 % de casca de Pinus;
- 10% de vermiculita;
- 05% de Carvão vegetal;
- 15% de Turfa;
- 10% de Fibra de coco;

As embalagens de coloração branca foram confeccionadas de polipropileno, laminado dos dois lados, e tanto o material como a linha de costura são resistentes a raios UV. A embalagem tem capacidade de volume de 100 litros e suas dimensões aproximadas são de 65 cm de altura e 50-55 cm de diâmetro, com base arredondada. Segundo o

fabricante, Wangara Horticultural Supplies, estas dimensões facilitam a remoção da muda, quando retiradas da embalagem, na hora do plantio, e ainda, a embalagem tem alças que auxiliam no transporte da muda.

Assim como o substrato, a adubação é padronizada devido à diversidade das espécies produzidas no viveiro. Quando as plantas são transplantadas para as embalagens de 100 litros, elas recebem cerca de 60g de 04-14-08, após 30 dias é realizada uma fertirrigação, com a formulação de 19-19-19 + micros na concentração de 30g/litro. Essa adubação se repete mensalmente, sendo suspendida nos meses de inverno. No início da primavera é feito uma adubação complementar com composto orgânico, na quantidade de 2kg / planta.

O sistema de irrigação empregado é o espaguete, com a vazão de 4 litros/hora e é utilizado, quando necessário, por um tempo de 1 hora.

As medições em campo, para avaliação do desenvolvimento, foram realizadas a cada quatro meses, durante três anos, com amostras de 10 plantas, em lotes de 100 plantas/espécie. Foram medidos o DAP (Diâmetro à altura do peito) e o porte (Altura total), com paquímetro e régua graduada de 3 metros, desde fevereiro de 2004 até fevereiro de 2007. Com estas medições foi possível avaliar o crescimento e o melhor desenvolvimento das espécies, nesse sistema de produção de mudas.

Durante a escolha das espécies optou-se por seis, que são freqüentemente produzidas por viveiristas, devido a sua grande demanda no mercado de plantas, tanto para projetos paisagísticos como para arborização urbana. As espécies escolhidas foram: **Aldrago** – *Pterocarpus violaceus* Vogel, **Ipê roxo** – *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standl., **Jangada do campo** – *Cordia superba* Cham., **Oiti** – *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch, **Liquidâmbar** *Liquidambar styraciflua* L. e **Magnólia Amarela** – *Michelia champaca* L.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos três anos de observação do diâmetro à altura do peito, constatou-se que a espécie de Ipê roxo teve crescimento maior, do o início até o fim (Figura 1), enquanto que a jangada do campo, no início mostrou-se baixo crescimento, mas nos últimos meses superou as outras espécies.

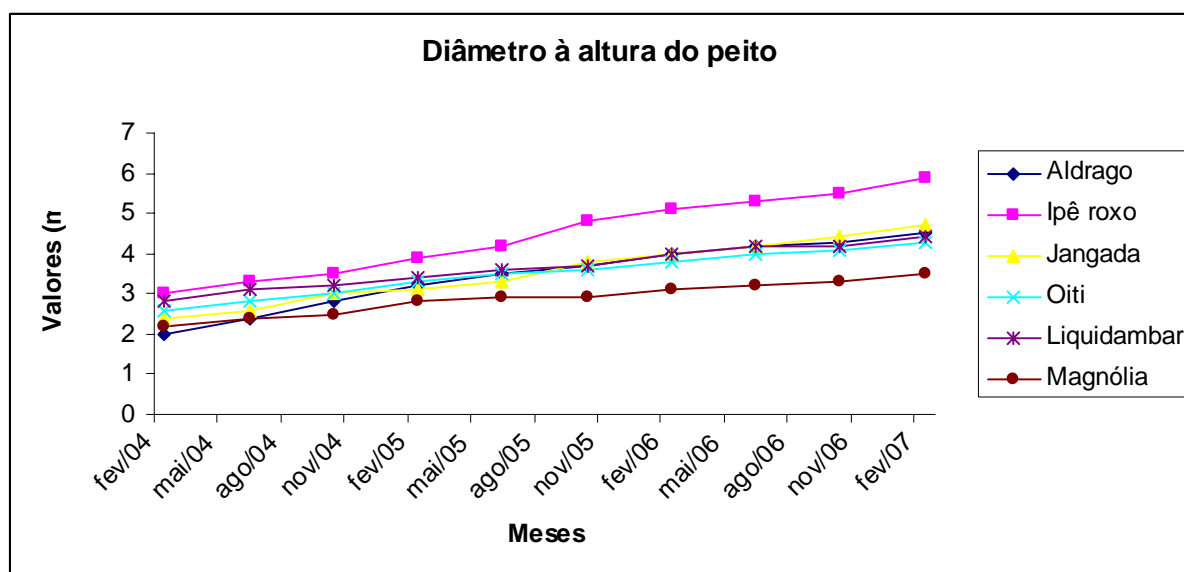


Figura 1 – Valores em metros do DAP nas espécies

Dentre as espécies analisadas na Figura 1, a magnólia obteve menor desenvolvimento do DAP, contudo, na Figura 2, seu porte foi mais desenvolvido do que a jangada do campo.

Como pode ser observado, o desenvolvimento do porte das mudas foi mais acelerado no primeiro ano (Figura 2). De acordo com os resultados obtidos, observa-se que cada espécie possui um ritmo próprio de desenvolvimento e que esse ritmo também está associado ao período do ano.

A espécie de ipê roxo, também apresentou um porte elevado em relação às outras espécies, porém, o aldrago teve um crescimento maior do que a jangada do campo, o que não foi observado no DAP.

Observa-se, também, na Figura 2, que entre os períodos de março a agosto de 2006, o crescimento das espécies é menos evidente, se comparado com os demais períodos.

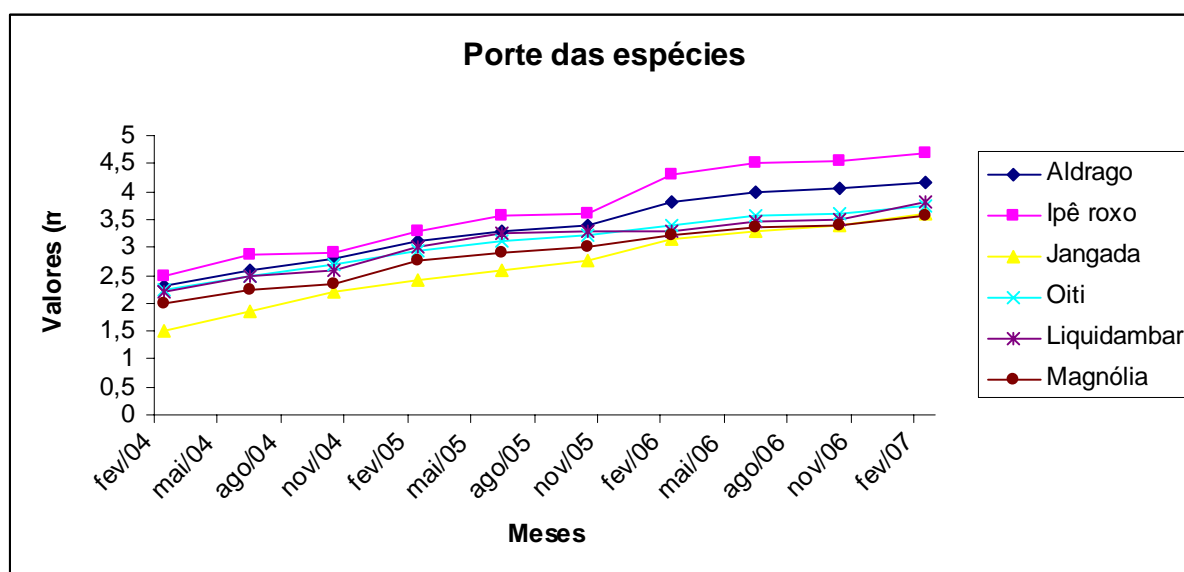


Figura 2 – Valores em metros do porte de cada espécie analisada.

## CONCLUSÃO

Com esse estudo pode-se concluir que cada espécie possui um ritmo próprio de desenvolvimento e esse desenvolvimento está diretamente relacionado com os períodos do ano.

O substrato, a embalagem, a adubação e a irrigação foram satisfatórios para as espécies, pois, apresentaram bom desenvolvimento durante o período de observação.

Conclui-se também, que a espécie Ipê roxo (*Tabebuia impetiginosa*) apresenta um melhor desenvolvimento nessas condições, quando comparada com as demais espécies.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CARNEIRO, J.G.A. **Produção e Controle de Qualidade de Mudas Florestais**. Folha de Viçosa, Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451p.

## PALAVRAS-CHAVES

Embalagens de 100 litros, muda, espécies arbóreas, polipropileno branco

## **Comparações anuais de crescimento entre espécies nativas e exóticas, em condições de viveiros.**

Silva, Luzia Ferreira da<sup>1</sup>; Machado, Ronan Pereira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda do Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Rua Pádua Dias, nº 11, 13418-900-Piracicaba-SP, fone (19)34294050, e-mail: [lfsilva@esalq.usp.br](mailto:lfsilva@esalq.usp.br), <sup>2</sup> Mestrando do Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Rua Pádua dias, nº 11, 13418-900 Piracicaba-SP, fone (19)34294190 e-mail: [ronan.m@uol.com.br](mailto:ronan.m@uol.com.br)

### **INTRODUÇÃO**

O número de espécies arbóreas produzidas pelos viveiristas é elevado. Alguns produzem próximo de 500 espécies, como a Floricultura Campineira de Campinas/SP, que atua no mercado de produção de mudas há quase 100 anos. Outros produzem espécies específicas, visando um mercado mais restrito, como viveiro Bioverde em Limeira/SP, que produz espécies nativas para recuperação de áreas degradadas.

O viveiro Trees, onde o estudo foi desenvolvido, produz mais de 160 espécies entre nativas e exóticas, com porte grande e em embalagens de 100 litros. As árvores são destinadas para arborização, paisagismo e compensação ambiental.

As espécies nativas são aquelas que pertencem à flora do país, podendo ocorrer em todo território ou apenas em determinadas regiões. Elas variam em número, conforme as principais formações vegetais existentes no país.

As espécies exóticas são provenientes de outros países ou de outras localidades dentro de um mesmo país. No Brasil foi introduzida pelos colonizadores portugueses, posteriormente, imigrantes europeus, orientais e personalidades (Roberto Burle Marx, Edmundo Navarro de Andrade).

Na flora arbórea brasileira existem alguns tipos de plantas que variam de acordo com seu comportamento ambiental, que pode ser evidenciado em três distintos grupos: pioneiras, secundárias e clímax. As pioneiras se desenvolvem na fase jovem da mata; as secundárias na fase intermediária da mata e as clímax, mais tardiamente na floresta madura. Ainda, as espécies podem ser divididas em relação ao seu comportamento vegetativo, como as espécies que permanecem com folhas durante todo ano, que é classificada como perenifólia; já as que ficam completamente sem folhagem, em um determinado período do ano (geralmente nos meses de inverno) são as caducifólias (Carvalho, 2003).

Considerando-se que existe uma grande procura por espécies nativas tanto pelos consumidores como pelos viveiristas, este trabalho buscou comparar o crescimento delas em relação às exóticas, durante os três primeiros anos de plantio, nas mesmas condições de viveiro.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

As mudas foram desenvolvidas na área de produção do Viveiro Trees, localizado no município de Amparo, no Estado de São Paulo. Localização: S 22°36'09" W 46°50'00", Altitude de 835 metros.

No experimento, o substrato foi padrão para todas as mudas e possuíam as seguintes composições:

- 40% de terra vermelha (latossolo vermelho escuro);
- 20 % de casca de Pinus;
- 10% de vermiculita;
- 05% de Carvão vegetal;
- 15% de Turfa;
- 10% de Fibra de coco;

As embalagens de coloração branca foram confeccionadas de polipropileno, laminado dos dois lados, e, tanto o material como a linha de costura são resistentes a raios UV. A embalagem tem capacidade de volume de 100 litros e suas dimensões aproximadas

são de 65 cm de altura e 50-55 cm de diâmetro, com base arredondada. Segundo o fabricante, Wangara Horticultural Supplies, estas dimensões facilitam a remoção da muda, quando retiradas da embalagem, na hora do plantio, e ainda, a embalagem tem alças que auxiliam no transporte da muda.

A adubação foi padronizada devido à diversidade das espécies produzidas no viveiro. Quando as plantas são transplantadas para as embalagens de 100 litros, elas recebem cerca de 60g de 04-14-08, após 30 dias foi realizada uma fertirrigação, com a formulação de 19-19-19 + micros na concentração de 30g/litro. Esta adubação repetiu mensalmente e foi suspensa nos meses de inverno. No início da primavera foi realizado uma adubação complementar com composto orgânico na quantidade de 2kg / planta.

O sistema de irrigação empregado foi o espaguete, com a vazão de 4 litros/hora e foi utilizado, quando necessário, por um tempo de 1 hora.

Na escolha das espécies procurou-se levar em conta comportamentos bem específicos e distintos, visando buscar maiores relações referentes ao seu desenvolvimento (Tabela 1).

Para o projeto proposto foram escolhidas seis espécies arbóreas, sendo 4 nativas e 2 exóticas. As espécies nativas foram: **Aldrigo** – *Pterocarpus violaceus* Vogel, **Ipê roxo** – *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standl. , **Jangada do campo** – *Cordia superba* Cham., **Oiti** – *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch e as exóticas foram, **Liquidâmbar** *Liquidambar styraciflua* L. e **Magnólia Amarela** – *Michelia champaca* L.

Tabela 1. Comportamentos específicos das espécies nativas e exóticas

Família	Espécies	Abscisão foliar	Origem	Floração	Porte (m)	Condição
Leguminosae-Papilionoideae	<i>Pterocarpus violaceus</i>	Perenifloia	BA até PR	Primavera e verão	8- 14	Pioneira
Bignoniaceae	<i>Tabebuia impetiginosa</i>	Caducifolia	PI,CE, MG	Mai - ago	30	Secundária
Boraginaceae	<i>Cordia superba</i>	Perenifloia	Sudeste	Primavera e verão	7-10	Pioneira
Chrysobalanaceae	<i>Licania tomentosa</i>	Perenifloia	PE até ES	Jun - ago	8-15	Secundária
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar styraciflua</i>	Caducifolia	América Norte	Primavera e verão	30	-
Magnoliaceae	<i>Michelia champaca</i>	Perenifloia	Himalaia	Primavera	8-10	-

Fonte: Lorenzi (1992); Carvalho (2003)

As medições em campo foram realizadas nos meses de fevereiro, junho e outubro, nos anos de 2004, 2005 e 2006, em lotes de 100 plantas/espécie, onde foram amostradas 10 plantas e medido o porte (Altura total), com régua graduada de 3 metros.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro ano de medições constatou-se que todas as espécies tiveram bom crescimento inicial até junho de 2004 (Figura 1). Todavia, as espécies nativas apresentaram crescimento rápido em relação às exóticas, exceto a jangada do campo.

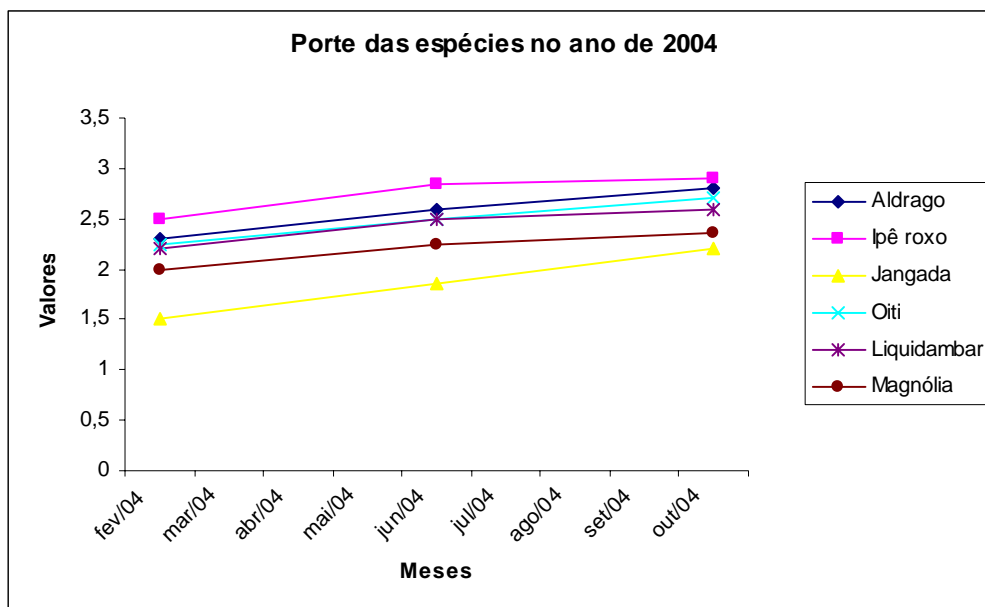


Figura 1. Crescimento das espécies no ano de 2004, considerando os valores em metros e os meses.

Dentre as espécies nativas, o crescimento do oiti é geralmente lento, porém neste experimento a jangada do campo foi a que apresentou este tipo de crescimento nos dois primeiros anos (Figuras 1 e 2).

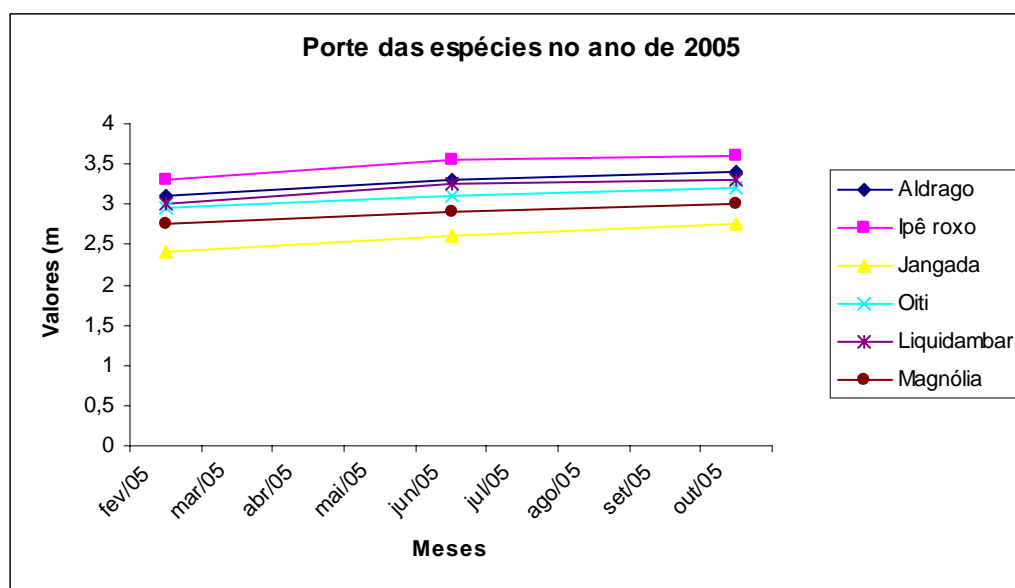


Figura 2. Crescimento das espécies no ano de 2005, considerando os valores em metros e os meses.

Segundo Lorenzi (2003), a magnólia amarela não é indicada para regiões tropicais, motivo pelo qual as espécies nativas tiveram o melhor desenvolvimento em todos os anos, com exceção da jangada do campo.

Na Figura 3, observou-se que o Ipê roxo e aldrago obtiveram maior porte, em relação às outras espécies e a partir ano de 2006, todas mantiveram constante o seu crescimento.

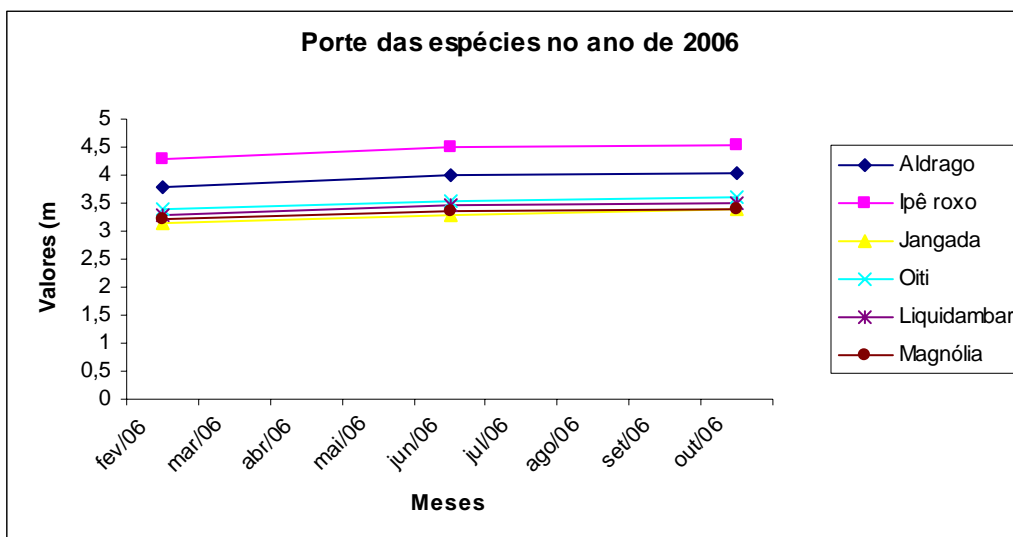


Figura 3. Crescimento das espécies no ano de 2006, considerando os valores em metros e os meses.

## CONCLUSÃO

As espécies nativas apresentaram um maior desenvolvimento de porte quando comparadas com as exóticas, deve-se ao fato de estarem mais adaptadas ao nosso clima e que as espécies exóticas do trabalho são nativas de regiões de clima temperado.

As espécies nativas tiveram um bom desenvolvimento em relação ao porte e as que mais se destacaram foram a *Tabebuia impetiginosa* e *Pterocarpus violaceus*, por estarem mais adaptadas a região onde foi desenvolvido o trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, P.E.R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília: Embrapa informação tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. V.1, p.1039.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo: Plantarum, 1992. 352p.

LORENZI, H. et al. **Plantas exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. 2.ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2003. v .1, 368p.

## PALAVRAS-CHAVE

Viveiro, nativas e exóticas, comportamento anual, mudas

## Desenvolvimento e florescimento de *Merremia* spp. e *Ipomoea* spp. em vasos sob sombreamento artificial.

Santos, Juliana Garcia dos<sup>1</sup>; Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>2</sup>; Beckmann-Cavalcante, Márkilla Zunete<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP), Campus de Jaboticabal, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone: (16) 3209-2668 email: [jugarciaagro01@yahoo.com.br](mailto:jugarciaagro01@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Professora Assistente Doutor da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone: (16) 3209-2668 email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br);

<sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP), Campus de Jaboticabal, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, fone: (16) 3209-2668 email: [zunete@yahoo.com.br](mailto:zunete@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

Espécies de *Ipomoea* e *Merremia* apresentam grande potencial como ornamentais, por apresentarem flores vistosas e intensamente coloridas, principalmente, para utilização como plantas envasadas; ainda, pelo fato de crescerem sobre obstáculos, podem ser utilizadas também para cobrir caramanchões (Azania et al., 2003).

Algumas espécies de *Ipomoea* já são encontradas nos grandes mercados que comercializam flores e plantas ornamentais como *I. quamoclit*, *I. alba*, *I. horsfalliae* e *I. purpúrea*, a maioria comercializada em vaso ou, ainda, em sacos plásticos como planta para paisagismo; o mesmo ainda não foi observado para o gênero *Merremia*.

Lorenzi & Souza (2001) relacionam as espécies *I. alba*, *I. asarifolia*, *I. cairica*, *I. carnea*, *I. chiliantha*, *I. hederifolia*, *I. horsfalliae*, *I. purpúrea* e *Merremia tuberosa* como ornamentais, porém, não há referências na literatura sobre o cultivo dessas plantas.

Os gêneros *Merremia* e *Ipomoea* pertencem à família Convolvulaceae, são nativas da América. A propagação é sexuada, são plantas anuais, herbáceas, trepadeiras e volúveis, com flores de coloração variada, as flores das espécies do gênero *Merremia* são de coloração branco-amareladas, em *I. grandifolia* as flores são róseas, *I. hederifolia* e *I. quamoclit* apresentam flores de coloração vermelha e em *I. nil* as flores são branco-azuladas (figura1) (Lorenzi, 2000; Lorenzi & Souza, 2001).

A luminosidade é um recurso crítico para as plantas e freqüentemente limitam o seu crescimento e a sua produção (PAIVA et al., 2005).

Visando fornecer maiores informações para o cultivo dessas plantas, esse trabalho teve como objetivo verificar o desenvolvimento de *Merremia cissoides*, *M. aegyptia*, *Ipomoea grandifolia*, *I. hederifolia*, *I. nil* e *I. quamoclit* em diferentes condições de sombreamento (pleno sol, 30, 50 e 70%).

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais da UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal, no período de abril a agosto do ano de 2006.

Foram estudadas seis espécies, *Merremia cissoides*, *M. aegyptia*, *Ipomoea grandifolia*, *I. hederifolia*, *I. nil* e *I. quamoclit* (Figura 1) cujas plantas foram obtidas a partir da germinação de sementes obtidas no mercado.

Para cada espécie, estudou-se o efeito de quatro níveis de sombreamento (30, 50 e 70% de sombreamento correspondendo a 3955, 2695 e 2410 graus lux, respectivamente e a pleno sol), com cinco repetições, perfazendo um total de 20 parcelas; cada parcela foi constituída por dois vasos, contendo uma planta em cada vaso. O delineamento experimental foi em blocos casualizados.

As plantas foram cultivadas em vasos pretos 14, contendo Plantmax® como substrato e foram conduzidas em armações de arame galvanizado. Os vasos foram colocados em telados com diferentes níveis de sombreamento constituindo os tratamentos.



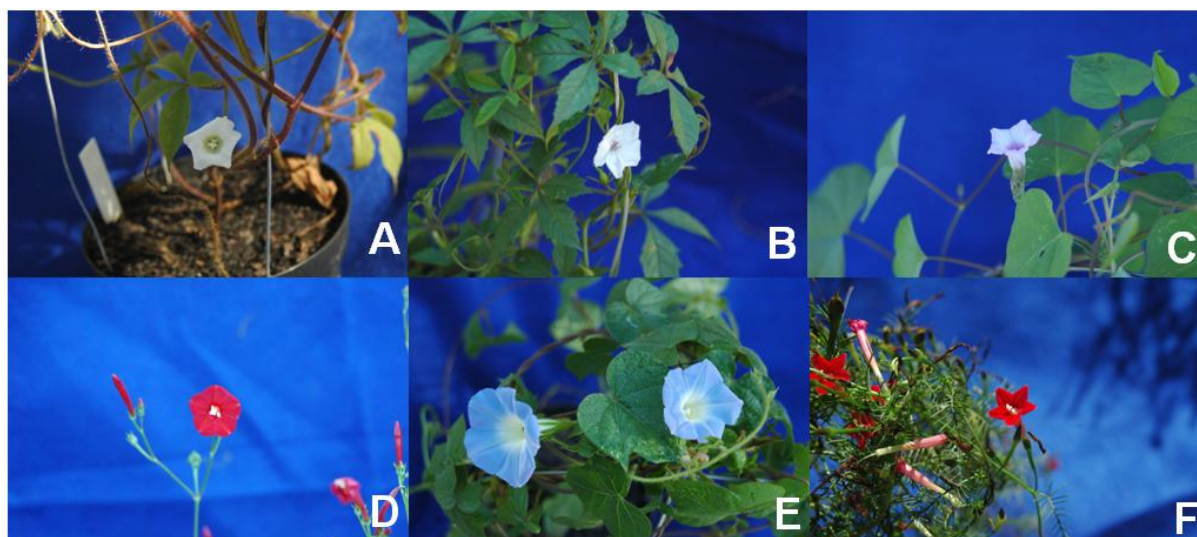


Figura 1. Detalhes das flores: (A) *Merremia cissoides*, (B) *M. aegyptia*, (C) *Ipomoea grandifolia*, (D) *I. hederifolia*, (E) *I. nil* e (F) *I. quamoclit*.

Foram anotados diâmetro e número de flores, número de frutos e aspectos fenológicos das plantas. A análise de variância foi realizada pelo teste F utilizando-se do teste de Tukey para a comparação entre médias. Os dados referentes ao número de flores foram transformados em  $\sqrt{x + \alpha}$  com  $\alpha = 1,0$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ciclo variou entre as espécies, ou seja, 129 dias para *M. cissoides*, que produziu poucos frutos somente na condição de 50% de sombreamento; 129 dias para *M. aegyptia*; 89 dias para *I. grandifolia*; 126 dias para *I. hederifolia*; 119 dias para *I. nil* e 91 dias para *I. quamoclit*.

Observa-se para *Merremia cissoides* (Tabela 1) maior número de flores no ambiente com 50% de sombreamento e maior diâmetro das flores com 30% de sombreamento.

Já para *Merremia aegyptia* (Tabela 1) os maiores diâmetros e números de flores foram constatados em 50% de sombreamento.

Para *Ipomoea grandifolia* (Tabela 2) em 30% e 50% foram verificados os maiores números de flores, e para diâmetro de flores em todos os tratamentos, exceto em 70%.

O número e o diâmetro de flores foram maiores em 50% de sombreamento para *Ipomoea hederifolia* (Tabela 2).

Também para *Ipomoea nil* (Tabela 3) os maiores valores foram verificados em 50% de sombreamento.

Já para *Ipomoea quamoclit* (Tabela 3) foram observados os maiores números de flores em 30 e 50%, e os maiores diâmetros de flores foram constatados em 30% de sombreamento, não diferindo estatisticamente de 50%.

## CONCLUSÕES

Embora o sombreamento tenha influenciado no número de flores e frutos e no diâmetro das flores de forma distinta para as espécies, a condição de 50% de sombreamento foi a que proporcionou resultados mais satisfatórios para todas as espécies.

Tabela 1. Quadrados médios e médias de número e diâmetro de flores de *Merremia cissoides* e de *Merremia aegyptia*, cultivadas em vasos, em diferentes condições de sombreamento, no município de Jaboticabal no ano de 2006.

Causas da variação	GL	<i>Merremia cissoides</i>		<i>Merremia aegyptia</i>	
		Número de Flores <sup>1</sup>	Diâmetro de flores (cm)	Número de Flores <sup>1</sup>	Diâmetro de flores (cm)
Sombreamento	4	0,3346**	0,2712**	1,2730**	1,0519**
Blocos	3	0,0033 <sup>NS</sup>	0,0012 <sup>NS</sup>	0,0083 <sup>NS</sup>	0,0020 <sup>NS</sup>
Resíduo	12	0,0062	0,0018	0,0094	0,006
CV (%)		4,94	2,30	5,22	1,32
tratamentos		Médias dos tratamentos			
Pleno sol		1,4314b	1,7940c	1,3777c	1,4760d
30%		1,4303b	2,1200a	1,6556b	2,0700b
50%		1,9730a	1,9020b	2,5588a	2,4820a
70%		1,5315b	1,5600d	1,8259b	1,6100c

<sup>NS</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Médias, na mesma coluna, acompanhadas da mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade. <sup>1</sup>Dados transformados por  $\sqrt{x + \alpha}$  com  $\alpha = 1,0$

Tabela 2. Quadrados médios e médias de número e diâmetro de flores de *Ipomoea grandifolia*, e de *Ipomoea. hederifolia.*, cultivadas em vasos, em diferentes condições de sombreamento, no município de Jaboticabal no ano de 2006.

Causas da variação	GL	<i>Ipomoea grandifolia,</i>		<i>Ipomoea. hederifolia</i>	
		Número de Flores <sup>1</sup>	Diâmetro de flores (cm)	Número de Flores <sup>1</sup>	Diâmetro de flores (cm)
Sombreamento	4	1,0174**	0,7402**	1,4230**	0,1433**
Blocos	3	0,0201 <sup>NS</sup>	0,0004 <sup>NS</sup>	0,0445 <sup>NS</sup>	0,0008 <sup>NS</sup>
Resíduo	12	0,0078	0,0003	0,0044	0,0004
CV (%)		2,55	0,90	1,84	0,92
tratamentos		Médias dos tratamentos			
Pleno sol		3,3825b	2,1100a	3,7008b	1,8480d
30%		3,8011a	2,0980a	3,7394b	2,1080b
50%		3,8333a	2,1200a	4,0737a	2,2520a
70%		2,8690c	1,3400b	2,8249c	2,0160c

<sup>NS</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Médias, na mesma coluna, acompanhadas da mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade. <sup>1</sup>Dados transformados por  $\sqrt{x + \alpha}$  com  $\alpha = 1,0$

Tabela 3. Quadrados médios e médias de número e diâmetro de flores de *Ipomoea. nil* e de *Ipomoea. quamoclit.*, cultivadas em vasos, em diferentes condições de sombreamento, no município de Jaboticabal no ano de 2006.

Causas da variação	GL	<i>Ipomoea. nil</i>		<i>Ipomoea. quamoclit</i>	
		Número de Flores <sup>1</sup>	Diâmetro de flores (cm)	Número de Flores <sup>1</sup>	Diâmetro de flores (cm)
Sombreamento	4	0,9117**	2,8719**	0,1845**	0,0129**
Blocos	3	0,0051 <sup>NS</sup>	0,0007 <sup>NS</sup>	0,0201*	0,0022 <sup>NS</sup>
Resíduo	12	0,131	0,0003	0,0043	0,0010
CV (%)		4,28	0,48	3,32	1,60
tratamentos		Médias dos tratamentos			
Pleno sol		2,2212c	3,9700b	1,9484b	1,9560bc
30%		2,7006b	3,1660c	2,1559a	2,0180a
50%		3,2397a	4,4960a	2,0715a	2,0040ab
70%		2,5281b	2,8280d	1,7143c	1,9060c

<sup>NS</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Médias, na mesma coluna, acompanhadas da mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade. <sup>1</sup>Dados transformados por  $\sqrt{x + \alpha}$  com  $\alpha = 1,0$

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZANIA, A.A.P.M.; AZANIA, C.A.M.; PAVANI, M.C.M.D.; CUNHA, M. C. S. Métodos de superação de dormência em sementes de *Ipomoea* e *Merremia*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v.21, n.2, p.203-209, 2003.

LORENZI, H. J. **Plantas daninhas do Brasil**. 3. ed. São Paulo: Inst. Plantarum, 2000, 608p.

LORENZI, H. J; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**. 3. ed. São Paulo: Inst. Plantarum, 2001. 1088p.

PAIVA, R.; OLIVEIRA, M.L.; NOGUEIRA, C.R.; MARTINOTTO, C.; PAIVA, O.D.P.; MENEGUCCI, P.L.J. Aspectos fisiológicos da produção de flores e de plantas ornamentais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.227, 102p. 2005.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Ipomoea*, *Merremia*, sombreamento.

## **Efeito da pulverização com ácido giberélico nas características das hastes florais de roseira “Hebe Camargo”.**

Matiello, Hediberto Nei<sup>1</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>2</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Barros, Aline Ferreira<sup>3</sup>; Mesquita, Eliane Rezende<sup>4</sup>; Matiello, Cirlei Pereira Guss<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa-MG, Av. PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP:36570-000, Viçosa-MG, fone:(31)3892-3081, e-mail: [neimatiello@yahoo.com.br](mailto:neimatiello@yahoo.com.br),  
<sup>2</sup>Professor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da UFV, e-mails: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br),  
[jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br),  
<sup>3</sup>Estudante especial do curso de Fitotecnia da UFV;  
<sup>4</sup> Estudante do curso de Agronomia da UFV;  
<sup>5</sup>Mestranda em Biologia Celular e Estrutural da UFV.

O comprimento de haste figura como principal característica comercial seguido pelo tamanho, forma e cor do botão floral e folhagem da roseira. Giberelinas são utilizadas em diferentes formas de aplicação, sendo a mais comum a pulverização. Este trabalho objetivou avaliar o efeito da pulverização de giberelina comercial sobre as características de hastes de roseira. Mudanças de raiz nua da cultivar Hebe Camargo, produzidas via enxertia foram cultivadas em vasos de 10 l em substrato comercial Bioplant. Após cinco meses as plantas foram podadas, deixando-se um único ramo produtivo. Desbrotas periódicas foram feitas para manutenção de um único broto apical que, ao atingir 15 cm, foram pulverizados até o escoamento por duas vezes em um intervalo de sete dias com solução contendo giberelina comercial (Progibb, 10% de ácido giberélico) nas concentrações de 0, 50, 100 e 200 ppm. Foram avaliados o número de dias até a colheita, comprimento e diâmetro da haste, pedúnculo e botão, peso da matéria fresca e seca total da haste e suas partes. O delineamento foi de blocos casualizados com três repetições. A análise de variância foi significativa para o efeito das doses sobre o comprimento do pedúnculo, tendo resposta quadrática à dose de ácido giberélico. O estágio de desenvolvimento das hastes e o número de pulverizações devem ser estudados para melhor aproveitamento dos efeitos do regulador de crescimento.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Rosa* sp., giberelina; pulverização; haste floral.

## **Germinação de *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn. (Melastomataceae) em função da temperatura e do substrato.**

Fava, Carmen Lúcia Ferreira<sup>1</sup>; Albuquerque, Maria Cristina de Figueiredo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical (UFMT), Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, email: [clfava@superig.com.br](mailto:clfava@superig.com.br); <sup>2</sup>Professora Deptº de Fitotecnia e Fitossanidade, FAMEV/UFMT, Av. Fernando Correa s/nº, Coxipó, CEP 78060-900, Cuiabá, Mato Grosso, fone (65) 3615 8604, email: [mcfa@ufmt.br](mailto:mcfa@ufmt.br).

### **INTRODUÇÃO**

As espécies nativas têm potencial ornamental devido à arquitetura vegetativa e quanto às belas flores. Dentre elas, a *Tibouchina stenocarpa*, conhecida como quaresmeira-do-cerrado, é uma espécie nativa dos cerrados de altitude do Brasil, apresenta altura variável de 1 a 3 metros e florescimento notável no verão e outono. É uma planta ornamental, com flores arroxeadas, fruto do tipo cápsula e com grande quantidade de sementes (Lorenzi, 2001).

A redução no uso de espécies exóticas, ou sua substituição por espécies nativas com potencial ornamental, é a grande tendência no paisagismo moderno (Heiden, 2006).

Para uso dessas espécies, é essencial estudos sobre a propagação. Para propagação por sementes, o conhecimento da fisiologia da germinação é indispensável, pois vários fatores podem interferir na germinação de sementes, como temperatura, disponibilidade de água, teor de oxigênio, luminosidade e dormência, sendo a temperatura um dos principais fatores que determinam a velocidade da germinação, porque controla a velocidade das reações metabólicas (Paiva et al., 2005).

O teste de germinação é usado para avaliar a viabilidade das sementes, e é um procedimento analítico que avalia a germinação sob condições favoráveis e padronizadas (Copeland e McDonald, 1995); tem como objetivo principal o fornecimento de informações sobre a qualidade de sementes, que podem ser usadas na seleção de lotes para armazenamento, comercialização e semeadura (Brasil, 1992).

Dentre os fatores que afetam o processo germinativo, a temperatura exerce influência significativa. Sabe-se que a temperatura afeta a percentagem, velocidade e uniformidade de germinação e está relacionada com os processos bioquímicos. O período de germinação pode mudar completamente em resposta à temperatura, devido à complexidade do processo germinativo (Copeland e McDonald, 1995).

Para escolha do substrato para a condução do teste de germinação, deve ser considerado o tamanho da semente, a sua exigência com relação à umidade, a influência da luz e a facilidade que o substrato oferece para a realização das contagens e avaliações das plântulas (Brasil, 1992).

Existe carência de dados quanto à oferta e procura de plantas ornamentais nativas, mas é possível afirmar que a demanda existente para utilização em projetos paisagísticos não vem sendo atendida pelo setor produtivo, inviabilizando, em parte, o fortalecimento da proposta de um paisagismo ecológico ou regionalizado (Heiden, et al., 2006).

As pesquisas relacionadas com germinação de espécies nativas com potencial ornamental são escassas. O presente trabalho teve o objetivo de fornecer informações referentes à germinação das sementes de *Tibouchina stenocarpa*, visando principalmente a sua utilização como planta de grande potencial ornamental.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso. A obtenção de sementes para os testes de germinação foi a partir dos frutos de *Tibouchina stenocarpa* (Figura 1), colhidos de vários indivíduos na região da Serra de São Vicente, rodovia Cuiabá-Campo Verde, em 21 de outubro de 2006.

Após a coleta, os frutos foram encaminhados ao Laboratório para limpeza e armazenamento em câmara refrigerada até o momento da realização dos experimentos. Após 12

dias da colheita, foram iniciados os testes de germinação em diferentes temperaturas e substratos.

As temperaturas testadas foram de 10°C a 40°C, com intervalos de 5°C, em câmaras de germinação tipo B.O.D., previamente reguladas, com fotoperíodo de 12 horas. A semeadura ocorreu em substrato sobre papel (SP). O monitoramento dos experimentos foi diário (até aos 30 dias) e foram consideradas como germinadas as sementes que apresentavam a emissão de raiz primária e a abertura da plúmula.

Os substratos testados foram: terra coletada no local de origem das plantas (TL), areia (A), papel (sobre papel – SP e entre papel - EP). Para o modo SP utilizaram-se duas folhas de papel mata borrão e para o EP foram duas folhas por baixo e uma por cima das sementes, ambos umedecidos com solução de “água destilada + Nistatina a 2%” até a saturação. Após a saturação, o excesso de solução foi eliminado por escoamento.

Nos dois experimentos foram usadas quatro repetições com 0,01 gramas de sementes. Os recipientes utilizados nos testes de germinação foram caixas de plástico transparente (gerbox) e, em função do tamanho as sementes, durante o período de germinação, as avaliações foram feitas com o auxílio de lupa.

As variáveis avaliadas foram número de sementes germinadas por grama e índice de velocidade de germinação. A velocidade foi calculada segundo Maguire (1962). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, e os dados foram submetidos a análise de variância e teste de médias (Tukey a 5% de probabilidade).



Figura 1. Aspecto da planta (A) e da flor (B) de *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios do número de sementes germinadas por grama e índice de velocidade de germinação de sementes de *T. stenocarpa*, considerando diferentes substratos e temperaturas. O número de sementes germinadas e o índice de velocidade de germinação foram superiores no substrato areia.

Verificou-se germinação somente nas temperaturas de 20, 25 e 30°C (Tabela 1), com a melhor germinação obtida a 25°C. Não houve germinação nas temperaturas inferiores a 15°C e nem superiores a 35°C. A temperatura mínima está, provavelmente, entre 15°C e 20°C e a máxima entre 30 e 35°C. O índice de velocidade de germinação não diferiu entre as temperaturas de 20 e 30°C. Ao contrário do ocorrido com essa espécie, Simão (2005) verificou, com sementes do mesmo gênero (*T. mutabilis*), que a germinação ocorre em uma faixa ampla de temperatura, embora as melhores porcentagens de germinação tenham ocorrido na faixa de 25 a 30°C.

Estudos com espécies da família Melastomataceae apresentam um grande número de sementes inviáveis nos lotes amostrados (Simão, 2005). Zaia e Takaki (1998) estudando a



germinação de sementes de *Tibouchina pulchra* e *T. granulosa* observaram que cerca de 70 a 80% das sementes analisadas não apresentavam o embrião desenvolvido.

Tabela 1. Valores médios do número de sementes germinadas (em 0,01g) e o índice de velocidade de germinação de sementes *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn. em diferentes substratos e temperaturas.

	Tratamentos	Nº de sementes germinadas	Índice de velocidade de germinação
Substratos	Areia	96,0 a	13,02 a
	Solo	67,0 b	8,72 b
	Sobre papel	44,0 bc	6,25 bc
	Entre papel	25,0 c	3,62 c
Temperaturas (°C)	10	0 d	0 c
	15	0 d	0 c
	20	9,25 c	0,99 b
	25	32,0 a	2,33 a
	30	16,5 b	1,25 b
	35	0 d	0 c
	40	0 d	0 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

#### CONCLUSÃO

O substrato areia é mais adequado para germinação de sementes de *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn.

A germinação ocorre nas temperaturas de 20, 25 e 30°C sendo melhor a 25°C.

#### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Vegetal, 1992. 365p.

COPELAND, L. O. e MCDONALD, M. B. **Seed science and technology**. New Jersey: Chapman & Hall, 409 p. 1995.

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. Considerações sobre o uso de plantas ornamentais nativas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas: v. 12, n.1, p. 2-7, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil – arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2001. 119 p.

PAIVA, R. et al.. Aspectos fisiológicos da produção de flores e plantas ornamentais. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p.12 – 18. 2005.

SIMÃO, E. **Estudo da germinação de sementes de *Tibouchina mutabilis* (Vell.) ccgn. (Melastomataceae)**. 2005. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, SP.

ZAIA, J. E.; TAKAKI, M. Estudo da germinação de sementes de espécies arbóreas pioneiras: *Tibouchina pulchra* Cogn. e *Tibouchina granulosa* Cogn. (Melastomataceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.12, n. 3, p. 221-229, 1998.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2 n. 2, p.176-177, 1962.

**PALAVRAS-CHAVES**

Melastomataceae; quaresmeira-do-cerrrado; plantas ornamentais; germinação.



# Influência da temperatura e do substrato na germinação de *Melocactus Bahiensis*

## (Cactaceae)

Lone, Alessandro Borini<sup>1</sup>; Yamamoto, Lilian Yukari<sup>2</sup>; Unemoto, Lilian Keiko<sup>3</sup>; Assis, Adriane Marinho<sup>3</sup>; Takahashi, Lucia Sadayo Assari<sup>4</sup>; Faria, Ricardo Tadeu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Graduação em Biologia, Bolsista CNPq (UEL-PR), email: [alone\\_bio@yahoo.com.br](mailto:alone_bio@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Estudante de Graduação em Agronomia (UEL-PR); <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UEL-PR); <sup>4</sup>Professor (a) Adjunto (a) do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL- PR), Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, Paraná. (43) 3371-4784, e-mail: [sadayo@uel.br](mailto:sadayo@uel.br)

## INTRODUÇÃO

As cactáceas são a base da cadeia alimentar de alguns ecossistemas e ajudam na formação de ambientes sobre rochas nuas, permitindo o estabelecimento de outras plantas. Para o homem, a utilidade mais popular e, conseqüentemente com maior atrativo econômico, são seus atributos ornamentais (Paula & Ribeiro, 2004).

O gênero *Melocactus* ocorre no Brasil, desde o norte de Minas Gerais até o Nordeste e em alguns países da América Central e Caribe. Esses cactos são globosos, com espinhos duros e longos. Na fase adulta desenvolve uma estrutura discóide em seu ápice denominada cefálio, uma estrutura de floração com espinhos modificados que muitas vezes apresenta coloração avermelhada (Paula & Ribeiro, 2004).

Enfocando a germinação como resultado de uma série de reações bioquímicas, observa-se a existência de estreita dependência da temperatura. Como em qualquer reação química, existe uma temperatura ótima na qual o processo se realiza mais rápida e eficientemente, variável entre as diferentes espécies (Bewley & Black, 1982).

Os substratos utilizados nos testes de germinação também apresentam grande influência na germinação, pois fatores como aeração, estrutura, capacidade de retenção de água, grau de infestação por patógenos, entre outros, podem variar de um substrato para outro, favorecendo ou prejudicando a germinação das sementes (Popnigis, 1985).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da temperatura e substrato na germinação de sementes de *Melocactus bahiensis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas para o experimento sementes de *Melocactus bahiensis* (Britton & Rose) Luetzelb. 1923 provenientes de exemplares localizados no jardim de xerófilas do Laboratório de Fitotecnia da Universidade Estadual de Londrina.

O trabalho foi realizado no período de outubro de 2005 a janeiro de 2006 as sementes foram retiradas dos frutos, lavadas em água corrente e secas à sombra por um período de 24 horas para posterior armazenamento em câmara fria (6°C a 9°C e 75% U.R.) até a instalação do experimento que ocorreu em fevereiro de 2006.

Cada tratamento consistiu de quatro repetições de 50 sementes, semeadas em caixas plásticas (gerbox) tendo como substrato areia de granulção média ou papel de filtro. As caixas plásticas foram mantidas em germinadores em temperaturas constantes de 20°, 25° e 30° C e alternada de 20 - 30° C e fotoperíodo de 12 horas. O papel de filtro foi umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel e a areia a 60% da capacidade de retenção (Brasil, 1992).

A avaliação do teste de germinação foi feita diariamente e considerada germinadas as sementes que apresentaram emissão de raiz, e parte aérea com tamanho superior a dois milímetros. A altura das plântulas foi medida dois dias após a germinação de cada plântula. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizado de acordo com Vieira & Carvalho (1994).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. Os dados de germinação foram transformados em  $\arcsin(x/100)^{0,5}$  e as

médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (Gomes, 1982). A velocidade de germinação foi analisada por fatorial 2 x 4 e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem de germinação variou em função da temperatura. Os melhores resultados foram observados a 25° C tanto para o substrato areia quanto para o papel. Para a temperatura alternada 20° - 30° C não houve germinação nos dois substratos avaliados (Tabela 1). Amaral & Paulilo (1992) verificaram que as temperaturas alternadas de 20 - 25° e 25 - 35° C inibiram a germinação de sementes de *Miconia ciannamomifolia*. A temperatura de 20° C foi a que apresentou a menor germinação. Nas temperaturas de 20 e 30° C a germinação foi menor em relação à 25° C, e entre as duas não houve diferença estatística apesar de a 20° C ser menor que a 30° C (Tabela 1) como observado por Nobel (1988). De acordo com esse autor a temperatura ótima para germinação de sementes de cactos é freqüentemente em torno de 25° C. No entanto Arias & Lemus (1984) verificaram que sementes de *Melocactus caesius* Went. (*Cactaceae*) apresentaram uma maior amplitude e germinaram entre 22° C e 43° C.

TABELA 1 - Valores médios do índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação e altura média da planta (mm) dois dias após a germinação de *Melocactus bahiensis* submetidas a diferentes temperaturas em dois tipos de substratos.

Tratamentos	Altura <sup>1</sup>	IVG <sup>1</sup>	Porcentagem de <sup>2</sup> Germinação
Areia 30° C	5,81 a	1,17 b	13,0 b
Areia 25° C	5,26 a	3,56 a	45,5 a
Areia 20° C	5,08 a	0,47 b	17,5 b
Areia 20°- 30° C	-	-	0,0 c
Papel 30° C	3,87 b	1,05 b	14,5 b
Papel 25° C	3,81 b	3,58 a	48,0 a
Papel 20° C	2,87 c	0,71 b	21,5 b
Papel 20°- 30° C	-	-	0,0 c
CV (%)	9,23	22,46	14,75

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Somente para efeito de análise estatística que os dados foram transformados em  $\text{arc sen}(x/100)^{0,5}$ . Os valores presentes na tabela não são transformados.

Os resultados para altura da plântula mostraram que não houve variação em função da temperatura para o substrato areia, sendo as médias superiores ao substrato papel, onde foi observado uma menor altura média das plântulas na temperatura de 20° C (Tabela1).

O substrato areia pode fornecer condições para um melhor enraizamento ao propiciar melhor aeração. Se houver um sistema radicular melhor formado a planta apresentar-se-á mais desenvolvida (Srisikandarajav & Mullis, 1981; Simmonds, 1983; Houtchinson, 1984; Caldas et al., 1990; Pasqual et al., 2000).

Para o índice de velocidade de germinação (IVG) os melhores resultados foram observados na temperatura de 25° C para os dois substratos testados. Os menores valores foram observados para as temperaturas de 30° C e 20° C independente do substrato utilizado. Segundo Bewley & Black (1994) e Carvalho & Nakagawa (2000) a germinação será tanto mais rápida e o processo mais eficiente, quanto maior for a temperatura, até certo limite.

A germinação iniciou no quinto dia para as temperaturas de 25° e 30° C e no décimo quarto dia para a temperatura de 20° C. Os polígonos de freqüência de germinação para as temperaturas de 20° e 25° C apresentaram um pico de germinação, caracterizando

germinação mais homogênea. A temperatura de 30° C resultou em gráfico polimodal, caracterizando germinação heterogênea (Figura 1).

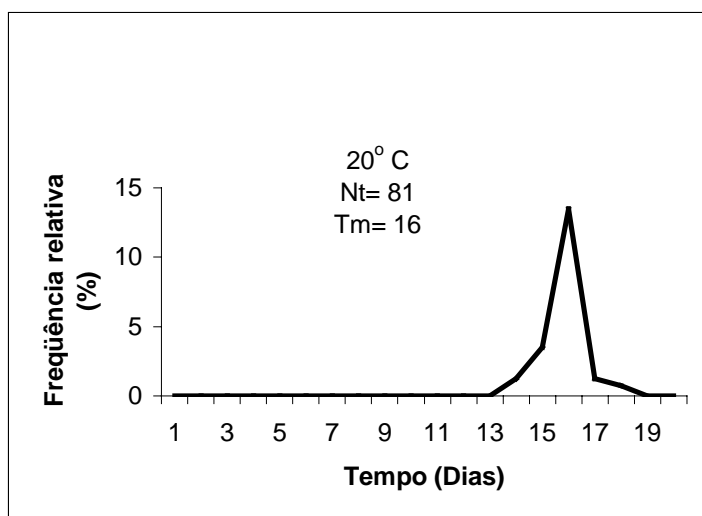
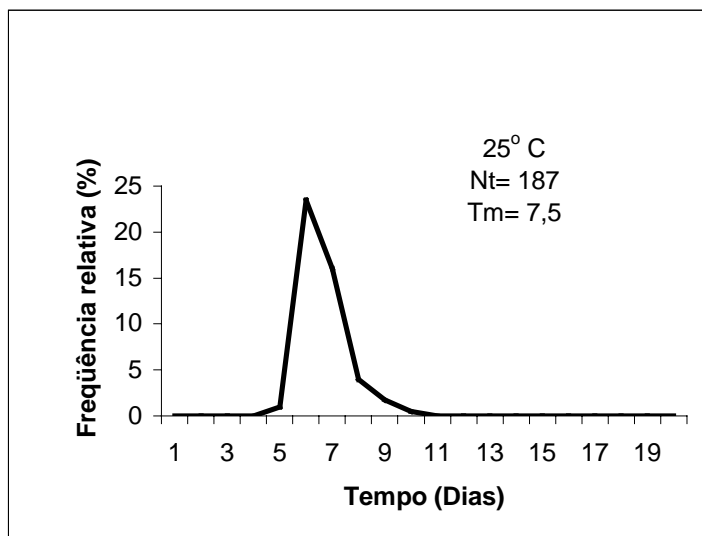
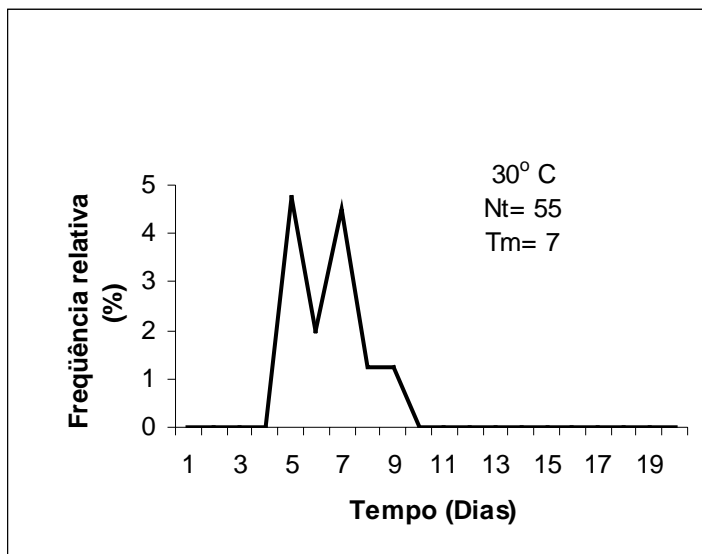


FIGURA 1 - Polígonos de frequência relativa diária da germinação de *Melocactus bahiensis* submetido a diferentes temperaturas (Nt= número total de sementes germinadas em papel e areia; Tm= tempo médio de germinação).

## CONCLUSÕES

A maior porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de *Melocactus bahiensis* foram a 25° C não havendo diferença entre os substratos testados.

Para altura da plântula, os resultados mostraram que não houve variação em função da temperatura para o substrato areia, sendo as médias superiores ao substrato papel.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L.I.V.; PAULILO, M.T.S. Efeito da luz, temperatura, regulador de crescimento e nitrato de potássio na germinação de *Miconia ciannamomifolia* (DC). *Insula*, Florianópolis, n.21, p.59-86, 1992.

ARIAS, I.; LEMUS, L. Interaction of light, temperature and plant hormones in the germination of seeds of *Melocactus caesius* (Cactaceae). *Acta Científica Venezolana* 35:151–155. 1984.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination*. New York. Springer-Verlag, v.2, 1982. 375p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Ed.) *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCPT; EMBRAPA, CNPH, 1990. p.340-345.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

GOMES, F. P. *Curso de estatística experimental*. ESALQ/USP, Piracicaba. 1982.

PASQUAL, M.; SILVA, A.B.; MACIEL, A.L.R.; PEREIRA, A.B.; ALVES, J.M.C.A. Enraizamento *in vitro* de um porta-enxerto de macieira em diversos substratos. *Scientia Agrícola*, v.57, n.4, p.781-784, 2000.

PAULA, C.C.; RIBEIRO, O.B.C. *Cultivo prático de cactáceas*. Viçosa, MG: UFV, 2004. 94 p.

POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 1985. 285p.

SIMMONDS, J. Direct rooting of micropropagated M26 apple rootstocks. *Scientia Horticulturae*, v.21, p.233-241, 1983.

SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M.G. Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, v.56, p.71-76, 1981.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. *Teste de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

## Substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno na aclimatização de *Cattleya* (Orchidaceae)

Lone, Alessandro Borini<sup>1</sup>; Yamamoto, Lilian Yukari<sup>2</sup>; Unemoto, Lilian Keiko<sup>3</sup>; Barbosa, Cristiane Muniz<sup>4</sup>; Takahashi, Lucia Sadayo Assari<sup>5</sup>; Faria, Ricardo Tadeu<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Graduação em Biologia, Bolsista CNPq (UEL-PR), email: [alone\\_bio@yahoo.com.br](mailto:alone_bio@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Estudante de Graduação em Agronomia (UEL-PR); <sup>3</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UEL-PR); <sup>4</sup>Estudante de Graduação em Biologia (UEL-PR); <sup>5</sup>Professor (a) Adjunto (a) do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL- PR), Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, Paraná. (43) 3371-4770, e-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br).

### INTRODUÇÃO

O xaxim desfibrado, assim como o esfagno, são os substratos mais utilizados pelos orquidófilos e produtores brasileiros para aclimatização de orquídeas. O xaxim é obtido mediante o desfibramento do caule da samambaiçu (*Dicksonia sellowiana* Hook), a qual leva de 15 a 18 anos para atingir o estágio ideal para a extração (Lorenzi e Souza, 2001). Em vista do constante extrativismo, cada vez mais as autoridades ambientais brasileiras estão adotando medidas para inibir a utilização dos derivados de xaxim, uma vez que essa planta está na lista das espécies vegetais ameaçadas de extinção (Silva, 1986; Kämpf, 2000; Lorenzi e Souza, 2001; Souza, 2003).

De acordo com Cooke (1999) e Rodrigues (2001), a diversidade de substratos é muito grande, mas seu sucesso depende da espécie e do tipo de ambiente onde se pretende cultivá-la. Em estufas, em que a umidade e a temperatura são controladas, o substrato não influencia tanto o desenvolvimento das plantas, porém, em ripados ou telados, nos quais não se tem o controle sobre esses fatores, o crescimento da planta depende muito do tipo de substrato utilizado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno no desenvolvimento de plântulas de *Cattleya intermedia* Graham ex Hooker durante a etapa de aclimatização.

### MATERIAL E MÉTODOS

As mudas, após seis meses da sementeira *in vitro*, e com comprimento de parte aérea de  $3,2 \pm 3$  cm, foram retiradas dos frascos e lavadas em água corrente, eliminando todo o meio de cultura aderido às raízes e cultivadas em sistema coletivo com oito mudas por bandeja. Foram utilizadas bandejas de isopor com 21,5cm de comprimento, 14,5cm de largura, 3,5cm de altura e com oito furos no fundo. Os substratos avaliados foram: xaxim desfibrado (T1); esfagno (T2); casca de arroz carbonizada (T3); casca de pínus + fibra de coco (1:1 v/v) (T4); casca de pínus (T5); fibra de coco (T6).

Após o plantio, as mudas foram mantidas em casa de vegetação com tela de polipropileno de coloração preta, com retenção de 70% do fluxo de radiação solar e cobertura plástica. As regas foram realizadas manualmente e diariamente. As mudas receberam aplicações quinzenais do adubo N-P-K (10:10:10) na concentração de 2 g.L<sup>-1</sup> sendo aplicado 50 mL dessa solução por bandeja.

Foram avaliados, 10 meses após o plantio nas bandejas os seguintes parâmetros: comprimento de parte aérea; comprimento da maior raiz; número de pseudobulbos; massa fresca total; potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica do substrato.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados, compostos por seis tratamentos com cinco repetições e oito plântulas por parcela. Foi realizada análise de variância e a comparação das médias com o teste estatístico de Tukey (Gomes, 1982), com intervalo de confiança de 5%.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de dados relativos ao comprimento da parte aérea demonstrou semelhança entre os tratamentos T1 (xaxim), T2 (esfagno), T4 (casca de pinus + fibra de coco) e T6 (fibra de coco), que diferiram do tratamento T3 (casca de arroz carbonizada) (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CMR), número de pseudobulbos (NP), número de raízes (NR) massa fresca total (MF) de plântulas de *Cattleya intermedia* cultivadas em diferentes substratos.

Substratos	CPA(cm)	CMR (cm)	NP	NR	MF (g)
T1 <sup>2</sup>	6,41a <sup>1</sup>	10,22a	3,82ab	4,37ab	3,96ab
T2	5,31ab	10,50a	3,14bc	3,11b	3,14bc
T3	4,93b	9,94a	2,72c	3,47b	3,01b
T4	5,92ab	10,65a	3,61ab	5,06a	3,75ab
T5	5,74ab	9,49a	3,60ab	4,67ab	2,99b
T6	6,33a	11,31a	4,08a	5,10a	4,62a
C.V. (%)	11,17	10,73	12,02	16,39	20,95

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>T1: xaxim; T2: esfagno; T3: casca de arroz carbonizada; T4: casca de pinus + fibra de coco (1:1 v/v); T5: casca de pinus; T6: fibra de coco.

Para o comprimento da maior raiz, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Para a variável número de raízes, os tratamentos T1 (xaxim), T4 (casca de pinus + fibra de coco), T5 (casca de pinus) e T6 (fibra de coco) não mostraram diferença significativa entre si, porém diferiram dos tratamentos T3 (casca de arroz carbonizada) e T2 (esfagno), sendo o tratamento T3 (casca de arroz carbonizada) o que mostrou o menor número de raízes (Tabela 1). Isto ocorreu provavelmente porque as orquídeas epífitas, como é o caso das orquídeas do gênero *Cattleya*, quando cultivadas em vasos, desenvolvem-se melhor em substratos de textura relativamente grossa e de drenagem livre. Dessa maneira, as raízes têm livre acesso ao ar e à luz, crescendo em todas as direções (Demattê e Demattê, 1996).

Em relação à variável número de pseudobulbos, o tratamento T3 (casca de arroz carbonizada) mostrou-se menos eficiente que os demais tratamentos (Tabela 1).

Para a massa fresca total os melhores resultados observados foram em T1 (xaxim), T4 (casca de pinus + fibra de coco) e T6 (fibra de coco) (Tabela 1). Resultado esse que confirma o observado por Silveira et al. (2002), que obtiveram o melhor desenvolvimento vegetativo de plântulas de tomateiro, medido pela massa fresca e seca, quando adicionaram pó de coco a outros substratos.

Os valores médios de pH para os diferentes substratos testados apresentaram-se muito variados, entre 4,8 em T4 (casca de pinus + fibra de coco) a 6,3 em T3 (casca de arroz carbonizada) (Figura 1).

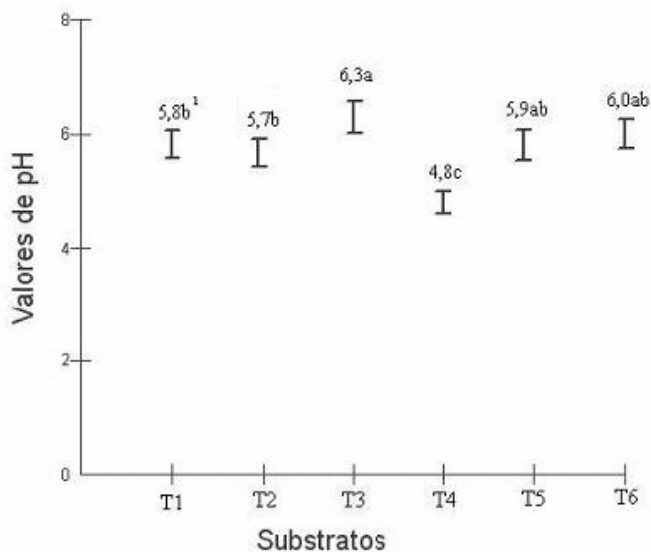


Figura 1. Valores médios de pH nos diferentes substratos [T1: xaxim; T2: esfagno; T3: casca de arroz carbonizada; T4: casca de pinus + fibra de coco (1:1 v/v); T5: casca de pinus; T6: fibra de coco].

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

C.V.(%) = 4,41

Segundo Röber e Schaller (1985) e Kämpf (2000), a faixa ideal de pH (em CaCl<sub>2</sub>) para o cultivo de *Cattleya* é de 5,0 a 5,5. No entanto, no substrato fibra de coco (T6), em que o valor de pH foi de 6,0, foi o que mostrou os melhores resultados para todas as variáveis avaliadas.

A variação da condutividade elétrica nos substratos testados ficou entre 172,50µS em T5 (casca de pinus) e 500,00µS em T2 (esfagno) (Figura 2). Porém os tratamentos T5 (casca de pinus) e T2 (esfagno) não apresentaram diferenças estatísticas entre si (Tabela 1).

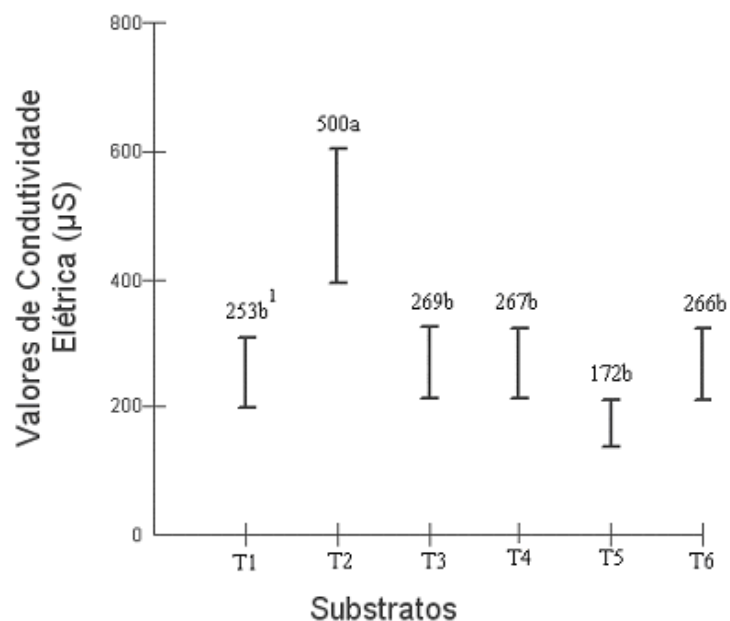


Figura 2. Valores médios de condutividade elétrica nos diferentes substratos [T1: xaxim; T2: esfagno; T3: casca de arroz carbonizada; T4: casca de pinus + fibra de coco (1:1 v/v); T5: casca de pinus; T6: fibra de coco].

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

C.V.(%) = 21,1

Segundo Takane et al.(2006), um valor de salinidade superior a 500,00µS é um valor elevado para orquídeas epífitas podendo causar perda de água pelas raízes, ocasionando manchas ou queimas visíveis nas folhas.

## CONCLUSÃO

O substrato fibra de coco e a mistura de casca de pinus e fibra de coco (1:1 v/v) são os mais indicados como alternativos ao xaxim e ao esfagno para o cultivo de *Cattleya intermedia* durante a etapa de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COOKE, R. B. Estufas e telados. *Ver. Ofic. da Orquid.*, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3 e 4, p. 94-101, 1999.

DEMATTÊ, J.B.; DEMATTÊ, M.E.S.P. Estudos hídricos com substratos vegetais para o cultivo de orquídeas epífitas. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v. 31, n. 11, p. 803-808, 1996.

GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. São Paulo: Nobel. 1982.

KÄMPF, A. N. *Produção comercial de plantas ornamentais*. Guaíba, RS: Agropecuária, 2000.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. *Plantas ornamentais do Brasil*. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum Ltda, 2001.

RÖBER, R., SCHALLER, K. *Pflanzenernährung im Gartenbau*. Stuttgart : Ulmer, 1985. 352p.

RODRIGUES, V. T. Substratos e cultivo. *Boletim CAOB*, Rio de Janeiro, n .44, p. 50-54, 2001.

SILVA, W. *Cultivo de orquídeas no Brasil*. São Paulo: Nobel, 1986.

SILVEIRA, E. B.; RODRIGUES, V.J.L.B.; GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; MESQUITA, J.C.P. Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro. *Hort. Bras.* Brasília, v.20, n.2, p.211-216, 2002.

SOUZA, M. Muito além do xaxim. *Natureza*, São Paulo, n.2, p.32-37, 2003.

TAKANE, R. J.; FARIA, R.T.; ALTAFIN, V.L. *Tecnologia fácil – 75: Cultivo de orquídeas*. Brasília: LK. 2006. 131p.



# Potencial de produção de *Limonium sinuatum* na Serra Catarinense.

Ciotta, Marlise Nara<sup>1</sup>; Nunes, Eduardo da Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadores da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - Estação Experimental de São Joaquim, Caixa Postal 81, CEP 88600-000, São Joaquim (SC), fone (49) 3233-0324, e-mail: [marlise@epagri.rct-sc.br](mailto:marlise@epagri.rct-sc.br), [eduardon@epagri.rct-sc.br](mailto:eduardon@epagri.rct-sc.br).

## INTRODUÇÃO

O limonium é uma planta arbustiva, pertence à família *Plumbaginaceae*, e a Ordem das *Primulares*. No gênero *Limonium* existem mais de 300 espécies de plantas anuais e perenes de valor ornamental.

Recentemente, no Japão e na Holanda, algumas espécies desse gênero passaram a serem cultivadas intensamente como flores de corte, principalmente *L. sinuatum*, *L. bonduelli*, *L. dregeanum*, *L. sinense*, *L. psyllifostachys*, *L. beilidifolium*, *L. gemlinii*, *L. perezzi* e *L. latifolium* (Kunitake *et al.*, 1995).

A espécie *Limonium sinuatum* conhecida pelo nome comum de statice, estática, latifolia ou lavanda do mar, é planta anual, natural da região do Mediterrâneo. Uma das mais populares flores de corte no mundo, continua a ser produzida em grandes quantidades. O melhoramento da espécie anual tem gerado numerosos híbridos de várias cores. Seu habitat de desenvolvimento abrange desde o continente e costa até as zonas peninsulares do interior com clima mais frio, sendo a temperatura ótima de crescimento e floração de 22 a 27°C durante o dia e de 12 a 16°C à noite (Shillo, 1976; Armitage, 1993). O comprimento do dia pode não afetar o início do florescimento, mas promove o desenvolvimento das flores. Baixa temperatura (11–13°C) é um pré-requisito para iniciar florescimento em cultivares de cor azul, por exemplo, 'Dunkelblau' e 'Midnight' (Shillo, 1976).

Esta espécie é cultivada preferencialmente em solos arenosos, embora possa ser cultivada em todos os tipos de solos desde que sejam permeáveis e com boa drenagem. Além disso, pode se desenvolver em solo salino, podendo ser classificada como planta moderadamente tolerante a salinidade (Grieve, 2004).

É uma planta muito utilizada para arranjos como flor desidratada, pois, mesmo depois de secas, as flores continuam ornamentais, mantendo-se presas ao pedúnculo. Pode ser utilizada como flor cortada ou em maços em arranjos e buquês, como também, cultivada a pleno sol em jardins (Lorenzi e Souza, 2001).

Hoje as flores cortadas representam as mais notáveis conquistas nacionais no âmbito do mercado interno da floricultura (Junqueira e Peetz, 2007). No Rio Grande do Sul, o cultivo comercial de latifolia teve início na década de 80 por imigrantes japoneses. Apesar do volume de comercialização ainda pequeno, se comparado com as demais flores de corte, o alto valor comercial da inflorescência e o relativo baixo custo de produção justificam seu cultivo (Fior *et al.*, 2000). Por outro lado, a Serra Catarinense tem potencial para a produção de flores de clima temperado e a pesquisa busca novos produtos para oferecer ao mercado. Uma das características da floricultura é a permanente busca por novidades para lançamento no mercado (Livramento e Zoldan, 2006). Além de representar uma alternativa diferente na produção de flor de corte, são várias as formas de utilização desta planta como ornamental e, ainda, há uma grande resistência da mesma ao manuseio e transporte.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o desenvolvimento e a viabilidade de produção de *Limonium sinuatum* na Serra Catarinense.

## METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido na Estação Experimental da Epagri de São Joaquim, localizada a uma altitude de 1.400 metros. Para o experimento foram utilizadas sementes de quatro variedades de *Limonium sinuatum*, importadas: 'Compindi White' – branca; 'Compindi Light Blue' – azul claro, 'Compindi Deep Blue' – azul escuro, 'Compindi Rose' – rosa. A semeadura aconteceu em bandejas com substrato as quais foram mantidas em local protegido. Após a emergência, no final do mês de novembro, as mudas foram

transplantadas diretamente para o campo experimental, em canteiros com solo corrigido para pH 6,0, na densidade de 12 plantas/m<sup>2</sup>. A partir do mês de janeiro foram efetuadas três colheitas de hastes florais, a cada 30 dias. O controle de plantas daninhas foi manual. Após a colheita, as hastes foram separadas em três classes de tamanho, que para fins de experimentação e avaliação foram assim denominadas: classe I (CL I), haste maior que 35cm; classe II (CL II), haste entre 25 e 35 cm, e classe III (CL III), haste menor que 25cm. Foram avaliados os parâmetros número de hastes por planta e peso de hastes em cada colheita, nas diferentes classes de tamanho.

Os resultados foram analisados estatisticamente através de uma análise de variância ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A floração do *Limonium* iniciou no mês de janeiro, aproximadamente 40 dias após o transplante, ocorrendo em todas as plantas.

Segundo Armitage (1993) altas temperaturas promovem crescimento da folha e alongação do caule, mas inibem o florescimento. Dados de pesquisa em Beltsville, apresentados pelo mesmo autor, indicam que plantas desenvolvendo-se em temperatura de 27/24 °C dia/noite formam uma roseta vegetativa a qual persiste por aproximadamente quatro meses. Temperaturas dia/noite de 21/18 °C resultam unicamente 20% de plantas em florescimento, por outro lado, temperaturas de 16/13 °C dia/noite são consideradas ótimas para o florescimento.

Com relação à primeira colheita de flores, os dados de tamanho de haste para as quatro variedades estão apresentados na tabela 1:

Tabela 1: Porcentagem de hastes de *Limonium sinuatum* por classe de tamanho para as variedades, branca, azul claro, azul escuro e rosa – 1ª colheita.

Variedade	Hastes/planta (%)		
	CL I	CL II	CL III
'Compindi White' - branca	50 c	33,8 a	16,2 a
'Compindi Light Blue – azul claro	71,1 a	20,7 b	8,3 b
'Compindi Deep Blue' –azul escuro	54 bc	33,2 a	12,8 ab
'Compindi Rose' - rosa	64,2 ab	28,1 ab	7,8 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

A variedade de cor azul claro foi a que apresentou, relativamente, a maior porcentagem de hastes com mais de 35 cm (CL I), destacando-se com 71%. Comparando as quatro variedades, 50% ou mais de hastes em relação ao total, encontra-se na classe I. De 20 a 34% das hastes apresentam-se na classe II e a menor porcentagem, para todas as variedades estão na classe III.

Estes dados demonstram o potencial da planta em produzir hastes de boa qualidade no que se refere a padrão exigido pelo mercado consumidor. O tamanho da haste de flor é um dado é importante, pois é um dos parâmetros que dita as normas do Padrão Ibraflor de Qualidade (Padrão Ibraflor de Qualidade, 2000), referência na padronização e comercialização de flores de corte.

Dados da literatura indicam que existem variedades que chegam a alcançar uma altura de espiga floral de 90 cm, enquanto outras não passam de 75 cm. Soriano (1990) classifica as hastes de limonium com 60-80cm ou 45-65 cm como de primeira e 50-60 cm ou 35-45 cm como de segunda. Por outro lado, há uma grande variação em relação a tamanho de haste para as diversas flores de corte de grande demanda. Camargo *et al.* (2005), por exemplo, obtiveram plantas de crisântemo com haste de 137cm e compararam com outras espécies como o cravo (95 cm) ou gipsopila cultivada em hidroponia (85cm).

Por outro lado, um parâmetro muito importante relacionado à produtividade é o número total de hastes/planta. Conforme apresentado na tabela 2, o número de hastes por planta na primeira colheita variou de 9 a 16, entre as variedades. O maior número de hastes total foi da variedade branca, sendo em média três hastes a mais por planta em relação à variedade rosa, e 6 ou 7 em relação às outras duas variedades. As variedades rosa e branca destacam-se com maior número de hastes de maior tamanho. Enquanto as variedades azuis podem se destacar para outro tipo de mercado onde o tamanho de hastes não é parâmetro determinante de qualidade, por exemplo, na jardinagem.

Tabela 2: Número médio de hastes por planta e total de hastes de *Limonium sinuatum* para as variedades, branca, azul claro, azul escuro e rosa – 1ª colheita.

Variedade	Número médio de hastes/planta (g)			Total de hastes/planta
	CL I	CL II	CL III	
'Compindi White' - branca	8 a	5 a	3 a	16 a
'Compindi Light Blue – azul claro	7 ab	2 c	1 b	10 c
'Compindi Deep Blue' – azul escuro	5 b	3 bc	1 b	9 c
'Compindi Rose' - rosa	9 a	4 b	1 b	13 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao peso total de hastes (tabela 3), não houve diferença significativa entre as quatro variedades avaliadas, caracterizando em média 174g. O peso de parte aérea da planta é um parâmetro importante para a comercialização, uma vez que a venda de flores de corte é realizada, normalmente, em maços e com base no peso verde; quanto maior este valor, menor a quantidade de hastes utilizada. Considerando apenas a classe I, a variedade rosa foi a que apresentou maior peso médio de hastes, a destacando em relação às demais variedades avaliadas.

Tabela 3: Peso médio de hastes por planta e peso total de hastes de *Limonium sinuatum* para as variedades, branca, azul claro, azul escuro e rosa – 1ª colheita.

Variedade	Peso de hastes/planta (g)			Peso total de hastes (g)
	CL I	CL II	CL III	
'Compindi White' – branca	106,4 b	53,4 a	11,7 a	171,7 a
'Compindi Light Blue – azul claro	137,7 ab	22,6 c	4,4 b	164,7 a
'Compindi Deep Blue' – azul escuro	123,7ab	34,8 bc	7,8 b	166,3 a
'Compindi Rose' - rosa	146,7 a	38,5 b	5,5 b	190,7 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

No segundo e terceiro cortes o número de hastes/planta diminuiu em relação à primeira colheita (dados não apresentados).

As variedades branca e rosa apresentaram o maior número total de hastes, 30 e 29 hastes. Dependendo das condições de desenvolvimento a produção total por planta pode ser de 40 a 50 hastes. Os rendimentos de produção se situam entre 8 e 20 flores/ m<sup>2</sup> (Armitage, 1993)

## CONCLUSÕES

A espécie *Limonium sinuatum* apresentou desenvolvimento satisfatório, mostrando potencial de cultivo na região da Serra Catarinense. A partir destes resultados, destacam-se as variedades branca e rosa como alternativas para flor de corte de clima temperado, especialmente pela altura e número de hastes produzidas. Para um mercado diferenciado as demais variedades podem ser interessantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMITAGE, A. M. 1993. **Specialty cut flowers: The production of annuals, perennials, bulbs and woody plants for fresh and dried cut flowers**. Varsity press / Timber press, Portland, OR.

CAMARGO, M. S.; MELLO, S. C.; ANTI, G. R.; CARMELLO, Q. A. C. **Crescimento e absorção de nutrientes pelo *Aster ericoides* cultivado em solo sob estufa**. Horticultura Brasileira, vol. 23, n. 2, Brasília, abril-junho 2005

FIOR, C. S.; RODRIGUES, L. R.; KÄMPF, A. N. **Propagação *in vitro* de *Limonium latifolium* Kuntze (*Plumbaginaceae*) *In vitro* propagation of *Limonium latifolium* Kuntze (*Plumbaginaceae*)**. Cienc. Rural, vol.30 n.4 Santa Maria, julho-agosto 2000

GRIEVE, C. M., CARTER, C.T., POSS, J. A. 2004. **Productivity of two limonium species irrigated with saline wastewaters**. Proceedings American Society of Horticultural Sciences. 39(4):767.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **Las exportaciones brasilenas de flores y plantas ornamentales crecen más del 124% entre 2001 y 2006**. Horticultura Internacional.Espanha, n. 56, p.76-79, mar. 2007.

KUNITAKE, H., KOREEDA, K., MH, M. **Morphological and cytological characteristics of protoplast-derived plants of statice (*Limonium perezii* Hubbard)**. Scientia Horticulturae, v. 60,p. 305-312, 1995.

**LIMONIUM**. Disponível em: <[www.infoagro.com/flores/plantas\\_ornamentales/limonium](http://www.infoagro.com/flores/plantas_ornamentales/limonium)>

LIVRAMENTO, G.; ZOLDAN, S. R. **Plantas nativas do Planalto Catarinense com potencial ornamental – resultados preliminares**. Florianópolis: Epagri, 2006. 23p (Epagri, Documentos, 227)

LORENZI, H. S., HERMES, M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 3ª ed. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2001. p 896

**PADRÃO IBRAFLOR DE QUALIDADE**. Publicação do Instituto brasileiro de Floricultura. Campinas (SP); junho 2000. Flortec (Coordenação Técnica)

SHILLO, R. 1976. **Control of flower initiation and development of statice (*limonium sinuatum*) by temperature and daylength**. Acta Hort. (ISHS) 64:197-204. Disponível em <[http://www.actahort.org/books/64/64\\_25.htm](http://www.actahort.org/books/64/64_25.htm)>

SORIANO, R. 1990. **Limonium**. Disponível em: <[www.infoagro.com/flores/plantas\\_ornamentales/limonium](http://www.infoagro.com/flores/plantas_ornamentales/limonium)>

## PALAVRAS CHAVE

*Limonium sinuatum*; produtividade, número de hastes florais.

## Crescimento de rainha-do-abismo sob diferentes níveis de sombreamento

Unemoto, Lilian Keiko<sup>1</sup>; Yamamoto, Lilian Yukari<sup>2</sup>; Lone, Alessandro Borini<sup>2</sup>; Assis, Adriane Marinho<sup>1</sup>; Faria, Ricardo Tadeu<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UEL-PR); <sup>2</sup>Estudante de Graduação (UEL-PR); <sup>3</sup>Professor adjunto do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL- PR), Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, Paraná. (43) 3371-4770, e-mail: faria@uel.br

### INTRODUÇÃO

A rainha-do-abismo, *Sinningia leucotricha* Hoehne (Moore), é uma planta nativa do estado do Paraná e pertence à família Gesneriaceae (Chautems, 2003). É uma planta herbácea, que possui folhas totalmente recobertas por densa pilosidade, conferindo-lhe aspecto prateado. Devido à beleza de suas folhas, esta planta que possui grande potencial ornamental, tem sido alvo de extração e comercialização desregrada, colocando-a sob o risco de extinção.

De acordo com Blank et al (2003) a produção de mudas de muitas espécies ornamentais, nativas ou não, ainda não estão totalmente estabelecidas, necessitando de pesquisas quanto ao tipo de substratos, exigências de sombreamento, tamanho de recipientes, entre outros. Reid et al (1991), destacam que cada espécie possui exigências específicas para seu desenvolvimento. Fatores como luz, água, temperatura e condições edáficas são alguns dos elementos do ambiente que interferem no desenvolvimento das plantas. A energia luminosa é fundamental para o desenvolvimento da planta, sendo que variações na qualidade e quantidade, presença ou ausência de luz irão influenciar fortemente o tipo de desenvolvimento que a planta irá apresentar (Poggiani et al, 1992).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento de rainha-do-abismo sob diferentes níveis de sombreamento.

### MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido entre os meses de junho a dezembro de 2006 no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, Estado do Paraná, localizada a 23° 23' de Latitude Sul, 51° 11' de Longitude Oeste e altitude média de 566 m.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento sendo cada parcela constituída por um vaso com uma planta.

Para o experimento foram utilizados como material vegetativo raízes tuberosas com aproximadamente 2,3 ± 0,3 cm de diâmetro. O substrato utilizado foi a areia grossa, sendo acrescentada no fundo do vaso uma camada de pedra brita para se obter boa drenagem. Os vasos foram acondicionados em viveiros protegidos com tela de polipropileno de coloração preta nas seguintes porcentagens: 0% (a pleno sol), 50%, 60% e 70% de sombreamento.

A cada 30 dias foram realizadas fertirrigações com formulação NPK 6-6-8 (3 mL.L<sup>-1</sup>) na quantidade de 20 mL por vaso. As regas foram realizadas manualmente a cada três dias.

Após seis meses do início do experimento foram avaliadas as seguintes características: altura da parte aérea, número de brotos, massa seca da parte aérea, massa fresca da raiz tuberosa e o crescimento da raiz tuberosa. Este último parâmetro foi avaliado por meio da diferença entre o diâmetro inicial e final da raiz tuberosa.

Os dados foram submetidos à análise de variância, complementado pelo teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade e testes de regressão, sendo os dados de contagem de número de brotos submetidos à transformação de raiz quadrada.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de rainha-do-abismo apresentaram maior altura da parte aérea quando cultivadas sob 70% de sombreamento (Tabela 1), apresentando médias superiores em relação às plantas cultivadas a pleno sol e em sombreamentos de 50% e 60%, que não diferiram entre si. Para o cultivo de gloxínia (Gesneriaceae), Longhi & Tombolato (1995)

indicam ambientes com luminosidade controlada com camadas de filmes plásticos e telas de sombreamento entre 50-60%.

Morais et al (2003) verificaram que o sombreamento induziu maior crescimento em altura, em plantas de café (*Coffea arabica*). Em estudos com *Cyclamen persicum*, Villegas et al (2006), obtiveram os melhores resultados para o crescimento em sombreamento de 50%. Zanella et al (2006), também obtiveram os maiores valores para comprimento do caule de maracujazeiro (*Passiflora edulis*), obtendo menor média em plantas cultivadas à pleno sol e maiores médias em plantas cultivadas em viveiros com 70% de sombreamento.

Para o número de brotos não foram observadas diferenças estatísticas nos diferentes sombreamentos.

Tabela 1. Média dos tratamentos referentes às avaliações de altura da parte aérea, número de brotos, massa seca da parte aérea, massa fresca da raiz tuberosa e crescimento em diâmetro da raiz tuberosa de rainha-do-abismo em diferentes condições de sombreamento após 6 meses do início do experimento. UEL, Londrina, PR.

Sombreamento (%)	Altura da parte aérea (cm)	Número de brotos <sup>(2)</sup>	Massa seca parte aérea (g)	Massa fresca raiz tuberosa (g)	Crescimento da raiz tuberosa (cm)
0 (a pleno sol)	1.34 b <sup>(1)</sup>	1.29 a	0.16 c	5.11 b	0.35 b
50	1.93 b	1.38 a	0.23 bc	6.46 ab	0.48 ab
60	2.36 b	1.25 a	0.35 ab	8.23 a	0.58 ab
70	3.93 a	1.09 a	0.41 a	7.13 ab	0.71 a
cv %	22.34	19.21	35.24	37.82	29.25

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância;

<sup>(2)</sup> Dados sob transformação de raiz quadrada.

Os resultados para massa seca da parte aérea indicam maior acúmulo de massa nas plantas cultivadas em sombreamento de 70% em relação às de 50% e pleno sol. Não foi possível, porém, verificar diferença significativa de massa seca entre as plantas cultivadas nos sombreamentos de 50%, 60% e 70%. Estes dados indicam que as plantas mais altas que foram obtidas nos ambientes mais sombreados, não se deve ao estiolamento, uma vez que também se apresentaram mais vigorosas com as maiores médias de massa fresca e seca em comparação às plantas cultivadas em pleno sol. Em estudos com maracujazeiro (*Passiflora edulis*), Kluge (1998) e Silva et al (2006), observaram que as plantas cultivadas sob intensidades luminosas mais baixas apresentaram ramos mais alongados porém com redução de massa seca e menor acúmulo de nutrientes, fato este atribuído ao estiolamento devido às condições de redução do sombreamento destas plantas.

Os resultados para massa fresca da raiz tuberosa indicam que as plantas cultivadas em sombreamento de 60% tiveram um acúmulo de massa superior em relação às plantas cultivadas em pleno sol. No entanto não foi possível verificar diferenças significativas entre as plantas cultivadas nos sombreamentos de 50, 60 e 70%.

O crescimento em diâmetro da raiz tuberosa foi maior nas plantas cultivadas em 70% de sombreamento em relação às cultivadas em pleno sol. Não foi possível verificar diferenças significativas entre as plantas que foram cultivadas em sombreamento de 50 e 60% com as plantas cultivadas em sombreamento de 70% e a pleno sol. Porém, houve diferença significativa entre o tratamento a pleno sol e a 70%, ocorrendo um melhor desenvolvimento da raiz tuberosa nas plantas cultivadas sob 70% de sombreamento. De acordo com Kerbauy (2004), fatores ambientais como luminosidade, temperatura e

fotoperíodo influenciam no controle da formação e crescimento de órgãos de reserva, como a raiz tuberosa da rainha-do-abismo, cuja porção apical, onde se concentram as gemas, não devem ser mantidas enterradas no substrato.

Para as variáveis massa seca da parte aérea e massa fresca da raiz tuberosa e crescimento da raiz tuberosa, foi possível observar através de análise de regressão que houve uma tendência de elevação das variáveis conforme o aumento dos níveis de retenção de luminosidade no cultivo de rainha-do-abismo (Figuras 1 e 2).

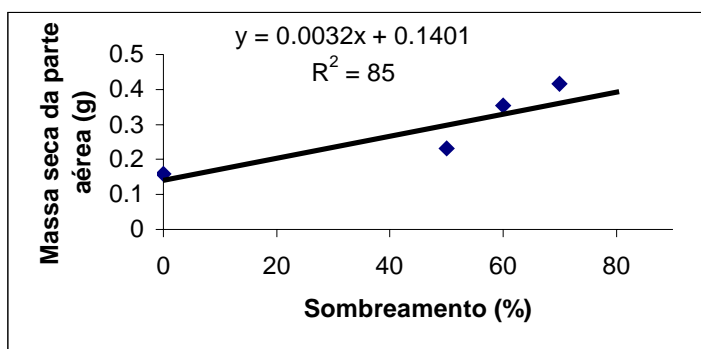


Figura 1. Massa seca da parte aérea de rainha-do-abismo cultivada sob diferentes sombreamentos, após 6 meses do início do experimento.

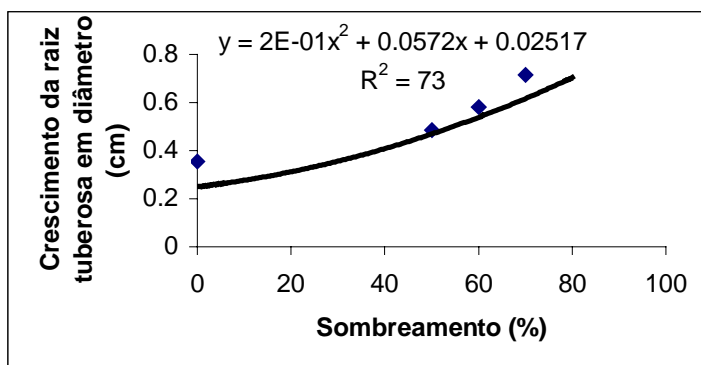


Figura 2. Crescimento da raiz tuberosa de rainha-do-abismo sob diferentes sombreamentos, após 6 meses do início do experimento.

## CONCLUSÃO

Para este experimento, os viveiros protegidos com 60% ou 70% de sombreamento de luminosidade foram os mais adequados ao desenvolvimento vegetativo de rainha-do-abismo. O cultivo desta espécie a pleno sol não é recomendado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Desenvolvimento vegetativo, Gesneriaceae, luminosidade, *Sinningia leucotricha*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLANK, M. F. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; BLANK, A. F.; SANTOS NETO, A. L. Efeitos do substrato e luminosidade na emergência e desenvolvimento de mudas de jasmim-laranja (*Murraya exotica* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 34, n.1, p. 5- 12, 2003.

CHAUTEMS, A. Gênero *Sinningia*. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTIE, A. M.; MELHEM, T. S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Fapesp/ Rima, 2003, v. 3. p.90-100.

KERBAUY, G. B. 2004. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452p.

KLUGE, R. A. Maracujazeiro (*Passiflora* sp.). In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (Coord.). **Ecofisiologia de fruteiras tropicais**. São Paulo: Nobel, 1998. p. 32-47.

LONGHI, A. A.; TOMBOLATO, A. F. C. **Gloxínia** (Comunicado técnico), Cati: Campinas, v. 123, p. 1- 5, 1995.

MORAIS, H.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P. H.; RIBEIRO, A. M. A.; GOMES, J. C. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1131-1137, 2003.

POGGIANI, F.; BRUNI, S.; BARBOSA, E. S. Q. Efeito do sombreamento sobre o crescimento das mudas de três espécies florestais. **Revista do Instituto Florestal de São Paulo**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 564-569, 1992.

REID, D. M.; BEALL, F. D.; PHARIS, R. P. Environmental Cues in Plant Growth and Development. In: STEWARD, F. C. (Ed.). **Plant Physiology**. San Diego: Academic Press Inc. 1991, Volume X: Growth and Development. p. 65-181.

SILVA, M. L. S.; VIANA, A. E. S.; JOSÉ, A. R. S.; AMARAL, C. L. F.; MATSUMOTO, S. N.; PELACANI, C. R. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) sob diferentes níveis de sombreamento. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 513-521, 2006.

VILLEGAS, E., PÉREZ, M. and LAO, M. T. Influence of lighting levels by shading cloths on *cyclamen persicum* quality. **Acta Horticulture**, (ISHS) 711:145-150, 2006.

ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A. L. S. Formação de mudas de maracujazeiro “amarelo” sob níveis de sombreamento em Ji-Paraná/ Ro. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 880-884, 2006.



## Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mudas de areca-de-lucuba, *Dypsis madagascariensis* (Becc.) Beentfe & J. Dransf.

Pivetta, Kathia Fernandes Lopes<sup>1</sup>; Madeira, Renato<sup>2</sup>; Bellingieri, Paulo Affonso<sup>3</sup>; Santos, Juliana Garcia dos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professora Doutora (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, fone (16) 3209-2668, email: [kathia@fcav.unesp.br](mailto:kathia@fcav.unesp.br); <sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo; <sup>3</sup> Professor Titular, Departamento de Tecnologia (UNESP/FCAV), email: [pabellin@fcav.unesp.br](mailto:pabellin@fcav.unesp.br); <sup>4</sup> Mestranda do Programa de Produção Vegetal (UNESP/FCAV), Departamento de Produção Vegetal, email: [jugarciaagro01@yahoo.com.br](mailto:jugarciaagro01@yahoo.com.br);

### INTRODUÇÃO

O gênero *Dypsis* é representado por cerca de vinte e uma espécies, originárias de Madagascar (Mc Currach, 1960). *Dypsis madagascariensis*, apresenta tronco simples, ereto, espesso, anelado, verde, dilatado na base e afunilado em direção ao topo, com sete a quinze metros de altura e cerca de 18cm de diâmetro; as folhas são pinadas, largas, dispostas em quina triangular com bainha e as inflorescências, muito ramificadas na axila das folhas (Lorenzi et al., 2004).

Em outros países, normalmente, a produção de mudas de palmeiras é feita em recipientes, utilizando substratos sem solo (Broschat, 2000; Meerow & Broschat, 2003); no Brasil, algumas palmeiras, principalmente as mais raras e para fins ornamentais são produzidas desta forma, porém, a grande maioria é formada em sacos plásticos contendo solo e esterco como substrato, muitas vezes sem nenhuma adubação ou, ainda se faz a semeadura direta, obtendo um cultivo desuniforme e sem vigor.

Meerow & Broschat (2003) recomendam para palmeiras formadas em recipientes a mistura de 2:1:1 (v:v:v) de turfa, casca de pinus e lascas de madeira (maravalha) ou 2:2:1 de turfa, casca e areia, sendo que a turfa pode ser substituída por fibra-de-coco. No Brasil, alguns viveiristas utilizam substratos comerciais, como Plantimax®, também indicado por Tonet et al. (1999) na produção de mudas de pupunha em tubetes.

São encontradas várias recomendações empíricas, em nível de extensão, de substrato e/ou adubação na produção de mudas em sacos plásticos ou tubetes para pupunha (Bovi, 1998b; Vianna Neto & Costas, 1998; Tonet et. al, 1999, Fonseca et al., 2001), real-australiana (Bovi, 1998a) e guariroba (Diniz & Sá, 1995; Abreu, 1997).

A demanda das palmeiras por nutrientes é elevada, tanto na fase de crescimento vegetativo quanto na fase reprodutiva (Bovi et al., 2002; Bovi & Cantarella, 1996).

Bovi et al. (2002) comenta que a literatura nacional e internacional sobre adubação de pupunheira é bastante escassa; na maioria das vezes, as doses são empiricamente recomendadas, com pouco ou nenhum suporte de resultados de experimentação. Este comentário é válido, também, para as outras espécies de palmeiras, principalmente, com relação à produção de mudas.

Baseado no exposto, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito de substratos no desenvolvimento inicial de mudas de areca-de-lucuba, *Dypsis madagascariensis*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em telado com 50% de sombreamento, no Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais da UNESP/FCAV.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (substratos) e oito repetições, com cinco plantas por parcela.

Foram utilizadas mudas, doadas pela Flora Wolpert (Miracatu, SP), com altura média de 20 cm, tendo, em média 2 folhas. Todas as mudas eram provenientes do mesmo lote de sementes. Na Flora Wolpert, as sementes haviam sido colocadas para germinar em caixas de areia e colocadas em estufa até a data da implantação do experimento.

As mudas foram transplantadas para sacos de polietileno preto com capacidade para 1,2 litros, contendo os seguintes substratos, que se constituíram nos tratamentos: substrato à base de turfa, terra + esterco e Plantimax®.

O substrato à base de turfa é utilizado por alguns produtores de mudas de palmeiras da região de Iguape, SP. Seguindo a recomendação desses viveiristas, foi preparado o substrato, ou seja, para 45 m<sup>3</sup> de turfa proveniente de Iguape, SP, foi adicionado 30 m<sup>3</sup> de bagaço de cana; 15 m<sup>3</sup> de casca de arroz carbonizada; 25 kg de NPK, fórmula 10-10-10 e 100 kg de calcário dolomítico.

O tratamento terra + esterco consistiu na mistura de 75% de subsolo, retirado de um latossolo na UNESP/FCAV e 25% de esterco de curral curtido (oriundo de confinamento), também proveniente da UNESP/FCAV.

O substrato Plantimax® indicado para produção de mudas, foi adquirido no mercado. Esse substrato apresenta as seguintes características, segundo folheto promocional: produto elaborado com matéria orgânica de origem vegetal devidamente compostada, turfa, perlita e vermiculita, além de fertilizantes minerais.

Foram avaliados número de folhas e comprimento total da planta (do colo da planta até a ponta da maior folha), a cada 30 dias. No final do experimento, ou seja, 7 meses após o transplante para os diferentes substratos, além de número de folhas e comprimento da planta, foi avaliado também, área foliar, massa seca da parte aérea e sistema radicular, destruindo, para estas análises, quatro plantas por parcela.

Para a avaliação de área foliar, foi utilizado o aparelho Portable Área Metter Modelo Lt-3000A.

Para determinação da massa seca, foi colocada a parte aérea, individualmente identificada, para secar em estufa com renovação e circulação de ar a aproximadamente 65°C, até atingir massa constante (cerca de 3 dias). O mesmo procedimento foi utilizado para determinação da massa seca do sistema radicular, que foi obtido após secagem do substrato à sombra e posterior separação do substrato e raízes com auxílio de uma peneira de 0,2mm.

Os dados coletados foram submetidos a análise estatística, utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para comprimento da folha, observa-se (Tabela 1) que na primeira e terceira avaliação (30 e 90 dias, respectivamente), não houve diferença significativa entre os tratamentos. Já na segunda análise, ou seja, aos 60 dias observa-se que solo + esterco apresentou maior média, não diferindo estatisticamente da mistura à base de turfa. Nas demais avaliações não houve diferença estatística entre base turfa e solo + esterco que diferiram estatisticamente do Plantimax®, que obteve menor média, diferença está que foi constatada até a última avaliação.

Tabela 1. Quadrados médios e médias obtidas para comprimento das mudas de *Dypsis madagascariensis* em diferentes substratos, em avaliações mensais.

C. Variação	G.L	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias	180 dias	210 dias
Substratos	2	10.07 <sup>NS</sup>	21.12*	21.60*	34.32**	78.24**	156.57**	200.62**
Resíduo	21	4.74	5.81	5.47	4.72	5.41	6.49	10.11
CV (%)		10.68	10.91	10.05	8.84	8.49	8.34	9.64
Médias								
	Base turfa	20.89 a	22.68 ab	24.15 a	25.70 a	29.06 a	32.29 a	35.41 a
	Solo+esterco	21.19 a	23.35 a	24.32 a	25.85 a	29.35 a	33.79 a	36.31 a
	Plantimax®	19.11 a	20.26 b	21.39 a	22.19 b	23.79 b	25.49 b	27.22 b

NS Não significativo; \* Significativo (5% de probabilidade); \*\* Significativo (1% de probabilidade)

Com relação ao número de folhas (Tabela 2), não houve diferença estatística nas quatro primeiras avaliações, já nas demais os substratos base turfa e solo + esterco,

apresentaram maiores médias, não havendo diferença estatística entre eles e o Plantimax<sup>®</sup> apresentou menores médias.

Tabela 2. Quadrados médios e médias obtidas para número de folhas das mudas de *Dypsis madagascariensis* em diferentes substratos, em avaliações mensais.

C. Variação	G.L	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias	180 dias	210 dias
Substrato	2	0.04 <sup>NS</sup>	0.05 <sup>NS</sup>	0.22 <sup>NS</sup>	0.24 <sup>NS</sup>	0.73 <sup>**</sup>	1.43 <sup>**</sup>	1.30 <sup>**</sup>
Resíduo	21	0,06	0,06	0,11	0,13	0,12	0,17	0,21
CV(%)		9,27	8,39	9,13	8,26	6,81	7,55	8,12
Médias								
	Base turfa	2.70 a	2.95 a	3.78 a	4.43 a	5.13 a	5.67 a	5.74 a
	Solo + Esterco	2.73 a	2.99 a	3.78 a	4.45 a	5.27 a	5.74 a	5.86 a
	Plantimax <sup>®</sup>	2.60 a	2.84 a	3.49 a	4.14 a	4.69 b	4.98 b	5.11 b

NS Não significativo; \* Significativo (5% de probabilidade); \*\* Significativo (1% de probabilidade)

Na avaliação de área foliar (Tabela 3), o substrato solo + esterco foi o que obteve melhor resultado, deferindo do Plantimax<sup>®</sup> que obteve menor valor, já o substrato base turfa não diferiu estatisticamente dos demais.

Relacionado à massa seca da parte aérea e do sistema radicular (Tabela 3) observa-se diferença significativa entre os tratamentos, onde o Plantimax<sup>®</sup> apresentou menor valor.

Os substratos à base de solo apresentam inconvenientes como alta densidade e o fato de ser um recurso natural não renovável, recomendando-se buscar alternativas de componente básico. Nessa pesquisa, a mistura à base de turfa foi similar ao antigo substrato solo + esterco que foram superiores ao Plantimax<sup>®</sup>, produto de maior custo, porém, facilmente encontrado no mercado. Dessa forma, esse estudo indica a necessidade de estudar outras misturas, e muito mais, o balanço nutricional no desenvolvimento de mudas.

Tabela 3. Quadrados médios e médias obtidas para área foliar, massa seca da parte aérea e do sistema radicular das mudas de *Dypsis madagascariensis* em diferentes substratos, em avaliações mensais.

C. Variação	G.L.	Área foliar	Massa seca da parte aérea (g)	Massa seca do sistema radicular (g)
Substrato	2	11949.13*	16.81 <sup>**</sup>	55.95 <sup>**</sup>
Resíduo	21	2997.72	0.83	4.21
CV(%)		26.69	13.90	26.78
Médias				
	Base turfa	214.82 ab	17.34 a	4.18 a
	Solo + Esterco	238.08 a	14.88 a	4.29 a
	Plantimax <sup>®</sup>	162.62 b	12.06 b	1.74 b

NS Não significativo; \* Significativo (5% de probabilidade); \*\* Significativo (1% de probabilidade)

## CONCLUSÕES

Mudas de *Dypsis madagascariensis* desenvolveram-se melhor na mistura de 75% de solo e 25% de esterco de curral, juntamente com a mistura à base de turfa, adicionada de bagaço de cana, casca de arroz carbonizada, NPK 10-10-10 e calcário dolomítico, quando comparados com Plantimax<sup>®</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, N.A. **Cultura da guariroba**; uma produção constante e rentável. Goiânia: AEAGO, 1997, 30p. (Apostila v.1)

BOVI, M.L.A., GODOY JÚNIOR, G., SPIERING, S.H. Respostas de crescimento da pupunheira à adubação NPK. **Scientia Agrícola**, v.59,n.1, p.161-166, 2002.

BOVI, M.L.A. **Cultivo da palmeira real australiana visando a produção de palmito**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1998a. 26p. (Boletim Técnico, 172).

BOVI, M.L.A. **Palmito pupunha**: informações básicas para cultivo. Campinas: Instituto Agrônômico, 1998b. 50 p. (Boletim Técnico, 173).

BOVI, M.L.A., CANTARELLA, H. Pupunha para extração de palmito. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A, FURLANI, A.M.C. eds. **Recomendações de adubação para algumas culturas do estado de São Paulo**. Campinas, Instituto Agrônômico de Campinas, 1996. p.240-242. (Boletim Técnico, 100).

BROSCHAT, T.K. **Palms nutrition guide**. Florida: University of Florida/Institute of Food and Agricultural Sciences Extension, 2000.6p. (SS-ORH-02).

DINIZ, J.A., SÁ, L.F. **A cultura da guariroba**. Goiânia: EMATER-GO, 1995. 16p. (Boletim Técnico 003).

FONSECA, E.B.A., MOREIRA, M.A., CARVALHO, J.G. **Cultura da pupunheira**. Lavras: UFLA, 2001. 47p. (Boletim de Extensão).

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, 2004. 416p.

Mc CURRACH, J. C. **Palms of the world**. New York: Ed. Harper & Brothers, 1960. 290p.  
MEEROW, A.W., BROSCHAT, T.K. **Container production of palms**. Florida: University of Florida/Institute of Food and Agricultural Sciences Extension, 2003.8p. (CIR 1163)

TONET, R.M., FERREIRA, L.G.S., OTOBONI, J.L.M. A cultura da pupunha. Campinas: CATI, 1999. 44p. (Boletim Técnico, 237).

VIANNA NETO, R.F., COSTAS, R.C.S.M. **O palmito pupunha**; do plantio à colheita. Campinas: CATI, 1998. 25p. (Instrução Prática, 261).

PALAVRAS-CHAVE: *Archontophoenix alexandrae*, palmeira, germinação de sementes

## Cultivo de *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae) em substratos alternativos ao xaxim

Assis, Adriane Marinho<sup>1</sup>; Faria, Ricardo Tadeu<sup>2</sup>, Unemoto, Lilian Keiko<sup>1</sup>; Lone, Alessandro Borini<sup>3</sup>. Rovaris, Sara Regina Silvestrin<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UEL); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina. C.P. 6001, 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil. (43) 3371-4770. e-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br); <sup>3</sup>Estudante de Graduação em Ciências Biológicas; <sup>4</sup>Estudante de Graduação em Agronomia.

### INTRODUÇÃO

A orquídea *Dendrobium nobile* Lindl. é uma planta epífita, muito apreciada na floricultura em função do grande número de flores por planta, além da diversidade de cores.

Para o cultivo destas orquídeas em recipientes, o substrato utilizado exerce grande influência na qualidade do produto final e deve apresentar boa aeração, consistência para suporte, permeabilidade, poder de tamponamento para valor de pH, capacidade de retenção de nutrientes e estar isento de agentes causadores de doenças, pragas e propágulos de ervas daninhas (KÄMPF, 2000; SOUZA, 2003; ARAÚJO, 2004). Diversos materiais têm sido testados no intuito de substituir o xaxim (*Dicksonia sellowiana* Hook.), substrato em vias de extinção; e a fibra de coco (*Cocos nucifera*), é considerada uma promissora substituta desse material. (Nunes, 2000; Bezerra et al., 2001).

A utilização do coco como substrato, além de ser uma alternativa para a preservação do xaxim, também ajuda a diminuir o volume de resíduos sólidos gerados, contribuindo assim para a preservação do meio ambiente (Bezerra et al. 2001; Waldemar, 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de substratos a base de coco no cultivo de *Dendrobium nobile* Lindl.

### METODOLOGIA

O experimento foi instalado em fevereiro de 2003, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

A espécie de orquídea utilizada foi a *Dendrobium nobile*, sendo as mudas obtidas de sementes germinadas *in vitro*, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal da Universidade Estadual de Londrina.

O viveiro apresentava tela sombrite, com 50 % de retenção de luminosidade e os substratos utilizados foram: S1- xaxim desfibrado; S2- coco desfibrado; S3- coco em pó; S4- coco desfibrado + coco em pó; S5- coco em cubos; S6- coco em cubos + coco em pó; S7- coco em cubos + coco desfibrado. Os substratos contendo misturas foram combinados na proporção de 1:1 e a parte do fruto (coco) utilizada foi o mesocarpo.

Como recipiente foram usados vasos de polipropileno com 10,5 cm de altura e 12,5 cm de diâmetro. Estes vasos continham 4 furos na parte inferior, na qual foi acrescentada uma camada de argila expandida, visando boa drenagem e aeração do sistema radicular. Os vasos foram mantidos em mesas suspensas no viveiro.

As mudas apresentavam altura inicial de 13,5 cm  $\pm$  0,5 cm e diâmetro de pseudobulbo de 0,9 cm  $\pm$  0,2 cm. Cada vaso continha uma muda com dois pseudobulbos, sendo todas as raízes podadas a 2 cm de comprimento.

A cada trinta dias foi efetuada uma adubação foliar, com NPK 10-10-10 (1g/ L) e, a cada noventa dias, uma adubação orgânica a base de farinha de osso e torta de mamona (1g/vaso), na proporção 1:1 (Silva, 1986).

A irrigação por aspersão foi realizada no período da manhã, durante cinco minutos. No inverno, a frequência da irrigação foi a cada três dias e no verão, as plantas foram irrigadas diariamente. Durante este período, a temperatura média do viveiro foi de 25,3° C e a umidade relativa, de 54,46 %.

Após oito meses do início do experimento, foram avaliadas as variáveis: altura da planta e diâmetro do pseudobulbo, comprimento da maior raiz, massa seca de raízes e número de brotações. Utilizou-se o paquímetro na medição da altura das plantas, diâmetro dos pseudobulbos e comprimento da maior raiz.

Para a avaliação da massa seca de raízes, estas foram mantidas em estufa a 68° C por quarenta e oito horas e, em seguida, pesadas em balança analítica.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com sete tratamentos e dez repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, complementado pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Banzato & Kronka, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, encontram-se os valores médios referentes à altura e diâmetro dos pseudobulbos, comprimento da maior raiz, número de brotos e massa seca de raízes de *Dendrobium nobile* Lindl..

Tabela 1. Média dos tratamentos referente à avaliação de altura das plantas, diâmetro dos pseudobulbos, número de brotos, comprimento da maior raiz e massa seca de raízes de *Dendrobium nobile* Lindl., após oito meses do início do experimento. Londrina (PR), 2003.

Substratos	Altura da planta (cm)	Diâmetro do pseudobulbo (cm)	Número de brotos <sup>(1)</sup>	Comprimento da maior raiz (cm)	Massa seca de raízes (g)
S1- xaxim	16,25 ab <sup>(2)</sup>	1,02 ab	1,8 a	16,89 ab	0,65 ab
S2- coco desfibrado	15,46 ab	1,07 ab	1,0 a	21,03 a	0,66 ab
S3- coco em pó	19,27 a	1,19 a	0,6 b	20,70 a	0,85 a
S4- coco desfibrado + coco em pó	14,97 b	1,14 ab	0,9 ab	20,99 a	0,86 a
S5- coco em cubos	13,97 b	0,93 b	1,1 ab	9,44 b	0,31 b
S6- coco em cubos + coco em pó	16,10 ab	1,03 ab	1,5 ab	16,35 ab	0,63 ab
S7- coco em cubos + coco desfibrado	16,77 ab	1,17 a	0,6 b	24,30 a	0,95 a
CV %	19,52	16,97	67,41	32,61	45,81

<sup>(1)</sup> Dados sob transformação em raiz quadrada;

<sup>(2)</sup> Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Com relação à altura das plantas, ocorreram diferenças significativas entre o substrato S3, quando comparado a S4 e S5. No entanto, nenhum dos substratos avaliados diferiu estatisticamente do xaxim (Tabela 1).

Estudos realizados por Oshiro & Demattê (1999) demonstraram que substratos como xaxim, casca de pinus e húmus proporcionaram maior crescimento em altura nas plantas de *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae) que substratos a base de casca de coco.

Para a variável diâmetro do pseudobulbo, o S5 foi o que apresentou menor diâmetro, com 0,93 cm, diferindo estatisticamente de S3 e S7.

Para a variável número de brotos, o S1 apresentou em média 1,8 brotos, diferindo significativamente de S3 e S7. O número de brotos é muito importante na comercialização das orquídeas, visto que, quanto maior o número de brotações, maior será o número de flores.

Faria et al. (2001) obtiveram bons resultados em relação ao número de brotos mediante a substituição do xaxim por vermiculita no cultivo de *Oncidium baueri* e pelas misturas de vermiculita + carvão e vermiculita + palha de arroz carbonizada no cultivo da espécie *Maxillaria picta*.

Análise referente ao comprimento da maior raiz indicou que o S5 diferiu significativamente de S2, S3, S4 e S7. No entanto, não ocorreram diferenças entre xaxim e os demais substratos (Tabela 1). Bellé (1999) relatou que a substituição do xaxim por cascas de *Pinus elliotti* ocasionou redução no crescimento das raízes da parte aérea da orquídea *Maxillaria consanguínea*.

Para a variável massa seca de raízes, o substrato que apresentou menores valores foi S5, diferindo significativamente de S3, S4 e S7.

Em relação aos diferentes substratos a base de coco utilizados neste experimento, os tratamentos contendo coco desfibrado e coco em pó (S2, S3 e S4) mostraram-se superiores aos tratamentos contendo coco em cubos (S5) para a maioria das variáveis estudadas. No entanto, quando o coco em cubos foi utilizado em mistura com coco em pó, o desenvolvimento da espécie em estudo foi favorecido. Podemos argumentar que a maior retenção de umidade proporcionada pelo coco em pó, associada ao aumento no espaço de aeração promovido pelo coco em cubos, pode ter favorecido os resultados obtidos pela mistura dos dois substratos à base de coco acima descritos.

Existe uma grande diversidade de substratos e misturas a serem utilizados no cultivo de orquídeas visando à substituição do xaxim, mas seu sucesso depende da espécie e do tipo de ambiente onde será efetuado o cultivo (Araújo, 2004; Rodrigues, 2001).

## CONCLUSÃO

O xaxim pode ser substituído por coco desfibrado e pela mistura de coco em pó com coco em cubos no cultivo da orquídea *Dendrobium nobile* Lindl.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, D. *Tipos de substratos e suportes para orquídeas epífitas*. Disponível em: < <http://www.orchidsnews-arquivos/forumbr2.htm>>. Acesso em: 25 jan. 2004.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. *Experimentação agrícola*. 3. ed. Jaboticabal: Funep, 1995.

BELLÉ, S. Substrato para o cultivo de *Maxillaria consanguinea* var. *pallida* Hoehne. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 1., 1999, Porto Alegre. Resumos... Porto Alegre, 1999. p.55-56.

BEZERRA, F.C.; ROSA, M.F.; BRÍGIDO, A .K.L.; NORÕES, E.R.V. Utilização de pó de coco como substrato de enraizamento para estacas de crisântemo. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas, v.7, n.2, p.129-134, 2001.

FARIA, R.T.; REGO, L.V.; BERNARDI, H.B.; MOLINARI, H.B. Performance of different genotypes of Brazilian orchid cultivation in alternatives substrates. *Brazilian Archives of Biology And Technology*, Curitiba, v. 44, n.4, p. 337-342, 2001.

KÄMPF, A.N. *Produção comercial de plantas ornamentais*. Porto Alegre: Ed. Agropecuária, 2000.

NUNES, M. U. C. *Produção de mudas de hortaliças com o uso da plasticultura e do pó de coco*. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2000. 29p.

OSHIRO, L.; DEMATTÊ, M. E. S. P. Substratos e fertilizantes no crescimento e na floração de *Aechmea fasciata* Bak (Bromeliaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 12. 1999, Jaboticabal. *Resumos...* Jaboticabal: SBFPO, 1999. p.70.

RODRIGUES, V.T. *Substratos e cultivo*. Boletim da Coordenadoria das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB), Rio de Janeiro, n. 44, p. 50-54, 2001.

SILVA, W. *Cultivo de orquídeas no Brasil*. São Paulo, SP: Nobel, 1986. 96 p.

SOUZA, M. Muito além do xaxim. *Natureza*, São Paulo, 182.ed., n.2, p.32-37, 2003.

WALDEMAR, C.C. A experiência da DMLU como fornecedor de resíduos úteis na composição de substratos para plantas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 1., 1999. Porto Alegre. *Resumos...* Porto Alegre, 1999. p. 171-176.

PALAVRAS-CHAVE: *Dendrobium nobile* Lindl., *Dicksonia sellowiana* Hook., fibra de coco, preservação.



## Uso de diferentes substratos no cultivo da bromélia ornamental *Tilandsia cyanea*

Barbosa, Gustavo Caldeira Victor<sup>1</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>2</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>, Paula, Cláudio Coelho<sup>3</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>2</sup>; Santos, Nerilson Terra<sup>4</sup>; Mesquita, Eliane Rezende<sup>5</sup>; Barros, Aline Ferreira<sup>1</sup>; Assis, Sabrina Paula<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, e-mail: [gustavovictor@msn.com](mailto:gustavovictor@msn.com); <sup>2</sup>Professor do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-2613, e-mail: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br), [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br), [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br); <sup>3</sup>Professor do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1953, e-mail: [ccpaula@ufv.br](mailto:ccpaula@ufv.br); <sup>4</sup>Professor do Departamento de Estatística da Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, CEP:36571-000, Viçosa, Minas Gerais, fone: (31) 3899-1487; [nsantos@dpi.ufv.br](mailto:nsantos@dpi.ufv.br) <sup>5</sup> Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa

A fibra de xaxim (*Dicksonia selowiana* Hook) vem sendo utilizada há vários anos como principal componente de substratos para cultivo de bromélias. Devido ao fato de ser uma matéria-prima oriunda de extrativismo, o uso dessa fibra é cada vez menos recomendado, já que o xaxim está na Lista das Plantas Ameaçadas de Extinção da Mata Atlântica. Visando estudar materiais de fácil disponibilidade e baixo custo para substituição parcial ou total do xaxim, 26 tratamentos (T) experimentais, obtidos por combinações de substratos contendo areia (A), fibra de coco maduro (FC), casca de pinus (CP), casca de eucalipto (CE), casca de arroz carbonizada (CA), substrato comercial Plantmax®, substrato comercial Minas Fértil e fibra de xaxim em diferentes proporções de peso, foram utilizados no cultivo de *Tilandsia cyanea*. Após oito meses do transplântio das mudas, avaliaram-se os seguintes parâmetros: sistema radicular, número de folhas, número de perfilhos, diâmetro médio da planta, altura da planta e diâmetro da roseta foliar. Os tratamentos T1 (A: 20 CP: 20 FC: 20 CE: 20 CA: 20), T6 (FC: 50 CA: 50), T12 (CP: 33 FC: 33 CE: 33), T16 (CP: 50 X: 50), T17 (FC: 50 X: 50) e T26 (Substrato Minas Fértil), apresentaram desempenho equivalente ao tratamento testemunha T25 (fibra de xaxim) em todos parâmetros avaliados.

Palavras - chave: Bromeliaceae, fibra de xaxim, ornamental.

## **Avaliação do crescimento e produção de antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.) variedade Apalai sob diferentes cores de telas de sombreamento.**

Nomura, Edson Shigueaki<sup>1</sup>; Lima, Juliana Domingues<sup>2</sup>; Rodrigues, Domingos Sávio<sup>1</sup>; Garcia, Valéria Augusta<sup>1</sup>; Modenese-Gorla da Silva, Silvia Helena<sup>2</sup>; Fuzitani, Eduardo Jun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadores Científicos do Pólo Regional de Desenvolvimento Sustentável dos Agronegócios do Vale do Ribeira, APTA Regional, Rod. Régis Bittencourt, BR-116, Km 460, CP. 122, Registro, São Paulo, CEP 11900-000, fone (13) 3856-1656, e-mail: [edsonnomura@aptaregional.sp.gov.br](mailto:edsonnomura@aptaregional.sp.gov.br), [domingos@aptaregional.sp.gov.br](mailto:domingos@aptaregional.sp.gov.br), [valeria@aptaregional.sp.gov.br](mailto:valeria@aptaregional.sp.gov.br). <sup>2</sup>Professoras Assistente, UNESP, Campus Experimental de Registro, Rua Tamekichi Takano, 05 - Registro, São Paulo, CEP 11900-000, fone (13) 3828-2900, [judlima@registro.unesp.br](mailto:judlima@registro.unesp.br), [silvia@registro.unesp.br](mailto:silvia@registro.unesp.br). Eng. Agr. Responsável técnico pelo laboratório de produção de mudas – BIOVALE, Rod. Régis Bittencourt, BR-116, Km 460, CP. 122, Registro, São Paulo, CEP 11900-000, fone (13) 3856-1656, e-mail: [jundu@bol.com.br](mailto:jundu@bol.com.br);

### **INTRODUÇÃO**

A produção e a comercialização de flores tropicais se bem praticadas poderá trazer retorno significativo aos empresários que se dedicam a este agronegócio, além de garantir emprego e renda no meio rural por desenvolver oportunidades na agricultura familiar. Além disso, pode ser praticada por pequenos produtores, desde que estejam reunidos em alguma forma de parceria ou associativismo.

No primeiro bimestre de 2007, as exportações de flores e plantas ornamentais somaram aproximadamente US\$ 5,5 milhões, com crescimento de 24,5%, comparados com o mesmo período do ano anterior (Junqueira & Peetz, 2007).

A região do Vale do Ribeira concentra uma grande área preservada da Mata Atlântica, considera o patrimônio da Humanidade. Possuem cerca de 475 ha e 65 unidades de produção agrícola (UPAs) com a produção de flores e plantas ornamentais (Lupa, 1998).

O antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.), é a principal planta explorada no Vale do Ribeira, é um membro da família Araceae, que inclui mais de 100 gêneros e cerca de 1.500 espécies. Possui grande valor ornamental, comercializado como planta de vaso, para jardins interiores e locais com pouca incidência de sol. Como flor de corte, seu uso cresce cada vez mais, por causa da sua durabilidade e conformação típica. O mercado mundial de antúrio está em segundo lugar, perdendo somente para orquídeas, entre as flores de corte tropicais (Galinsky & Laws, 1996).

Os produtores de antúrio tradicionalmente cultivam esta planta sob tela de polietileno de coloração preta e sombreamento variando de 50 a 80%, dependendo da época do ano. No entanto, o manejo do espectro da radiação luminosa pode ser feito por meio do uso de telas de polietileno coloridas com diferentes níveis de sombreamento (Kittas et al., 1999). É conhecido que pequenas diferenças na transmitância de um material à radiação solar ou pequenas alterações na qualidade espectral dessa radiação pode ter efeito significativo no crescimento e desenvolvimento de uma cultura vegetal. Para antúrio, não existem resultados em literatura que mostrem os efeitos de telas de diferentes cores no crescimento, desenvolvimento e produção.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e produção de antúrio da variedade 'Apalai' sob quatro diferentes cores de telas de sombreamento.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado na propriedade do Sr. Sigeo Fuzitani, localizado no município de Pariqueira-açú, SP. O material vegetal utilizado foi *Anthurium andraeanum* var. 'Apalai', obtido pelo programa de seleção do Instituto Agrônomo de Campinas. O plantio foi realizado em agosto de 2004, em canteiros de 1,2 m de largura e espaçamento entre planta de 40 cm. No plantio, as plântulas apresentavam em torno de 20 cm de altura, sendo provenientes da cultura de tecidos.

As adubações foram estabelecidas segundo a análise química do solo e da recomendação proposta por Raij et al. (1997), sendo realizadas a cada dois meses, distribuindo-se 20 gramas por planta da formulação NPK 10-10-10.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, ChromatiNet® Azul 70%, ChromatiNet® Vermelha 70%, Aluminet® 70% e tela de sombreamento Preta 70%, com quatro repetições e quatro plantas úteis por parcela.

As avaliações foram realizadas semanalmente durante 12 meses sendo iniciadas 24 meses após o transplante, a partir do corte das folhas e flores velhas, mantendo-se somente quatro folhas em cada planta. As inflorescências foram colhidas quando a espádice apresentava metade a três quartos das flores verdadeiras abertas, em seguida foram tomados o comprimento da haste floral (Chf), o comprimento máximo e a largura máxima da espata (Cesp, Lesp) e o comprimento da espádice (Cesd).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, sendo que quando significativo, as médias dos tratamentos comparadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1A observa-se que o número de inflorescências foi maior nas telas de sombreamento preta e Aluminet®, cujas produziram respectivamente, 5,94 e 5,86 hastes florais. O menor intervalo de florescimento foi obtido em plantas cultivadas sob Aluminet®, não havendo diferenças significativas para esta variável entre plantas cultivadas sob as demais telas (Figura 1B).

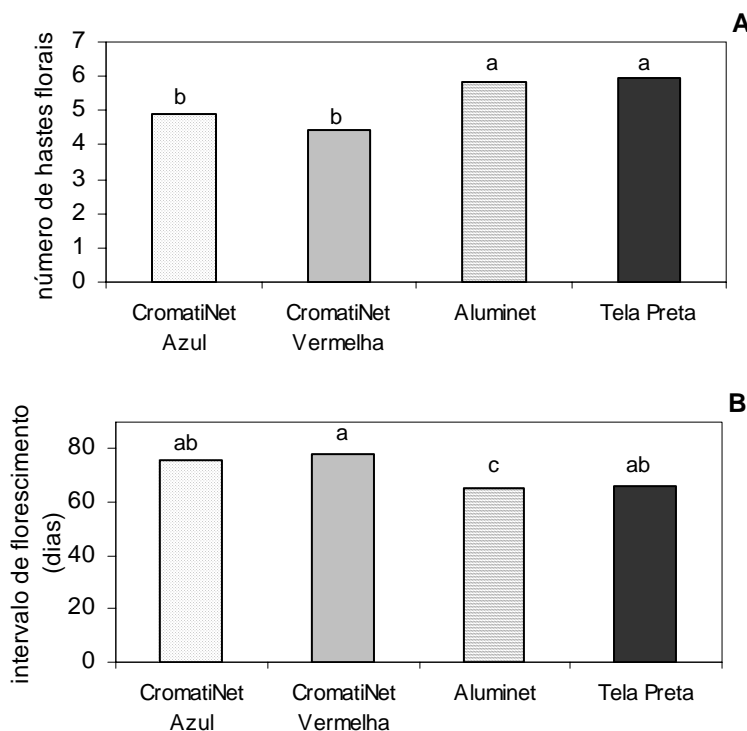


FIGURA 1. Número médio de hastes florais (A) e intervalo de florescimento (B) em plantas de antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.) variedade Apalai cultivadas sob diferentes cores de telas de sombreamento. Pariquera-açu/SP, 2006.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para o comprimento da haste floral, a tela de sombreamento preta proporcionou os melhores resultados, com uma média de 41,42 cm de comprimento (Figura 2A), não havendo diferenças entre os demais tratamentos. Para o comprimento da espata a tela de sombreamento preta também proporcionou a melhor condição (Figura 2B).

Para largura da espata, o melhor resultado foi obtido para tela preta, seguido do Aluminet®, e do ChromatiNet® Azul e Vermelho, que não diferiram entre si (Figura 2C). O maior comprimento da espádice também foi apresentado por plantas cultivadas sob tela preta (Figura 2D).

As malhas termo-refletoras, além de promover o sombreamento, possuem algumas características que diferem das malhas negras de sombreamento como a conservação de energia no ambiente, a reflexão de parte da energia solar, a redução da temperatura no verão e o aumento da temperatura no inverno, além de promover a difusão da luz, aumentando a eficiência da fotossíntese.

Para algumas plantas, a luz vermelha tem influência no desenvolvimento das plantas promovendo maior alongamento do caule e florescimento, bem como alterações na condutância estomática (Schuerger et al., 1997). Para luz azul, tem sido descritos inúmeras respostas relacionadas com o processo de síntese de pigmentos e enzimas, com a abertura e fechamento estomático, além de processos fotomorfogênicos (Schurger et al., 1997).

Observa-se que as telas ChromatiNet® Azul e ChromatiNet® Vermelha, onde a luz que passa possui um poder de radiação maior (BRAGA, 2006), provavelmente provocaram mudanças negativas no ambiente de cultivo das plantas, que se refletiram no desenvolvimento de um menor número de inflorescências e redução nas dimensões da haste floral de antúrio, o que não é viável do ponto de vista comercial. Assim como todos os fatores que influenciam o desenvolvimento e o crescimento de uma planta, a resposta à qualidade de luz também depende da espécie em estudo (Schuerger et al., 1997; Antonopolou et al., 2004) e, portanto devem ser estudados em função da espécie e da cultivar que se deseja produzir.

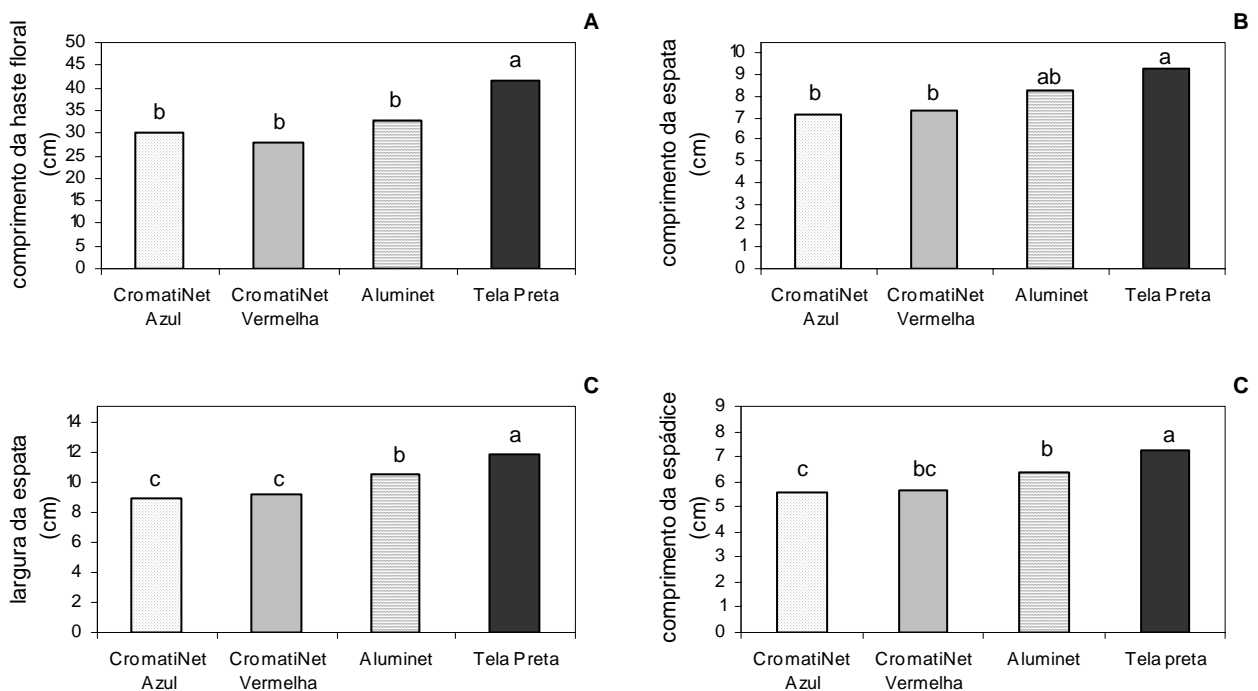


FIGURA 2. Características morfológicas de hastes florais de antúrio (*Anthurium andraeanum* Lind.) variedade Apalai produzidas sob diferentes cores de telas de sombreamento: comprimento da haste floral (A); comprimento da espata (B); largura da espata (C); comprimento da espádice (D). Pariquera-açu/SP, 2006. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

## CONCLUSÃO

Para as condições experimentais testadas conclui-se que a tela de sombreamento preta com 70% de sombreamento proporcionou a melhor condição de cultivo e produção de hastes florais. Entretanto, recomendam-se outros estudos para avaliar a possibilidade de utilização de telas ChromatiNet® Azul e ChromatiNet® Vermelha com maiores níveis de sombreamento ou a utilização de duas telas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANTONOPOLOU, C. et al. The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient concentrations of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, Copenhagen, v.48, n.4, p.549-553, 2004.

BRAGA, F.T. Ambiente de cultivo na propagação *in vitro* de Crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev cv. Rage): características anatômicas e fisiológicas, 2006, 119p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, MG.

GALINSKY, R.; LAWS, N. *Anthurium* market. RAP **Market Information Bulletin**, No. 11, 1996.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. Exportações de flores e plantas ornamentais 25% maiores em 2007. **HORTICA Consultoria e Treinamento**, 2007.

KITTAS C.; BAILLE A.; GIAGLARAS P. Influence of Covering Material and Shading on the Spectral Distribution of Light in Greenhouses. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 73, 341-351, 1999.

**Levantamento das Unidades de Produção Agrícola – LUPA**, 1998.

RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo – Boletim 100**, 2ª ed., 1997.

SCHUERGER, A.C.; BROWN, C.; STRYJEWSKI, E.C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v.79, n.3, p.273-282, 1997.

PALAVRAS-CHAVES: *Anthurium andraeanum*; sombreamento; qualidade de luz

## Desenvolvimento de *Heliconia psittacorum* L.f. em vaso, sob diferentes modos de adubação orgânica e mineral

Pinto, Sabrina Aparecida<sup>1</sup>; Zuin, Affonso Henrique Lima<sup>2</sup>; Santos, Glaucio Leboso Alemparte Abrantes dos<sup>3</sup>; Alvarenga, Ricardo Camilo Eisenberg de<sup>3</sup>; João, Tiago Moisés<sup>3</sup>; Cunha Tiago Garcia da<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Mestrado da Universidade Federal de Viçosa Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 8441-4186, e-mail: [sabris\\_ap@hotmail.com](mailto:sabris_ap@hotmail.com)

<sup>2</sup>Professor Adjunto II, PhD, Universidade Federal de Viçosa – Dept. Fitotecnia – Setor de Floricultura, Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 3899-1168, e-mail: [zuin@ufv.br](mailto:zuin@ufv.br);

<sup>3</sup>Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa Campus Universitário, 36570-000 Viçosa- MG, fone (31) 9319-1914, email: [glaucioalemparte@gmail.com](mailto:glaucioalemparte@gmail.com).

### INTRODUÇÃO

A floricultura tropical é uma atividade em ascensão no Brasil, destacando-se como um agronegócio gerador de renda, fixador de mão-de-obra no campo e adequado como cultura alternativa para pequenos produtores. Dentre as plantas tropicais exploradas destacam-se as da família Heliconiaceae, que vegetam naturalmente ou são exploradas em plantios convencionais na faixa tropical da América, Ásia e Pacífico Oeste (ASSIS *et al.*, 2002). O gênero *Heliconia* é o único representante da família Heliconiaceae, a qual pertence à ordem Zingiberales. Podem ser encontradas em altitudes que variam de 0 a 2.000 metros e, em geral, se desenvolvem em ambientes úmidos. Ocorrem em locais sombreados, como florestas e matas ciliares, ou a pleno sol, como bordas de florestas, clareiras e beiras de estrada (ANDERSON, 1989, citado por CASTRO & GRAZIANO, 1997). Podem ser plantadas em solos de diversas texturas, com pH entre 4,5 e 6,5. Entretanto, o estabelecimento da cultura em solos muito ácidos faz com que as plantas amareleçam e tenham o desenvolvimento comprometido (PAIVA, 1998). A *Heliconia psittacorum* L.f., nativa do Brasil, caracteriza-se por apresentar arbusto rizomatoso, de textura herbácea, entouceirado, ereto, de 1.5-2.0 m de altura e de florescimento ornamental. As folhas são oval-lanceoladas, subcoriáceas, lisas, com pecíolo curto apresentando limbo, pecíolo e bainha, e no pseudocaulé são opostas e dispostas em duas fileiras verticais (dísticas). O pseudocaulé é formado pelo ápice envolto por sobreposição das bainhas das folhas (BERRY & KRESS, 1991). Estas têm valor comercial no mercado de folhagens por apresentarem uma cor exuberante e um tempo pós-colheita considerável. As inflorescências são muito duráveis, curtas, sobre hastes longas, eretas, com brácteas em forma de barco, finas, de bases longas, vermelhas e amarelas, formadas durante quase todo o ano. É uma das espécies de helicônias mais cultivadas. Multiplica-se por divisão de touceiras, efetuada em qualquer época (LORENZI, 2001). O sistema orgânico de cultivo requer mão de obra em maior quantidade e mais cara, mas a não utilização de insumos como fertilizantes nitrogenados (os mais caros) é fator de redução de custos. O maior valor dos produtos orgânicos no mercado e algumas vezes maiores produções que no sistema convencional, fazem com que o lucro de um produtor orgânico seja igual ou maior que de um convencional. Os elementos mais exigidos pela cultura das heliconiaceas são o nitrogênio, potássio, fósforo, magnésio, ferro e o manganês. A adubação recomendada é parcelada em duas a três vezes ao ano com três kg/m<sup>2</sup> da fórmula 18-6-12, que resulta num rápido desenvolvimento e florescimento e não afeta negativamente na qualidade floral (CASTRO, 1995). O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de fontes orgânicas e minerais e o modo de aplicação, para desenvolvimento de plantas de *Heliconia psittacorum* L.f. em vaso visando o cultivo orgânico para pequenos produtores.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no setor de floricultura da Universidade Federal de Viçosa, sobre bancada, sob sombreamento de 50%, irrigação controlada e em vasos plásticos de 5L. Foi implantado em junho de 2005, obedecendo o

delineamento experimental DBC, com 9 tratamentos, 4 repetições e duas plantas por unidade experimental. O substrato base foi solo de horizonte C latossolo vermealho-amarelo, retirado do próprio setor de floricultura da Universidade Federal de Viçosa, MG + areia de construção lavada (1:1). As mudas, com cerca de 20cm de altura, foram obtidas de rizomas da mesma touceira, cultivada a pleno sol no setor de floricultura da instituição. Os tratamentos de adubação foram:

- T1 – testemunha absoluta (sem adubação);
- T2 –orgânica com resíduos vegetais secos e esterco caprino não compostados (9% de umidade);
- T3 –composto orgânico de resíduos vegetais e esterco bovino (42% de umidade),
- T4 –mineral sob forma de adubo granulado 16g de 15-3-30 + 2,4g de MAP no plantio + 12g de Sulfato de Amônio em cobertura (45 e 90 dias);
- T5 –mineral em fertirrigação, dividida em 16 aplicações;( 16g de 15-3-30 + 2,4g de MAP+ 12g de Sulfato de Amônio)
- T6 –orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T2 +  $\frac{1}{2}$  de T4;
- T7 –orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T2 +  $\frac{1}{2}$  de T5;
- T8 –orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T3 +  $\frac{1}{2}$  de T4; e T9 –orgânica x mineral  $\frac{1}{2}$  de T3 +  $\frac{1}{2}$  de T5.

Foram avaliadas ao longo do experimento e aos 395 dias do plantio:

- Área foliar -AF: Após o corte e pesagem das folhas, estas foram submetidas ao medidor de área foliar sob luz fluorescente. (somente realizada aos 395 dias)
- Altura da planta -AP: Mediu-se a altura da planta mais alta do vaso com trena, considerando-se do coleto da planta até o ápice da folha mais alta.
- Número de folhas -NF: contou-se o número de folhas com pelo menos 50% de expansão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média dos resultados das unidades experimentais sofreu análise de variância, com teste de Duncan para comparação das médias a 5% de probabilidade (Tabela 1). Altura da planta: A análise da variância demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa entre efeitos dos tratamentos ( $p = 5\%$ ). Na avaliação, a maior média total de altura de planta foi obtida no tratamento 2, não diferindo dos tratamentos 6 e 7. A testemunha apresentou a menor média para altura de plantas, não diferindo dos tratamentos 4 e 5. Todos os tratamentos que obtiveram maiores médias estão relacionados com a mistura não compostada. Área foliar: A análise da variância demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ( $p = 5\%$ ). Na avaliação, a maior média total de área foliar obtida foi a do tratamento 2, não diferindo dos tratamentos 6, 7 e 9. A testemunha novamente apresentou a menor média, não diferindo dos tratamentos 4 e 5. Número de folhas: A análise da variância demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ( $p = 5\%$ ). Na avaliação, a maior média total de número de folhas obtida foi a do tratamento 2, não diferindo dos tratamentos 6,7 e 9. Percebe-se que em todas as variáveis analisadas o T2 obteve melhores resultados, sugerindo que é possível e positiva a utilização de restos vegetais da propriedade sem a compostagem para uso em adubação orgânica de helicônias. Esta prática pode facilitar o manejo para o produtor, que poderá obter resultados iguais ou melhores do que com uso de materiais compostados, além de economizar tempo e mão de obra. Entretanto, o volume necessário para o sucesso obtido foi grande (Figura1), podendo onerar o custo final do cultivo se o material orgânico não estiver disponível na propriedade. Neste caso isto pode ser contornado empregando-se os tratamentos 6 ou 7, obtendo resultados similares ao T2, mas com apenas 50% do volume total da mistura não compostada.

**Tabela 1.** Análise de variância para as variáveis: AP-altura da planta(m), AF-área foliar (cm<sup>2</sup>) e NF-número de folhas (unidade), aos 395 dias do plantio, em função das adubações orgânicas e mineral. Média de 4 repetições.

*TRAT/ **VAR	AP	AF	NF
unid	m	cm <sup>2</sup>	un
T1	0.35 D	339.78 C	6.38 C
T2	1.30 A	3616.77 A	20.50 A
T3	0.83 C	2062.32 B	15.75 B
T4	0.48 D	1037.41 C	9.13 C
T5	0.46 D	831.31 C	8.63 C
T6	1.25 A	3497.82 A	20.00 A
T7	1.11 AB	3373.45 A	20.38 A
T8	0.91 BC	2322.09 B	16.38 B
T9	0.95 BC	3436.28 A	20.13 A
CV%	17.47	20.60	14.49
GLR			
M	0.85	2279.69	15.25

Os valores da mesma coluna com letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

\*Variáveis avaliadas:

AP = altura da planta

AF = Área foliar

NF = Número de folhas

\*\* Tratamentos:

T1 testemunha absoluta;

T2 adubação mistura não compostada;

T3 adubação orgânica composto agro;

T4 adubação mineral granulado;

T5 adubação mineral fertirrigação;

T6 adubação orgânica x mineral ½ de T2 + ½ de T4;

T7 adubação orgânica x mineral ½ de T2 + ½ de T5;

T8 adubação orgânica x mineral ½ de T3 + ½ de T4;

T9 adubação orgânica x mineral ½ de T3 + ½ de T5;



**Figura1.** A - Visualização dos vasos com os respectivos tratamentos utilizados; B - Volume necessário para o sucesso obtido, ½ do químico pa 2x do orgânico.

As adubações com fontes químicas isoladas independentes da forma de aplicação devem ser melhores estudadas devido ao alto índice de salinização verificado como se pode ver na Figura 2.





**Figura 2.** Efeito de salinização dos tratamentos 100% químicos

- A- Flocos de sais
- B- Sintoma da salinização na base da planta
- C- Sintoma final nas plantas (morte)

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram melhor desenvolvimento de plantas sob adubação orgânica que sob adubação mineral quando aplicadas isoladamente. Os melhores resultados dentre as fontes orgânicas utilizadas foram obtidos para a mistura de resíduos vegetais secos não compostados, mostrando sua adequação e superioridade no cultivo de *Heliconia psittacorum*.

O uso das combinações dos dois tipos de adubação (orgânico e mineral) pode minimizar a quantidade de mistura vegetal utilizada, já que os resultados das combinações foram estaticamente iguais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, S.M.P., MARINHO R.R.L., GONDIM Jr., M.G.C., MENEZES, M. & ROSA, R.C. T. **Doenças e pragas de helicônias. Diseases and pests of heliconias.** Recife: UFRPE. 2002.

BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: an identification guide.** 1 ed. Washington: Smithsonian Institution Press, 1991. 334 p.

CASTRO, C. E. F. de. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção.** Brasília, DF: Embrapa – SPI, 1995. 43 p.

CASTRO, C. E. F. de.; GRAZIANO, T. T. REVISTA BRASILEIRA DE HORTICULTURA ORNAMENTAL. N.2, 1997, Campinas. **Espécies do gênero Heliconia (Heliconiaceae) no Brasil.** Campinas, v. 3, p. 15-28.

LORENZZI, **Plantas Ornamentais no Brasil.** São Paulo: Plantarum, 2001

MALAVOLTA, Eurípides. **Adubos e Adubações.** Edição revisada. São Paulo: Nobel, 2002. 200p.

PAIVA, W.O. de. **Cultura de helicônias.** Fortaleza: Embrapa-CNPAT. 20 p. 1998. (Embrapa-CNPAT. Circular Técnica, 2).

## PALAVRAS-CHAVE

*Heliconia psittacorum*, floricultura tropical, resíduos vegetais, adubação orgânica.

## **Efeito da aplicação de daminozide em roseiras para vaso cv. Button's Boys e Yellow Doll.**

Matiello, Hediberto Nei<sup>1</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>2</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>2</sup>; Matiello, Cirlei Pereira Guss<sup>3</sup>. Ribeiro Júnior, José Ivo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa-MG, Av. PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP:36570-000, Viçosa-MG, fone:(31)3892-3081, e-mail: [neimatiello@yahoo.com.br](mailto:neimatiello@yahoo.com.br),

<sup>2</sup>Professor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da UFV, e-mails: [jgrossi@ufv.br](mailto:jgrossi@ufv.br), [jgeraldo@ufv.br](mailto:jgeraldo@ufv.br); <sup>3</sup> Mestranda em Biologia Celular e Estrutural da UFV, e-mail: [cirlei\\_guss@hotmail.com](mailto:cirlei_guss@hotmail.com);

<sup>4</sup>Professor do Departamento de Informática da UFV, e-mail: [jivo@dpi.ufv.br](mailto:jivo@dpi.ufv.br)

Rosas cultivadas em vaso devem ter adequada proporção entre a parte aérea e as dimensões do vaso. Retardantes de crescimento podem melhorar as características de porte, floração e coloração das folhas. Daminozide é um retardante do crescimento de plantas, aplicado na parte aérea, que inibe a biossíntese de giberelina e promove o aumento no número de brotos e botões florais em plantas cultivadas em vaso. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da pulverização de daminozide nas características das cultivares Yellow Doll e Button's Boys. Mudas foram transplantadas para vasos de 0,5L preenchido com substrato Bioplant<sup>®</sup>. Após trinta dias as plantas foram podadas a 7 cm de altura. Quando a brotação atingiu cerca de 5 cm procedeu-se a pulverização na parte aérea das plantas por uma ou duas vezes (intervalo de 5 dias) com solução contendo daminozide (B-Nine 85%) nas concentrações de 0, 1000, 2000 e 4000 mg.L<sup>-1</sup>. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três repetições em esquema fatorial 2x4x2. Foram avaliados altura e diâmetro das plantas, coloração das folhas, comprimento dos entre-nós, número e diâmetro dos botões florais. A análise de variância demonstrou significância nas características altura e diâmetro das plantas, e comprimento dos entre-nós. As doses utilizadas não afetaram a coloração das folhas, medida pela determinação do teor de clorofila e pelo índice SPAD. Maiores doses e número de aplicações devem ser testados para roseira cultivada em vaso.

### **PALAVRAS-CHAVE**

*Rosa* sp., B-Nine, retardante, giberelina.

## **Características organolépticas de variedades de pimenta com potencial ornamental.**

Ana Maria Mapeli<sup>1</sup>; Cleide Maria Ferreira Pinto<sup>2</sup>; Janaina Miranda Barbosa<sup>3</sup>; Fernanda B. Segatto<sup>1</sup>; José Geraldo Barbosa<sup>4</sup>; Fernando L. Finger<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>UFV, Dept° de Biologia Vegetal, Viçosa – MG; <sup>2</sup> Pesquisadora EMBRAPA/EPAMIG, CEP 36570-000 Viçosa – MG; <sup>3</sup>UFV, Dept de Engenharia de Alimentos; Viçosa – MG; <sup>4</sup>UFV, Dept° de Fitotecnia, Viçosa – MG; e-mail: jgeraldo@ufv.br.

O cultivo de espécies ornamentais comestíveis com atributos medicinais, e mesmo condimentares, em vaso, está se tornando cada vez mais comum e constitui uma agradável opção de lazer, além da finalidade alimentícia. Assim, com o objetivo de determinar as características bioquímicas responsáveis pela palatabilidade dos frutos, implantou-se um experimento utilizando-se o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos de oito variedades de pimenta (Bico, MG, Fafá, Roxa, Nande, Dinha, e Olho de peixe e Malagueta). Foram avaliados o teor de sólidos solúveis (TSS), expresso em °Brix, obtidos pelo uso do refratômetro do tipo Abbé, em uma amostra de três gramas de frutos maduros de cada unidade experimental bem como o teor de vitamina C (Vit C), segundo o método titulométrico de Tillmans descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (1985). Cerca de um grama da polpa do fruto fresco foi macerado em solução ácida. Nessa solução foram dissolvidos 30 g de ácido metafosfórico e 80 mL de ácido acético por litro. Esse macerado foi filtrado e titulado com solução de Tillmans. Os resultados mostraram que houve uma diferença significativa entre as variedades, sendo que Dinha e Roxa apresentaram maiores conteúdos de vitamina C, 160,9 e 134,2 mg/100g de peso fresco, valores dentro da faixa encontrada em pimentas, inferiores aos encontrados em frutos de goiaba (250 mg/100g de peso fresco), mas expressivamente superiores aos encontrados em frutos de laranja (60 mg/100g de peso fresco). O teor de sólidos solúveis mais elevado foi encontrado na variedade MG (12,45 °Brix). Assim pode-se indicar o cultivo destes acessos devido às suas características desejáveis para o consumidor e indústrias alimentícias, além do efeito ornamental.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Capsicum* spp., pimenta, plantas ornamentais, vitamina C, teor de sólidos solúveis.

## **Cultivo de pimentas ornamentais comestíveis em vaso.**

Cleide Maria Ferreira Pinto<sup>1</sup>, Janaina Miranda Barbosa<sup>2</sup>, José Geraldo Barbosa<sup>3</sup>, Ana Maria Mapeli<sup>4</sup>, Fernanda Bastos Segatto<sup>4</sup> e Fernando Luiz Finger<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pesquisadora EMBRAPA/EPAMIG, CEP 36570-000 Viçosa – MG; <sup>2</sup>UFV, Dept de Engenharia de Alimentos, CEP 36570-000, Viçosa – MG; UFV; <sup>3</sup>Dept° de Fitotecnia, CEP 36570-000 Viçosa – MG; <sup>4</sup>UFV, Dept° de Biologia Vegetal, Viçosa – MG; e-mail: jgeraldo@ufv.br.

O porte das plantas cultivadas em vaso está estreitamente relacionado com o genótipo e pode ser harmonizado disciplinando-se o crescimento das mesmas pelo tamanho de recipientes, uso de reguladores, podas, dentre outros. Desta forma, mesmo os genótipos de crescimento mais expressivo podem ser cultivados em vaso, tendo o seu porte monitorado, de forma a se obter uma harmonia de planta que agrade ao consumidor. Assim, para verificar o potencial do cultivo de pimentas ornamentais comestíveis, 7 variedades (Biquinho, Olho de Peixe, MG 301, Fafá, Roxa, Dinha e Nande) foram cultivadas em vasos de diferentes volumes (300, 600, 900 e 1600mL; altura/diâmetro: 7/10; 9/11; 12/14; 13/16 cm), utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados com parcelas subdivididas, sendo as 7 variedades dispostas nas parcelas e quatro volumes de recipientes nas subparcelas, com 4 repetições. Os frutos maduros da variedade Olho de peixe são de cor amarela e das demais variedades de cor vermelha. A variedade Fafá, com altura/diâmetro médio de 10,5/14,2 cm, pode ser cultivada nos dois recipientes menores, enquanto as variedades Biquinho, Dinha e Nande, cujos valores foram de 22,8/20, 24,5/25,8, e 19/27 cm, respectivamente, devem ser cultivadas nos recipientes de 600 e 900mL. Já, as variedades MG 301, Roxa e Olho de Peixe atingiram maior porte e diâmetro (42/28, 41,5/35,5 e 37/35 cm, respectivamente) podendo ser cultivadas nos maiores recipientes, ficando dentro do sugerido para cultivo de plantas envasadas, ou seja, que a altura da planta se encontre entre 1,5 a 2,5 vezes a altura do vaso, o que confere uma boa harmonia ao conjunto planta/vaso.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Capsicum spp.*, pimenta; harmonia de vaso; cultivo em vaso;

## **Produção de frutos de pimentas ornamentais comestíveis em vasos.**

Fernanda B. Segatto<sup>1</sup>; Cleide Maria Ferreira Pinto<sup>2</sup>; Janaina Miranda Barbosa<sup>3</sup>; Ana Maria Mapeli<sup>1</sup>; José Geraldo Barbosa<sup>4</sup>; Fernando L. Finger<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>UFV, Dept° de Biologia Vegetal, Viçosa – MG; <sup>2</sup>Pesquisadora EMBRAPA/EPAMIG, CEP 36570-000 Viçosa – MG; <sup>3</sup>UFV, Dept de Engenharia de Alimentos; Viçosa – MG; <sup>4</sup>UFV, Dept° de Fitotecnia, Viçosa – MG, e-mail: jgeraldo@ufv.br.

No Brasil, a produção de pimenta vem crescendo nos últimos anos, com cultivos em regiões de clima tropical e subtropical. Este avanço pode ser atribuído às características de rentabilidade e versatilidade de aplicações culinárias, industriais, medicinais e ornamentais, principalmente devido à variabilidade genética dos frutos quanto à produção, pungência, formato, cor e sabor. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a produção de frutos de pimenta ornamental cultivados em recipientes de diferentes volumes. Para isso, 7 variedades foram cultivadas em vasos de 300, 600, 900 e 1600mL, utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados com parcelas subdivididas, sendo as 7 variedades (Bico, MG, Fafá, Roxa, Nande, Dinha e Olho de peixe) dispostas nas parcelas e os volumes dos recipientes nas subparcelas, com 4 repetições. Na época da comercialização (100% de frutos em estágio de amadurecimento) foram realizadas as seguintes avaliações: comprimento, diâmetro, número e produção de matérias fresca e seca de frutos. O comprimento e diâmetro do fruto não foram influenciados pelo tamanho do recipiente o qual influenciou a produção de todas as variedades de pimentas avaliadas, havendo uma linearidade crescente entre o volume do recipiente e o número de frutos, peso fresco e peso seco. Os pesos frescos, do menor para o maior volume, variaram de 28,7-112,6; 8,1-23,2; 18,5-31,8; 16,7-36,9; 43,8-98,6; 11,2-32,8; 10,8-34,4 g para as variedades Bico, MG, Fafá, Roxa, Nande, Dinha e Olho de peixe, respectivamente. Portanto, para se obter uma maior produção deve-se considerar, dentre outros fatores, o tamanho do vaso e o genótipo da planta.

### **PALAVRAS-CHAVES**

*Capsicum* spp., pimenta, plantas ornamentais, produção, tamanho de vaso.

## Efeito do silício na aclimatização de plantas de crisântemo.

Resende, Maria Leandra<sup>1</sup>; Manoel, Cíntia de Oliveira <sup>2</sup>; Carneiro, Daniella Nogueira Moraes <sup>3</sup>; Carelli, Mayra<sup>4</sup>; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira<sup>5</sup>

1-Mestranda do programa de Pós-graduação em Fitotecnia (UFLA), Departamento de Agricultura, NEPAFLOR, C.P. 3037 Lavras, MG CEP 37200-000, fone-(35) 3829 1781- [mleandrar@yahoo.com.br](mailto:mleandrar@yahoo.com.br) ; 2- Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), [cimanoel@uol.com.br](mailto:cimanoel@uol.com.br) ; 3- Bolsista FAPEMIG, [daninog27@yahoo.com.br](mailto:daninog27@yahoo.com.br) ; 4- Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), [mayracarelli@hotmail.com](mailto:mayracarelli@hotmail.com) 5- Professora da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone- (35) 3829 1786- [pdolivei@ufla.br](mailto:pdolivei@ufla.br) .

### INTRODUÇÃO

Para a obtenção de mudas e plantas de boa qualidade algumas técnicas são adotadas como a propagação por meio da cultura de tecidos, sendo uma alternativa para a obtenção de um grande número de plantas, em curto espaço de tempo, garantindo uniformidade genética e qualidade fitossanitária. A aclimatização consiste em uma das etapas críticas da cultura de tecidos, pois representa um estresse para as plântulas, principalmente hídrico, podendo ser também infectadas por fungos e bactérias ocorrendo a morte de plantas. O silício é o segundo elemento mais encontrado na crosta terrestre (27,7%) e o seu uso na aclimatização pode minimizar o efeito do déficit hídrico, por se acumular na cutícula das folhas deixando-as também mais resistentes. O crisântemo pertence ao gênero *Dendranthema*, família Asteraceae e é a segunda planta ornamental de vaso mais produzida no Brasil. O sucesso de sua comercialização deve-se a características como diversidade no formato, cor e tamanho das inflorescências. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do silício na aclimatização de plantas de crisântemo. Foram utilizadas mudas micropropagadas de *Dendranthema grandiflorum* cv. Rage com altura média de 5cm. Utilizou-se como fontes de silício os silicatos de sódio e de potássio nas dosagens 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mg/l mais o controle sem silício. As plantas foram acondicionadas em ambiente com nebulização intermitente em bandejas de isopor de 72 células contendo o substrato comercial Plantimax<sup>®</sup>. Após cinco dias foi aplicado o adubo foliar Biofert<sup>®</sup> na dosagem recomendada pelo fabricante de 5ml/l. Foram feitas duas pulverizações com os silicatos a cada 5 dias. Após 15 dias o experimento foi avaliado medindo-se a altura das plantas. Não houve efeito significativo da aplicação dos silicatos nas plantas de crisântemo. Portanto é necessário outros estudos a fim de determinar outras dosagens e fontes de silício que possam ser satisfatórias.

**PALAVRAS CHAVE:** *Dendranthema grandiflorum* cv. Rage, crisântemo, aclimatização, silício

## **Efeito de diferentes níveis de sombreamento em *Heliconia psittacorum* var *sassy* e *H. psittacorum* x *H. sparthocircinata* var. Golden Torch.**

Marília Carvalho<sup>1</sup>; Norma Eliane Pereira<sup>2</sup>; Gabriela Costa Oliveira<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Agronomia do DCAA/UDESC, Bolsista do Programa FAPESB, email: lyllacarvalho@gmail.com; <sup>2</sup>Docente do Curso de Agronomia do DCAA/UDESC, rod.: Ilhéus-Itabuna, km 16, Salobrinho, CEP 45650-000, Ilhéus, Bahia, fone: 73-3680-5158, email:-norma@uesc.br; <sup>3</sup>Discente do Curso de Agronomia do DCAA/UDESC, email: gabriela\_costa1@yahoo.com.br.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de tipos e níveis sombreamento em caracteres morfológicos de *Heliconia psittacorum* x *H. sparthocircinata* var. Golden Torch e *Heliconia psittacorum* var. Sassy em Ilhéus- BA. Para tal foi instalado um experimento de campo em Ilhéus, Bahia, cujo delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com sete níveis de sombreamento (1- 0% de sombreamento (a pleno sol), 2- 15% sombreamento em cobertura, 3- 50% sombreamento em cobertura, 4- 75% sombreamento em cobertura, 5- 15% de sombreamento em telado, 6- 50 % de sombreamento em telado e 7- 75% de sombreamento em telado) e duas espécies em três repetições, sendo cada vaso de 14L com uma planta considerado uma parcela experimental. Os diferentes materiais foram avaliados aos 90, 120, 150 e 180 dias após a instalação do experimento, quanto aos descritores: altura da planta, comprimento das folhas, número de folhas, largura das folhas, número de rizomas filhos, espessura do pecíolo a 1cm da base foliar e do solo. Aos 250 dias após o plantio o material também foi avaliado quanto ao peso fresco e seco da parte aérea e raiz. Os resultados mostraram haver diferença significativa para a maior parte dos caracteres em análise quanto às espécies em estudo. A análise mostrou que para o caráter altura da planta houve diferença estatística significativa entre tratamentos e espécies, sendo o tratamento 6 o que apresentou maior média não diferindo estatisticamente dos tratamentos 5 e 7, havendo interação entre espécies e tratamento. Para o caráter número de folhas somente aos 150 e 180 dias após a instalação do experimento houve diferença significativa entre tratamentos, sendo que o tratamento 7 apresentou maior média, somente diferindo estatisticamente do tratamento 4, também foi observada diferença estatística significativa entre espécies, sendo que a variedade híbrida golden torch apresentou maior número de folhas. Para o caráter largura de folhas somente houve diferença estatística significativa entre espécies, havendo interação entre espécies e tratamentos. Para o caráter comprimento de folhas foi observado que a partir de 120 dias houve diferença estatística entre tratamentos, aos 180 o tratamento 5 apresentou a maior média para este caráter diferindo dos demais. As avaliações realizadas de 90 a 150 dias após a instalação do experimento mostraram que a variedade sassy apresentou maior comprimento de folhas, diferindo da avaliação aos 180 dias em que variedade híbrida golden torch superou a variedade sassy. Para o caráter número de rizomas filhos não houve diferença estatística significativa entre tratamentos, porém houve diferença estatística significativa entre espécies sendo a maior performance observada na variedade híbrida, não havendo interação entre espécies e tratamento. Para a análise de peso fresco e peso seco não houve diferença significativa entre os tratamentos, havendo diferença significativa apenas entre espécies, com uma notória superioridade da variedade híbrida golden torch. Para a maior parte dos caracteres onde houve diferença estatística, os tratamentos 6 e 7 foram os que apresentaram melhor performance não diferindo entre si.

**PALAVRAS-CHAVE:**

Heliconiaceae, flores tropicais, manejo.

## **Influência de níveis de sombreamento no comprimento dos escapos florais de *Hippeastrum x hybridum* Herb. 'Orange Souvering'.**

Monalisa Benevides Queiroz Pellegrini<sup>1</sup>, Taís Tostes Graziano<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Agricultura Tropical e Subtropical, Rua: João Atilho Zampieri 711, Camobi, CEP: 97105-00, Santa Maria, Rio Grande do Sul, fone: (55) 81146450, email: [monalisapellegrini@yahoo.com.br](mailto:monalisapellegrini@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Pesquisadora do Instituto Agrônomo/ Centro de Horticultura, Caixa Postal 28, CEP: 13012-970, Campinas, São Paulo, fone: (19) 32419091, email: [tais@iac.gov.sp.br](mailto:tais@iac.gov.sp.br)

Os níveis de luminosidade interferem na morfologia das plantas, podendo influenciar o comprimento das hastes florais de muitas espécies. Tendo em vista que o amarílis (*Hippeastrum* spp.) possui grande potencial para ser comercializado como flor de corte e que para isso exigiria das variedades cultivadas escapos com comprimento adequados, o trabalho teve como objetivo definir um nível de luminosidade que pudesse favorecer o aumento do comprimento dos escapos florais da variedade Orange Sovereign, sem interferir na sua qualidade. Para isso foram obtidos 40 bulbos, com perímetros de classificação 24/26, que foram plantados, em outubro de 2006, em vasos tipo 16, preenchidos com substrato comercial 'Biogrow Corte Standard', com 5,8 de pH e 0,8 de EC. O experimento constou de quatro tratamentos, caracterizados por diferentes níveis de luminosidade: pleno sol, malhas (plásticas) de sombreamento branca (30%) e pretas (30% e 50%). Cada tratamento constou de dez repetições, com uma planta por parcela, em delineamento inteiramente casualizado. As avaliações foram realizadas, a cada dois dias, no ponto em que as brácteas começavam se abrir, mostrando a coloração dos botões. As variáveis analisadas foram: comprimento e perímetro dos escapos, número de botões e dias para o florescimento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). O maior comprimento encontrado foi nas plantas conduzidas sob a malha preta de 50% de sombreamento, onde o primeiro escapo das plantas atingiu 26,6 cm de comprimento e o segundo 26,9 cm, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos que ficaram entre 20,4 e 22,3 cm para o primeiro escapo floral e 17,8 e 21,9 cm para o segundo. Quanto ao perímetro e ao número de flores não foi encontrada diferença estatística entre os tratamentos. O perímetro dos escapos variou, em média, de 3,8 a 4,3 cm e o número de flores por escapo de 3,8 a 5,2. Foi observada diferença estatística em relação ao tempo para a abertura floral do primeiro e segundo escapos, sendo mais precoces as plantas cultivadas sob a malha preta com 50% de sombreamento, para o primeiro escapo floral (27 dias), e não havendo diferenças entre os tratamentos cultivados sob a proteção de malhas para o tempo de emissão da segunda haste floral, independentemente da cor e nível de sombreamento. Nestas condições, o segundo escapo floral foi emitido, em média, 37 dias após o plantio, enquanto em plantas cultivadas a pleno sol 42 dias, um ganho de 5 dias em precocidade. Mesmo que o sombreamento de 50%, com malha plástica preta, tenha favorecido o crescimento das hastes florais ele não foi suficiente para que as hastes atingissem o tamanho mínimo exigido para esse tipo de produto (40 cm), o que mostra que a variedade Orange Sovereign não é indicada para o cultivo como flor de corte e sim para cultivo em vaso.

Palavras-chaves

*Hippeastrum x hybridum*; amarílis; flor de corte; luminosidade.



## **Adensamento e produtividade de antúrio em sistema hidropônico com substrato.**

Leme, José Marcos<sup>1</sup>; Honório, Sylvio Luis<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (UNICAMP-FEAGRI), Cidade Universitária Zeferino Vaz, Caixa Postal 6011, CEP 13083-875, Campinas, São Paulo, fone (19) 3521-1075, email: [jmleme@hotmail.com](mailto:jmleme@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor da Faculdade de Engenharia Agrícola (UNICAMP-FEAGRI), Cidade Universitária Zeferino Vaz, Caixa Postal 6011, CEP 13083-875, Campinas, São Paulo, fone (19) 3521-1078, email: [honorio@agr.unicamp.br](mailto:honorio@agr.unicamp.br).

O antúrio encontra-se entre as plantas ornamentais que se adaptam ao cultivo hidropônico. Nesse sistema, o espaçamento utilizado nos canteiros para a produção de flores de corte varia de 20 cm a 25 cm entre plantas, com densidade de plantio de 25 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro a 16 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro, respectivamente. Com a finalidade de avaliar a produção de flores/m<sup>2</sup> de canteiro/mês, realizou-se o presente trabalho. O sistema hidropônico utilizado foi o cultivo em canaletas (canaletões), com fibra de coco como substrato (Golden-Mix-Misto-80) e fertirrigação por gotejamento; as densidades de plantio testadas foram: 25 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro (20 cm entre linhas e entre plantas) e 18,8 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro (26,6 cm entre linhas e 20 cm entre plantas); a variedade de antúrio cultivada foi a 'IAC Eidibel'; as mudas foram adquiridas de laboratório de cultura de tecidos; e o período de coleta de dados, até o presente momento, foi de oito meses (dos 330 dias aos 570 dias após o plantio). Os resultados obtidos foram: para a maior densidade de plantio, obteve-se uma média mensal de 10,4 flores/m<sup>2</sup> de canteiro; para a menor densidade de plantio, a média mensal foi de 10,3 flores/m<sup>2</sup> de canteiro. Levando-se em conta as médias obtidas, conclui-se que: com o adensamento do cultivo do antúrio 'IAC Eidibel' de 18,8 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro para 25 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro, o que corresponde a um aumento de 6,2 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro, não houve ganho na produtividade das plantas por metro quadrado de canteiro, durante os oito primeiros meses de produção de flores. Portanto, não se recomenda a densidade de plantio de 25 plantas/m<sup>2</sup> de canteiro para o cultivo do antúrio 'IAC Eidibel' no sistema hidropônico em canaletas com fibra de coco.

### **PALAVRAS-CHAVES**

'IAC Eidibel'; *Anthurium andraeanum*; flor de corte; cultivo sem solo.

## **Precocidade em antúrio cultivado em sistema hidropônico com substrato.**

Leme, José Marcos<sup>1</sup>; Honório, Sylvio Luis<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (UNICAMP-FEAGRI), Cidade Universitária Zeferino Vaz, Caixa Postal 6011, CEP 13083-875, Campinas, São Paulo, fone (19) 3521-1075, email: [jmleme@hotmail.com](mailto:jmleme@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor da Faculdade de Engenharia Agrícola (UNICAMP-FEAGRI), Cidade Universitária Zeferino Vaz, Caixa Postal 6011, CEP 13083-875, Campinas, São Paulo, fone (19) 3521-1078, email: [honorio@agr.unicamp.br](mailto:honorio@agr.unicamp.br).

Entre as vantagens do cultivo sem solo encontra-se a antecipação da colheita. No sistema de cultivo em canteiros, com a utilização de solo e matéria orgânica, estima-se que o início do florescimento e o início da produção de flores comerciais ocorrem aos 18 meses e 24 meses, respectivamente. Sabendo-se do aumento da demanda por produtos de qualidade e da elevação da competitividade dos mercados nacionais e internacionais, a hidroponia pode auxiliar o pequeno e o grande produtor de antúrio na busca da maior produção por área, da melhor qualidade e de melhores preços. Com a finalidade de estimar o início do florescimento e o início da produção comercial de flores de antúrios cultivados em sistema hidropônico com substrato, realizou-se o presente trabalho. O sistema hidropônico foi o cultivo em canaletas (canaletões), com fibra de coco como substrato (Golden-Mix-Misto-80) e fertirrigação por gotejamento; a variedade de antúrio cultivada foi a 'IAC Eidibel'; as mudas utilizadas foram adquiridas de laboratório de cultura de tecidos. O início do florescimento foi observado no 9º mês de cultivo (aos 270 dias após o plantio) com 11% das plantas em florescimento (106 plantas com botões florais). Quando comparado com o início do florescimento no cultivo tradicional dessa espécie, que é de aproximadamente 540 dias, esse sistema de cultivo sem solo antecipou o início da produção de flores em 270 dias, ou seja, um ganho de 50% em termos de tempo. A produção de flores comerciais iniciou-se no 13º mês de cultivo (aos 390 dias após o plantio) com 100% das plantas em florescimento e tamanho das flores variando entre 6 e 10 cm, o que resultou num ganho de 46% em termos de tempo. Portanto, o cultivo de antúrio 'IAC Eidibel' em sistema hidropônico em canaletas com fibra de coco permitiu as antecipações do início do florescimento e da produção de flores comerciais.

### **PALAVRAS-CHAVES**

'IAC Eidibel'; *Anthurium andraeanum*; flor de corte; cultivo sem solo; florescimento.

## **Desenvolvimento de antúrio em sistema hidropônico com substrato.**

Leme, José Marcos<sup>1</sup>; Honório, Sylvio Luis<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (UNICAMP-FEAGRI), Cidade Universitária Zeferino Vaz, Caixa Postal 6011, CEP 13083-875, Campinas, São Paulo, fone (19) 3521-1075, email: [jmleme@hotmail.com](mailto:jmleme@hotmail.com); <sup>2</sup>Professor da Faculdade de Engenharia Agrícola (UNICAMP-FEAGRI), Cidade Universitária Zeferino Vaz, Caixa Postal 6011, CEP 13083-875, Campinas, São Paulo, fone (19) 3521-1078, email: [honorio@agr.unicamp.br](mailto:honorio@agr.unicamp.br).

A boa adaptação do antúrio ao cultivo hidropônico traduz-se no rápido desenvolvimento das plantas e num período de tempo menor que o apresentado pelo cultivo tradicional em solo e matéria orgânica. Esse fator pode refletir no início do retorno econômico do empreendimento, com a antecipação do início do florescimento, maior produção de flor e folhagem, maior qualidade das flores e melhores preços. Com a finalidade de determinar o desenvolvimento de antúrios cultivados em sistema hidropônico com substrato, realizou-se o presente trabalho. O sistema hidropônico foi o cultivo em canaletas (canaletões), com fibra de coco como substrato (Golden-Mix-Misto-80) e fertirrigação por gotejamento; a variedade de antúrio cultivada foi a 'IAC Eidibel'; e as mudas utilizadas foram adquiridas de laboratório de cultura de tecidos. Avaliou-se o desenvolvimento das plantas em termos de altura, massa seca e produção de folhas. Ao longo do primeiro ano de cultivo, a altura das plantas foi monitorada bimensalmente através da medição da distância do colo ao ponto mais alto da folha mais alta da planta. Para as determinações de massa seca das folhas, o material vegetal foi pesado e secado em estufa a 70°C, sob ar forçado até que o valor da massa se tornasse constante. O número de folhas também foi monitorado ao longo do primeiro ano de cultivo. Com os dados obtidos, verificou-se que: até os 120 dias, após o plantio, o desenvolvimento das plantas, em termos de altura, foi relativamente baixo se comparado com a variação da altura após o quarto mês, apesar de ter apresentado o dobro da altura inicial (2,5 cm). Esse fato pode ser explicado pela planta requerer um sistema radicular estabilizado para iniciar a sua fase de crescimento. Após o quarto mês, o seu ganho em altura foi em média de 2,5 cm/mês, chegando ao final do primeiro ano de cultivo com altura média de 25,9 cm, o que corresponde a aproximadamente 10 vezes a sua altura original. Comportamento semelhante foi verificado para o acúmulo de massa seca nas folhas. Durante a fase inicial da cultura, as plantas apresentaram um pequeno acúmulo em termos de massa seca de folhas, que ao final de 120 dias foi de aproximadamente 0,2 g. Passada essa fase inicial, o desenvolvimento foi maior, chegando, ao final do primeiro ano, à média de aproximadamente 2,6 g de massa seca de folhas por planta. Os dados obtidos refletem na produção de folhas, que em média foi de 1 folha por mês, ou seja, duas vezes a produção de folhas apresentada pelo cultivo tradicional (solo e matéria orgânica), portanto, conclui-se que o desenvolvimento do antúrio 'IAC Eidibel' cultivado em sistema hidropônico em canaletas com fibra de coco é vigoroso, sendo imprescindível o controle do número de folhas por planta, que é de 3 a 5 folhas/planta dependendo do espaçamento utilizado.

### **PALAVRAS-CHAVES**

'IAC Eidibel'; *Anthurium andraeanum*; cultivo sem solo; massa seca.

## Crescimento de *Epidendrum ibaguensis* e *Laelia purpurata* em diferentes substratos

Mesquita, Eliane Rezende<sup>1</sup>; Fontes, Andréia Aline<sup>1</sup>; Rodrigues, Donizetti Tomaz<sup>2</sup>; Grossi, José Antonio Saraiva<sup>3</sup>; Alvarez V., Víctor Hugo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de graduação em agronomia, [elianermesquita@yahoo.com.br](mailto:elianermesquita@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Solos; <sup>3</sup>Professor do Departamento de Fitotecnia; <sup>4</sup>Professor do Departamento de Solos; Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário s/n Viçosa-MG CEP 36571000

### INTRODUÇÃO

A partir da segunda metade da década de 90, juntamente com as flores tropicais, mudas para reflorestamento, begônias, forrações e lírios, aumentou o interesse pelo cultivo de orquídeas, fortalecendo assim o mercado de flores. No Brasil, as orquídeas ocupam o segundo lugar em área cultivada na categoria flores em vaso, correspondendo a 8,3% da área ocupada por esta modalidade de cultivo, totalizando 55,5 ha (IBRAFLOR, 2003).

As orquídeas são geralmente cultivadas pela beleza, exotismo e fragrância de suas flores. Embora seu cultivo venha da época de Confúcius (a.C. 551 - 479 a.C.), a sua comercialização teve início na Europa no final do século XVIII. Hoje, uma indústria moderna movimenta centenas de milhares de dólares anualmente em todo o mundo, sobretudo na Ásia, Europa e Estados Unidos, sendo neste último país o gênero *Phalaenopsis* o mais comercializado.

A família Orquidaceae é constituída por mais de 1800 gêneros e cerca de 35000 espécies (Watanabe, 2002), além de centenas de milhares de híbridos obtidos a partir de cruzamentos entre estes gêneros e espécies. Estas plantas evoluíram em diferentes ambientes, com destaque para locais bem arejados e com baixa capacidade de armazenamento de água e nutrientes. Sendo assim, devem-se ter critérios na determinação do substrato ideal para o cultivo das plantas, a fim de proporcionar boas condições para o desenvolvimento do sistema radicular.

As fibras de xaxim retiradas de samambaias nativas (principalmente *Dicksonia selowiana*) apresentam características físicas favoráveis ao cultivo de orquídea, como arejamento, boa retenção de água, alta durabilidade, entre outras, porém apresentam características químicas inadequadas que podem ser facilmente corrigidas com o uso de fertilizantes. Devido ao uso do xaxim em grande escala, a extração foi feita de forma constante e intensa, levando a espécie à lista das plantas em risco de extinção. Por esse motivo, o corte, a industrialização e o comércio do xaxim estão proibidos no Brasil.

Como alternativa ao uso do xaxim podem ser utilizados outros substratos, dentre eles, fibra de coco, fibra de piaçava, madeira, árvores, pedras, carvão em pequenos pedaços, ossos, além de misturas com diferentes substratos. Porém a literatura carece de trabalhos específicos e os resultados são variáveis nos trabalhos existentes para os diversos gêneros da família Orquidaceae.

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho Verificar o efeito de diferentes substratos no crescimento de *Epidendrum ibaguensis* e *Laelia purpurata*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizadas duas espécies de orquídeas (*Epidendrum ibaguensis* e *Laelia purpurata*), cultivadas em nove diferentes substratos: xaxim; fibra de coco; chip de coco (substrato obtido do mesocarpo fibroso

dos frutos de coco sem retirada da mucilagem, sendo sua estrutura grosseira); brita zero; cinasita; cinasita 70% + palha de café carbonizada 30%; cinasita 70% + carvão vegetal 30%; brita zero 70% + palha de café carbonizada 30% e brita zero 70% + de carvão vegetal 30%. Utilizando-se cinco repetições no delineamento em blocos casualizados.

Cada unidade experimental foi representada por um vaso plástico de 1,0 dm<sup>3</sup> preenchido pelo substrato e contendo uma muda de orquídea. Os vasos foram mantidos sobre bancadas em casa de vegetação, sob telado 50% de sombreamento. A cada duas semanas, foi realizada adubação por meio de fertirrigação. As plantas permaneceram sob estas condições por um ano. Em seguida avaliou-se número de pseudobulbos, brotos e altura de *Laelia purpurata* e comprimento e número de hastes e de folhas de *Epidendrum ibaguense*. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação entre as médias foi feita pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a espécie *Laelia purpurata* não houve diferenças significativas para número de pseudobulbos e de brotos. A altura das plantas não foi satisfatória para os substratos chip de coco e cinasita pura (Tabela 1). O uso de substratos mistos pode resultar em melhor eficiência agrônômica das plantas cultivadas, o mesmo pode ser obtido com a mistura de materiais que apresentem diferentes características. A mistura de brita e palha de café carbonizada, possivelmente proporcionou bom arejamento e certa retenção de nutrientes e água, proporcionando os melhores resultados para *L. purpurata*.

Observou-se também a perda de volume do substrato “chip” de coco, indesejável no cultivo de orquídeas. Materiais que preservam sua estrutura são desejáveis nos cultivos de orquídeas, evitando-se perda de aeração e troca freqüente de substrato, uma vez que as plantas permanecem no mesmo vaso por um período longo de tempo. Substratos como argila expandida (cinasita) e brita apresentam alto grau de conservação sem perda de estrutura, compactação ou decomposição dos mesmos.

**Tabela 1** - Valores médios para número de pseudobulbos, brotos e altura de *Laelia purpurata* cultivada em diferentes substratos.

SUBSTRATO	Pseudobulbos	Broto	Altura
	----- n° -----		-----cm-----
Xaxim	6,00 a	1,00 a	15,25 ab
Fibra de coco	5,00 a	0,50 a	14,88 ab
Chip (coco triturado)	4,25 a	0,50 a	11,63 bc
Cinasita	6,25 a	1,50 a	10,88 c
Brita	5,25 a	1,00 a	13,88 abc
Cinasita + Palha café	5,50 a	1,00 a	12,38 abc
Cinasita + Carvão	6,00 a	0,50 a	13,00 abc
Brita + Palha café	5,25 a	1,00 a	15,63 a
Brita + Carvão	4,75 a	1,25 a	12,25 abc

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

Para *Epidendrum ibaguense* os resultados encontrados mostram que os maiores número de folhas ocorreram em cinasita, cinasita + palha de café e brita +

palha de café, além disso, a altura da maior haste foi inferior apenas na mistura cinasita + palha de café carbonizada (Tabela 2). Não houve diferença significativa para altura média das plantas sendo que, quando avaliada a soma dos comprimentos, o xaxim e a brita + palha de café, não diferiram entre si, entretanto quando comparados aos demais substratos, aqueles se apresentaram superiores. Como observado, o xaxim proporcionou melhor desenvolvimento de plantas de *E. ibaguense*, porém objetivou-se com este trabalho buscar a substituição desse tipo de substrato. Resultados iguais foram encontrados quando utilizados os substratos cinasita e cinasita + palha de café. A argila expandida cinasita é um agregado leve que se apresenta em forma arredondada, com uma estrutura interna formada por uma espuma cerâmica com microporos e superfície rígida e resistente, apresentando boas propriedades em retenção de umidade e absorção de nutrientes, boa aeração, pouca ou nenhuma compactação (Nascimento, 2005), sendo estas características importantes para cultivo de orquídeas. Além disso, a mistura com palha de café carbonizada permite maior disponibilidade de nutrientes para as plantas pela lenta liberação de elementos e confere menor peso aos vasos devido à baixa densidade – característica importante para comercialização de mudas.

**Tabela 2** – Valores médios para comprimento da maior haste (CH), soma dos comprimentos das hastes (SH), altura média (AM), número de hastes (NH) e número de folhas (NF) de *Epidendrum ibaguense* cultivada em diferentes substratos.

SUBSTRATO	CH	SH	AM	NH	NF
	-----cm-----			----- n° -----	
Xaxim	34,8 a	66,3 a	22,3 a	3,25 a	126,50 a
Fibra de coco	27,5 ab	36,8 b	22,1 a	1,75 b	88,13 b
Coco triturado	26,8 ab	34,3 b	20,9 a	1,75 b	83,63 b
Cinasita	31,8 a	46,3 b	23,1 a	2,00 b	103,13 ab
Brita	28,0 ab	42,5 b	21,3 a	2,00 b	93,75 b
Cinasita + Palha de café	32,8 a	46,3 b	23,1 a	2,00 b	104,13 ab
Cinasita + Carvão	20,3 b	35,5 b	17,8 a	2,00 b	75,50 b
Brita + Palha de café	29,5 a	47,0 ab	21,1 a	2,25 ab	99,80 ab
Brita + Carvão	27,0 ab	43,8 b	21,5 a	2,25 ab	94,50 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

## CONCLUSÃO

Os melhores substratos alternativos ao xaxim foram brita + palha de café carbonizada para *Laelia purpurata* e cinasita + casca de café para a espécie *Epidendrum ibaguense*.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ASSIS, A.M.; Faria, R.T.; Colombo, L.A.; Carvalho, J.F. Utilização de substratos à base de coco no cultivo de *Dendrobium nobile* Lindl. (Orquidaceae) . **Acta Sci.Agron.** Maringá, v.27, n.2, p.255-260, 2005.

FARIA, R.T.; Rego, L.V.; Molinari, H.; Bernardi, A. Performace of differents genotyps of brazilian orchid cultivation in alternativs substrates. **Brazilian Archives of biology and technology**. V.44, n.4, p.337-342,2001.

MATEUS, C.M.; Castilho, R. M. Enraizamento de três espécies ornamentais (Ixoria coccínea l. var. compacta hort., Codiaeum variegatum(l.) blume e Hibiscus rosa-sinensis l.) em dois diferentes substratos. **IV Encontro Nacional sobre Substrato para Plantas**, Viçosa, Minas Gerais, 2004. p. 368.

MORAES, L.M.; Cavalcante,L.C.D.; Faria, R.T. Substratos para aclimatização de plântula de Dendrobium nobile Lindl. (Orquidaceae) propagada in vitro. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.5, p.1397-1400, 2002.

NASCIMENTO, R. R. **Utilização de agregados de argila calcinada em pavimentação; uma alternativa para o estado do acre**. 2005. 185 f. Tese (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

SILVA, F.S.C. Haverá algum substituto para o xaxim? **Boletim da coordenadoria das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB)**, Rio de Janeiro, n.44, p.68-76, 2000.

SILVA, F.S.C.; SILVA, S.P.C. O substrato na cultura das orquídeas, sua importância, seu envelhecimento. **Revista Oficial do Orquidário**, Rio de Janeiro, v.11, n.1, p.3-10, 1997.

STANCATO, G.C. et al. Análise de alguns substratos para o cultivo de orquídeas epífitas e avaliação do crescimento em plantas de Demdrobium nobile CV. Gilblanc. In **Encontro Nacional sobre substratos para plantas**, 1., 1999. Porto Alegre. Resumos... Porto Alegre, 1999. p. 65-66.

TORTATO, M.A. Cultivo de orquídeas em nó de pinho. **Boletim das Associações Orquidófilas do Brasil (CAOB)**, Porto Ferreira, n. 34, p. 118-122, 1998.

VICHIATO, M. et al. Desenvolvimento vegetativo de Dendrobium nobile Lindl. (Orquidaceae) com fertilização organo-mineral em diferentes substratos. In **Encontro Nacional Sobre Substratos Para Plantas**, Viçosa. Resumos... Viçosa, 2004. p 394.

WATANABE, D. Orquídeas: Manual de Cultivo. São Paulo: Associação Orquidófila de São Paulo,2002.

Palavras-chave: Orchidaceae, xaxim, desenvolvimento vegetativo

## **Avaliação da atividade da enzima bromelina em resíduo agroindustrial de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith).**

Machado, Isaac Stringueta<sup>1</sup>; Bertozzo, Fernanda<sup>2</sup>; Michelini, Janaína<sup>3</sup>; Cantanhêde, Ilka South de Lima<sup>4</sup>; Soriano, Leonardo<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Professor Doutor da Faculdade de Ciências Agronômicas (UNESP-FCA), Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [isaac@fca.unesp.br](mailto:isaac@fca.unesp.br) ; <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [bertozzo@fca.unesp.br](mailto:bertozzo@fca.unesp.br) ; <sup>3</sup>Bióloga Estagiária do Departamento de Recursos Naturais (UNESP-FCA), Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [janainamichelin@fca.unesp.br](mailto:janainamichelin@fca.unesp.br) ; <sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: [ilcalc@fca.unesp.br](mailto:ilcalc@fca.unesp.br) ; <sup>5</sup>Graduando do Curso de Engenharia Florestal (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18603-970, Botucatu, São Paulo, fone (19) 9141-8231, e-mail: [lsoriano@fca.unesp.br](mailto:lsoriano@fca.unesp.br) .

### **INTRODUÇÃO**

O curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith) é uma bromeliácea produtora de fibras com características físico-químicas ideais para a elaboração de novos materiais (compósitos), componentes bastante valorizados pela indústria automobilística e a de móveis (Zah et al., 2006). A planta contém níveis significativos da enzima bromelina, de alto valor comercial e com ampla aplicação em diversas áreas, como clarificação de cerveja, fabricação de queijos, tecnologia de alimentos, tratamento de distúrbios digestivos, feridas, inflamações e terapias contra o câncer, onde aumenta lises de células carcinogênicas (Meinig,1999). É também usada no tratamento do couro, nas indústrias têxteis para amaciamento de fibras e na produção de detergentes (Santos, 1995).

A determinação da atividade da bromelina em plantas de curauá pode resultar em indicativos para posterior purificação da enzima, além de otimizar o uso dessa planta, uma vez que o principal produto de extração é a fibra e os demais componentes considerados resíduo. No entanto, neste resíduo pode estar sendo descartada a enzima bromelina, produto cujo valor comercial é muito maior que o valor da própria fibra.

Esta pesquisa tem como objetivo determinar a atividade cinética da enzima bromelina em folhas e frutos (polpa) de plantas de curauá, cultivares “branco” e “roxo”, base para estudo posterior da extração e purificação, otimizando assim, a utilização desta espécie vegetal.

### **METODOLOGIA**

Os experimentos foram realizados nos campos experimentais e nos laboratórios de Biotecnologia de Plantas e Resíduos Sólidos/Compósitos, do Departamento de Recursos Naturais, Faculdade de Ciências Agronômicas, da UNESP, Campus de Botucatu - SP.

Matrizes de curauá (*Ananas erectifolius* L.B.Smith) dos cultivares “branco” e “roxo” foram cedidas pelo Projeto POEMA, Estado do Pará, e cultivadas nos campos experimentais da Fazenda Lageado e Fazenda São Manuel, ambas pertencentes à UNESP. As mudas com cerca de 40 a 50 cm de altura foram instaladas em espaçamento de 1 x 0,5 m e conduzidas nos moldes da tecnologia agrônômica pertinentes, com preparo, correção e fertilização dos solos; cobertura morta; irrigação e controle nutricional por análise foliar.

Para determinação da atividade da bromelina foram utilizados folhas e frutos, coletados em dois estágios diferentes de desenvolvimento da planta: na fase adulta, em que os frutos ainda estavam verdes e as folhas estavam com 1m de comprimento, aproximadamente; e na fase de senescência, em que as folhas estavam amareladas e os frutos maduros. Foram realizadas três repetições de amostragem de cada parte da planta. O preparo das amostras, o ensaio de precipitação e a determinação da atividade enzimática foram baseados nos métodos descritos por Murachi (1970), Baldini et al. (1993) e César et al. (1999).



Folhas foram coletadas no campo e distribuídas em lotes, sendo cada lote constituído por três folhas de uma mesma planta. Posteriormente decortificadas em um processo semelhante ao processo utilizado pela agroindústria, para a separação das fibras. A mucilagem residuária foi triturada com água destilada em processador, resultando em uma solução com concentração de 500g de resíduo/L.

Os frutos foram igualmente distribuídos em lotes, sendo cada lote constituído de um único fruto. Foram descascados logo após a colheita e, em seguida, triturados em processador, resultando em uma solução com concentração de 500g de resíduo/L. A casca dos frutos foi desprezada.

Todos os lotes foram coados e armazenados sob congelamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Para a realização dos ensaios de concentração e precipitação, as alíquotas foram descongeladas e centrifugadas a 15.000g por 15 minutos sob refrigeração a  $5^{\circ}\text{C}$ ; assim, ocorreu a separação das fibras do sobrenadante líquido, que foi utilizado para precipitação da enzima.

Para a realização dos ensaios de precipitação das amostras foram tomadas alíquotas de 40 ml do sobrenadante e em seguida, resfriadas em banho de gelo e sal sob agitação. Após, foi adicionado etanol frio ( $5^{\circ}\text{C}$ ) até o volume final de 80% v/v; nestes procedimentos tomou-se o cuidado de manter a temperatura constante, evitando assim, desnaturação do material protéico.

Após a precipitação, as amostras foram centrifugadas a 1500g por 30 minutos, sob refrigeração. Separadas as frações sobrenadantes, foram medidos os volumes e, em seguida, os precipitados foram solubilizados em diferentes volumes de tampão fosfato 30 mM, pH 6,0. Na seqüência, chegou-se à concentração de 1g/ml dos precipitados solubilizados.

A atividade proteolítica foi determinada através da hidrólise enzimática da caseína a 1,2% (p/v), pH 7.5 e temperatura de  $35^{\circ}\text{C}$ , durante 10 minutos. Seguiu-se a precipitação do substrato não hidrolisado com utilização de solução de ácido tricloroacético (TCA). No branco, a adição de solução de TCA foi feita antes da adição da enzima. A quantidade de produtos hidrolíticos não precipitados, ou seja, de peptídeos solúveis em TCA foi determinada em espectrofotômetro a 280 nm contra um branco.

Uma unidade de atividade enzimática (U) corresponde à quantidade de enzima capaz de variar em uma unidade a leitura de absorbância a 280 nm, durante 10 minutos a  $35^{\circ}\text{C}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados da atividade enzimática na mucilagem residuária da decortificação de folhas e em polpa do fruto do curauá, cultivares “branco” e “roxo”. Os valores referem-se a duas fases distintas de avaliação: época da colheita industrial da fibra e fase de senescência das plantas.

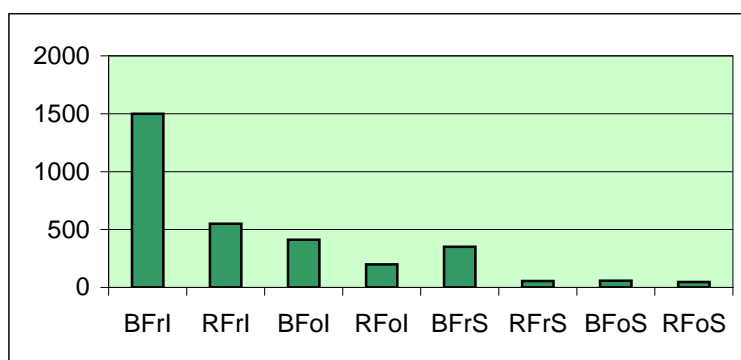


Figura 1. Atividade enzimática de curauá, cultivares “branco” e “roxo”, em duas fases distintas: colheita industrial da fibra e senescência das plantas. Legenda:

BFrl = Fruto imaturo de curauá “branco”

BFol = Folha adulta de curauá “branco”

BFrS = Fruto de curauá “branco” em senescência

BFoS = Folha de curauá “branco” em senescência

RFrL = Fruto imaturo de curauá “roxo”  
 RFoL = Folha adulta de curauá “roxo”  
 RFRS = Fruto de curauá “roxo” em senescência  
 RFoS = Folha de curauá “roxo” em senescência.

A folha de curauá na época da colheita industrial, tanto no cultivar “branco” quanto “roxo”, apresenta teores menores de atividade enzimática em relação ao fruto, 27,4% e 36,18%, respectivamente (Tabelas 1). Estes valores se aproximam dos valores encontrados por César et al. (1999) ao trabalharem com talo, casca e fruto de abacaxi; onde também observaram a viabilidade de recuperação da enzima nestas condições e no reaproveitamento do resíduo de indústrias de conserva. O potencial de obtenção da bromelina na indústria automobilística pode ser igualmente significativo, pois as fibras representam em torno de 5-8% da planta e o restante é mucilagem residuária, atualmente descartada no meio ambiente, em volume médio de 90 toneladas por dia (Leão et al., 2000 e Zah et al., 2006).

Tabela 1. Valores médios da atividade enzimática (U/L e U/g) em folhas e frutos de curauá no estágio de colheita.

CULTIVAR	ATIVIDADE ENZIMÁTICA			
	FOLHA		FRUTO	
	(U/L)*	(U/g)**	(U/L)	(U/g)
“BRANCO”	411	0,8	1500	2,5
“ROXO”	199	0,4	550	1,1

\*U/L: Unidade de atividade enzimática por litro de água residuária.

\*\*U/g: Unidade de atividade enzimática por grama de mucilagem.

As partes da planta analisadas após o período ideal de colheita revelaram valores de atividade enzimática inferiores (Tabela 2). Da mesma forma, as folhas apresentaram menor atividade proteolítica que os frutos, 16,28% e 82,14% para os cultivares “branco” e “roxo” respectivamente. Tudo indica que a queda da atividade seja devido à senescência do tecido foliar e do fruto após a maturidade, conforme discutido acima. Desta forma, os resultados assim obtidos confirmam que a época de colheita realizada pela indústria coincide com o melhor estágio fisiológico da planta em termos de potencial enzimático.

Tabela 2. Valores médios da atividade enzimática (U/L e U/g) em folhas e frutos de curauá no estágio de senescência (após época de colheita).

CULTIVAR	ATIVIDADE ENZIMÁTICA			
	FOLHA		FRUTO	
	(U/L)*	(U/g)**	(U/L)	(U/g)
“BRANCO”	57	0,1	350	0,7
“ROXO”	46	0,092	56	0,1

\*U/L= Unidade de atividade enzimática por litro de água residuária.

\*\*U/g= Unidade de atividade enzimática por grama de mucilagem.

Embora o fruto apresente altos valores de atividade enzimática, a sua utilização industrial não seria viável devido ao manejo agrônomico das plantas, onde a primeira colheita das folhas ocorre aos doze meses de cultivo da planta, seguida de cortes sucessivos de seis em seis meses. Este esquema interrompe a indução e desenvolvimento da infrutescência (Ledo, 2002). A atividade enzimática observada no fruto mostrou grande variação durante os estágios de seu desenvolvimento; é crescente até a maturidade e declina a partir desta fase. Esta observação é concordante com aquela encontrada por Baldini et al. (1993) em abacaxi, que não verificaram atividade enzimática nos primeiros estágios de desenvolvimento do fruto; entretanto, seu nível aumentava rapidamente, mantendo-se elevado até que, por ocasião do amadurecimento, decrescia ligeiramente, havendo uma queda marcante de atividade da protease durante o período final da maturação.

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, e nas condições experimentais empregadas, é possível concluir que tanto as folhas quanto os frutos dos cultivares “branco” e “roxo” apresentaram bromelina bioquimicamente ativa, sendo que nos frutos a atividade cinética mostrou-se significativamente maior que nas folhas. Há viabilidade de precipitação e/ou filtração da enzima para fins comerciais nos resíduos industriais de ambas estruturas analisadas (folha e fruto). Diferentemente do observado na micropropagação de mudas *in vitro* e nos processos convencionais de multiplicação e cultivo no campo, o cultivar “branco” revelou maior potencial de atividade cinética enzimática. A época da colheita pela indústria, um ano após o plantio das mudas, coincide com o estágio fisiológico ideal da planta em termos de atividade enzimática.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDINI, V. L. S.; IADEROZA, M.; FERREIRA, E. A. H.; SALES, A. M.; DRAETTA, I. S.; GIACOMELLI, E. J. Ocorrência da Bromelina em cultivares de abacaxizeiro. **Colet. ITAL**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 44-55, 1993.

CÉSAR, A .C. W.; LUCARINI, A. C.; SILVA, R. Recuperação das enzimas proteolíticas presentes na casca e talo do abacaxi. **Revista de Iniciação Científica**, São Carlos, p. 47-53, 1999.

LEÃO, A. L.; CARASCHI, J. C.; TAN, I. H. Curaua fiber – a tropical natural fibers from Amazon potential and applications in composites. In: FROLLINI, E.; LEÃO, A. L.; MATTOSO, L. H. C. **Natural Polymers and Agrofibers Composites**. São Carlos: USP & UNESP, 2000. p. 257-272.

LEDO, I. A. M. O cultivo do curauá no Lago Grande de Franca. Belém: BASA, 1967.23 p. apud. LAMEIRA, O. A.; COSTA, M .R.; YOSHINO, V. C. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Ano V, n. 26, p. 28, maio/jun. 2002.

MEINIG, G. E. Bromelain. **Phytomedicine**, v. 2, p. 1-2, 1999.

MURACHI, T. Bromelain enzymes. In: PERGMANN, G. E.; LORAND, L. **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, 1970. p. 273-84.

SANTOS, S. A. **Efeito do tempo na composição físico-química, química e na atividade da bromelina do caule do abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merr. Cv. Pérola, armazenado em condições com e sem refrigeração**. 1995. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

ZAH, R.; HISCHIER, R.; LEÃO, A. L.; BRAUN, I. Curaua fibers in the automobile industry. **Journal of Cleaner Production**, n. 15, p. 1032-1040. 2007.

## PALAVRAS-CHAVE

*Ananas erectifolius* L.B.Smith; curauá; bromelina; atividade cinética.

## Diagnóstico da produção de rosas em Vitória da Conquista – Bahia.

São José, Alcebíades Rebouças<sup>1</sup>; Barbosa, Flávia Silva<sup>2</sup>; Guimarães, Bruno Vinícius Castro<sup>3</sup>; Santos, Pinto, Paulo Roberto<sup>4</sup>; Oliveira, Kátia Prates Giudice<sup>5</sup>; Matsumoto, Sylvana Naomi<sup>6</sup>;

<sup>1</sup>Professor Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Caixa Postal 95, CEP 45083-900, Vitória da Conquista, Bahia, fone (77) 3424-8632, email: [alcebíades@uesb.br](mailto:alcebíades@uesb.br); <sup>2</sup>Mestranda Curso de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, email:mailto:[barbosasilva\\_f@yahoo.com.br](mailto:barbosasilva_f@yahoo.com.br); <sup>3</sup>Graduando em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, email:[bvinicius20@yahoo.com.br](mailto:bvinicius20@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Professor Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, email: [psantos@uesb.br](mailto:psantos@uesb.br); <sup>5</sup>Graduanda em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia: <sup>6</sup>Professora Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, email:; [naomi@uesb.br](mailto:naomi@uesb.br).

### INTRODUÇÃO

Inicialmente a produção brasileira de flores estava concentrada principalmente no Estado de São Paulo, entretanto, essa produção, tem se expandido para outras regiões do país. Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Ceará e o norte do país já são citados como produtores de flores e plantas ornamentais.

O Consumo anual per capita médio de flores no Brasil esta em torno de R\$ 8,00 a R\$ 9,00, demonstrando ser um mercado pouco explorado, quando se compara com o consumo de países desenvolvidos (Bongers, 2000). Para Almeida & Aki (1995) o mercado brasileiro de flores indica que o consumo potencial seja o dobro do consumo real verificado atualmente e que um dos problemas para essa proporcionalidade esteja na dificuldade de ordenar seus agentes, levando a uma oscilação entre um mercado de oferta e um mercado de demanda.

O Estado da Bahia possui 13 milhões de habitantes, sendo que na capital reside 2,24 milhões, portanto, um excepcional mercado consumidor. Além disso, a Bahia encontra-se geograficamente localizada próximo a outros grandes mercados consumidores como as regiões Sudeste e Nordeste. As cidades baianas onde já se constata a franca expansão da produção de flores são: Maracás, Ituberá, Ilhéus, Camaçari, Amélia Rodrigues, Morro do Chapéu, Vitória da Conquista, Mata de São João e Juazeiro (Scherer, 2001).

A floricultura na Bahia se caracteriza como um agronegócio promissor. A partir de 2001, iniciou-se como importante alternativa de trabalho e renda para as mais diversas classes da população, tornando-se o mais novo setor econômico e produtivo na agricultura baiana. A produção de flores e plantas ornamentais se desenvolve em diversas regiões da Bahia, com o cultivo de espécies de clima tropical, subtropical ou temperada (Scherer, 2006).

Estima-se que a Bahia produz cerca de 300 mil dúzias de flores tropicais e subtropicais por ano, movimentando, no mercado atacadista, mais de R\$3 milhões/ano, além de plantas ornamentais e folhagens produzidas em aproximadamente 50 municípios baianos ultrapassando a casa dos R\$ 15 milhões/ano no atacado, que equivale dizer que deste montante, a participação dos produtos baianos no mercado gira em torno de 20%. Um dos passos decisivos para incentivar a atividade no Estado foi o surgimento do Programa Flores da Bahia, que tem contribuído de forma significativa para a expansão de áreas de produção, nas diferentes e favoráveis condições de clima, altitude e solo que o Estado oferece. Criar uma base produtiva para o desenvolvimento e sustentabilidade da atividade floricultura foi um desafio para o Programa Flores da Bahia, por se tratar de um segmento relativamente novo, onde a tecnologia encontrava-se ainda distante da realidade praticada no mercado nacional, o material genético utilizado estava ultrapassado e a especialização de técnicos era incipiente (Scherer, 2006).

Apesar das condições favoráveis à produção de flores no estado, um dos grandes problemas enfrentados para esse setor, diz respeito à comercialização da produção e a assistência técnica disponível (Ibraflor, 2001).

O objetivo deste trabalho foi de identificar e caracterizar os produtores de rosas do município de Vitória da Conquista – Bahia, por meio de levantamento a campo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado junto a produtores de rosas do povoado de Lagoa das Flores no Município de Vitória da Conquista – Bahia, localidade onde se concentra os produtores de rosas. A coleta dos dados junto aos produtores foi feita através de visita em cada propriedade, onde se aplicou um formulário que foi preenchido nas propriedades, junto a cada produtor, num total de quatro produtores. Os formulários apresentavam perguntas que envolviam a identificação do entrevistado, caracterização da Empresa, origem do material de propagação, pragas e doenças, defensivos utilizados, transporte da produção, marketing da Empresa, valor de venda, custo de produção, fonte de financiamento, espécies produzidas, assistência técnica, problemas encontrados e participação em eventos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil dos quatro produtores de rosas demonstra que todos eles, cultivam rosas em estufas com cobertura de filme de polietileno em estrutura simples de madeira e concreto. A origem das mudas enxertadas e enraizadas são provenientes de viveiristas da cidade de Teófilo Otonio-MG, apenas um produtor produz suas próprias mudas através da enxertia na propriedade. Os cultivares de rosas cultivadas foram: Dallas, Vegas, Nicole, Tineke, Sandra, Ambiance e Amorosa. Dois deles fizeram a análise química do solo e aplicação de calcário antes do plantio das mudas.

Foram perguntados sobre a incidência de pragas e doenças na cultura, todos eles afirmaram que as principais doenças são o míldio e oídio e as pragas mais frequentes foram os ácaros e pulgões. Quanto aos defensivos utilizados, foram citados os fungicidas difenoconazole (Score), azoxystrobin (Amistar), tiofanato metílico (Cercobin), fosetyl-AL (Aliette) e Folpet (Folpan), e os inseticidas deltametrina (Decis), abamectin (Vertimec) e metomil (Lanate). Apenas um produtor estava usando produtos como sabão em pó marca comercial OMO com aloe vera, e a maniçoba (resíduo da fermentação da mandioca) como controle alternativo de pragas.

Para o transporte da produção dois produtores estavam utilizando veículo próprio sem refrigeração e os outros dois através de ônibus ou caminhão até o mercado consumidor, mais uma vez sem nenhum sistema de refrigeração. Um dos produtores relatou que o transporte era feito a noite sem comprometimento da qualidade das rosas.

Foi questionado sobre o marketing da empresa, nenhum produtor investia nesse setor, devido ao tamanho da propriedade, apenas recebiam a visita de canais de televisão para alguma reportagem, principalmente no dia das mães e finados. Em relação ao preço de mercado das rosas, relataram que dependia do mercado local e também do preço de mercado do estado de São Paulo.

Um dos itens que mais onerava o custo de produção foi o investimento em infraestrutura, defensivos e mão-de-obra. Uma vez que todo investimento tem sido feito com recursos próprios. Quanto à assistência técnica, todos eles eram atendidos por apenas um profissional da área de fitopatologia.

Quanto à qualificação profissional, relataram que participavam de cursos promovidos pelo SEBRAE na área de floricultura e visita a Hortitec em Holambra-SP. Somente um produtor relatou que tem aprendido apenas com a prática. Outro questionamento que foi feito refere-se aos principais problemas encontrados na produção de rosas, argumentaram que a falta de assistência técnica e financiamento tem dificultado a ampliação da área de produção.

Considerando a proximidade entre as propriedades dos produtores, constatou-se que a relação para troca de conhecimentos era bastante restrita, mas acabavam utilizando as tecnologias, sendo o sistema produtivo bastante semelhante. Buscou-se saber qual a produção semanal de rosas, mas, considerando a inconsistência das informações entre os produtores, não foi possível definir esses dados de grande importância para o setor. Um dos grandes problemas enfrentados, diz respeito ao setor de comercialização, onde esses produtores enfrentam a concorrência, de certa forma até desleal, dos caminhões provenientes do estado de São Paulo, os quais muitas vezes conseguem reduzir o preço das rosas para as floriculturas com o intuito de concorrer com as rosas produzidas no município, sendo que o estado da Bahia ainda é carente de um mercado atacadista de flores. Outro grave problema, diz respeito à comercialização junto às floriculturas da cidade. Esse mercado varejista é pouco atendido pelos produtores, em decorrência da descontinuidade da produção local durante todo ano e pelo impedimento dos atacadistas (caminhões) provenientes do estado de São Paulo, com a imposição de ações visando dificultar a aquisição da produção local, por parte das floriculturas.

A necessidade de assistência técnica por profissionais da área de Agronomia ficou bastante evidente, uma vez que, ainda, utilizam determinadas tecnologias consideradas ultrapassadas. Dificuldades como: altura do corte das hastes a serem colhidas, manter firmeza das hastes, fertirrigação e pós-colheita, são problemas enfrentados nas propriedades pesquisadas.

Essa pesquisa ainda não é conclusiva, o diagnóstico da cadeia produtiva ainda se encontra em andamento.

Tabela 1. Principais características do setor produtivo de rosas no município de Vitória da Conquista - Bahia

Cultivares de rosas	Pragas	Doenças	Fungicidas	inseticidas
Dallas	Pulgões	Míldio	difenoconazole	deltametrina
Vegas	Ácaros	Oídio	azoxystrobin	abamectin
Nicole			tiofanato metílico	metomil
Tineke			fosetyl-AL	
Sandra			folpet	
Ambiance				
Amorosa				

## CONCLUSÃO

A produção de rosas no município de Vitória da Conquista é, ainda, bastante incipiente.

Há necessidade da organização da cadeia produtiva, que envolva o setor produtivo e varejista.

A aplicação de novas tecnologias depende de uma assistência técnica por profissionais capacitados.

A criação de um mercado atacadista de flores no estado é de fundamental importância para dar suporte ao setor produtivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F.R. de FREITAS & AKI, Y. A. Grande crescimento no mercado de flores. **Agroanalysis**, São Paulo, v.15, n.9, p.8-11, 1995.

**Boletim informativo Ibraflor**, Campinas, ano VII, n.26, jun.2001.

BONGERS, F.J.G. Informativo IBRAFLOR. Holambra, 2000.1-10 p.

SCHERER, A.M.S. Flores da Bahia. **Boletim informativo Ibraflor**, Campinas, ano VII, n.26, jun.2001.

SCHERER, A.M.S. Flores da Bahia. **Revista Bahia Agrícola**, Salvador, v.7, n.3, nov.2006.

**PALAVRAS-CHAVES**

Rosa sp.; Floricultura, Cadeia produtiva; produção.

## Sete novas cultivares de hemerocale do Instituto Agronômico (IAC)

Antonio F.C. Tombolato<sup>1,2</sup>, Luiz A. F. Matthes<sup>1</sup>; Roberta P. Uzzo<sup>1</sup>; Carlos E. F. Castro<sup>1</sup>; Ana M.M. Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Agronômico (IAC), C.P. 28, CEP 13012-970, Campinas(SP), Brazil, [tombolat@iac.sp.gov.br](mailto:tombolat@iac.sp.gov.br);

<sup>2</sup> bolsista do CNPq

O programa de melhoramento de *Hemerocallis* em desenvolvimento no IAC, desde 1990, introduz variedades americanas novas para a avaliação de seu comportamento no País e também produz híbridos novos e seleciona-os para o uso em paisagismo no Estado de São Paulo e nas áreas circunvizinhas. As plantas devem ser bem adaptadas ao solo e às condições de clima e também tolerante à ferrugem (*Puccinia hemerocallidis*). Este programa é desenvolvido em colaboração com a empresa Agrícola da Ilha Ltda., que negocia as plantas multiplicadas por divisão de touceiras em condições de campo. As primeiras gerações de híbridos foram obtidas através da colheita de sementes produzidas por polinização aberta na coleção das cultivares introduzidas. Sete novas cultivares foram selecionadas e são lançadas pelas suas características de vigor e adaptabilidade das plantas, com flores bastante distintas entre si no tocante à coloração e formato. São medianamente tolerantes à ferrugem, que ocorre mais tardiamente no ciclo anual; há, porém, a necessidade de uma avaliação específica por fitopatologista. A estação de florescimento dura pelo menos seis meses (de outubro até março) na região sudeste do Brasil. Na região norte e nordeste há falta de estação fresca, necessária para a indução da flor. Estes sete novos híbridos já se encontram registrados no SNPC - Serviço Nacional de Proteção de Cultivares, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. São elas: IAC Neusa (= IAC Campinas) (IAC 13) RNC nr. 21763 – amarelo ouro com olho vermelho; IAC Bárbara (IAC 06A) RNC nr. 21764 – vermelho escuro com garganta amarela; IAC Olga Ulmann (IAC Olga) RNC nr. 21765 – rosa com garganta amarela; IAC Canário (IAC L) RNC nr. 21766 – amarelo claro; IAC Estrela (= IAC Castanho) (IAC A civ) RNC nr. 21762 – marrom com garganta amarelo ouro; IAC Guaratiba (IAC E. 16182) RNC nr. 21768 – salmão com garganta amarela; IAC Jundiá (IAC 08) RNC nr. 21767 – vermelho com garganta amarela.

Palavras-chaves: *Hemerocallis*,



## Comportamento de cultivares de antúrio como planta de vaso no norte do Paraná

Lúcia Sadayo Assari Takahashi<sup>1</sup>, Ricardo Tadeu Faria<sup>2</sup>, Antonio Fernando Caetano Tombolato<sup>3</sup>, Francine Lorena Cuquel<sup>4</sup>, Maurício L. Grossi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Professora Adjunta do Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, C.P. 6001, CEP 86051-990, Londrina, PR. E-mail: [sadayo@uel.br](mailto:sadayo@uel.br); <sup>2</sup>Professor Adjunto do Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, C.P. 6001, CEP 86051-990, Londrina, PR. E-mail: [faria@uel.br](mailto:faria@uel.br), Bolsista do CNPq; <sup>3</sup>Pesquisador Científico do Instituto Agronômico E-mail: [tombolat@iac.sp.gov.br](mailto:tombolat@iac.sp.gov.br); <sup>4</sup>Professora da Universidade Federal do Paraná. E-mail: [francine@ufpr.br](mailto:francine@ufpr.br), <sup>5</sup>Produtor de antúrio em Guaratuba, PR.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Anthurium* Schott. (Araceae) compreende mais de 600 espécies, normalmente herbáceas, epífitas, nativas da América Tropical, conhecidas popularmente por antúrio. O *Anthurium andraeanum* Linden, oriundo da Colômbia, sobrepuja às demais pela preferência do público como planta ornamental devido ao tamanho e colorido de suas espatas cortadas (Tombolato et al., 2002). Criley (1989) verificou que o antúrio requer cerca de 80% de sombra para o desenvolvimento e é recomendado 18°C, no mínimo, no período noturno, embora as plantas tolerem temperatura de 12°C.

Segundo Suda e Fukuda (1999) a ocorrência de altas temperaturas no verão não influencia no desenvolvimento vegetativo, mas restringe o desenvolvimento das gemas florais e aumenta o número de abortos. A diferença entre a temperatura do dia e da noite não afetou no número de abortos, mas um longo período de alta temperatura, sim.

Cuquel e Grossi (2004) verificaram, em cultivo realizado no município de Guaratuba, litoral do Paraná, onde a temperatura máxima alcança 41,2° C e a mínima 7,5° C, que a produção das principais cultivares de antúrio ocorre aproximadamente 30 meses após o plantio das mudas em canteiro. Segundo esses autores, a principal dificuldade para a produção de antúrio nessa região é a ocorrência de baixas temperaturas durante o inverno.

O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento de cinco cultivares de antúrio em vaso, nas condições climáticas de Londrina, PR.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL), localizado a 23°23' de latitude sul e 51°11' de longitude oeste e altitude média de 560m. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa (subtropical úmido).

As cultivares de antúrio avaliadas como planta ornamental para vaso foram: Apalai, lanomami, Parakanã, Rubi e Terena. Estas cultivares foram desenvolvidas pelo Instituto Agronômico como flor de corte.

As mudas dos diferentes cultivares foram produzidas pela empresa ClonAgri (Artur Nogueira, SP) através de micropropagação.

Plantas com a média de 10 cm contendo 2-3 folhas foram plantadas (uma por vaso) em vasos de plásticos pretos com diâmetro de 23 cm e altura de 17 cm com seis furos na parte inferior. Foi utilizado, como substrato para o desenvolvimento das mudas de antúrio, a fibra de coco Golden Mix®, tipo 80 fibroso, da Amafibra.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 20 repetições de cada cultivar.

O experimento foi conduzido em estufa tipo arco com aproximadamente 80% de sombreamento obtido por tela de polipropileno de cor preta.

As características avaliadas foram: comprimento do pecíolo, número de folhas, largura e comprimento das espatas e comprimento da haste floral.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comprimento do pecíolo mostrou pequena variação no primeiro mês e manteve sem maiores modificações ao longo do primeiro ano, não ultrapassando 10 cm. Para a maioria das cultivares, após 12 meses do plantio, ocorreu crescimento visível no tamanho, atingindo cerca de 40 cm aos 36 meses, com exceção de lanomami em que o comprimento não ultrapassou os 20 cm. Dufour e Guérin (2003), em *Anthurium andraeanum* Cancan, verificaram que os pecíolos atingiram comprimento médio de 50 cm em cultivo hidropônico após 28 meses, sendo que a altura inicial das plântulas variava entre 8-10 cm.

No primeiro ano do experimento ocorreu o período de adaptação das mudas de antúrio e não houve o aumento no número de folhas. Após esse período o número de folhas teve aumento contínuo pelos dois anos seguintes. Aos 36 meses, as cultivares Rubi, Terena e Parakanã apresentaram média de 20 folhas, Apalai 30 folhas e lanomami 40 folhas por vaso. Vivekananda et al (2003) avaliaram mensalmente altura da haste clorofilada e o número de folhas, durante cinco meses, no cultivo de antúrio em vasos no município de Guaratuba, PR. Verificaram maior capacidade de adaptação da cultivar lanomami seguida de Rubi, Parakanã, Terena, NK 102 e Xavante.

As cultivares Apalai, Parakanã, Rubi e Terena apresentaram espatas a partir de setembro de 2004. A cultivar lanomami mostrou pouca adaptação, não apresentando espatas nos três anos de cultivo.

A partir de setembro de 2005, 31 meses após o plantio das mudas, as cultivares Apalai, Parakanã, Rubi e Terena apresentaram plantas florescendo, destaques para Rubi e Terena com todas as plantas com espatas.

Cada cultivar apresentou características que as diferenciaram, desde o comprimento da haste da flor, cor e tamanho (largura e comprimento) da espata e tamanho da espádice, porém mantiveram as mesmas características do cultivo em Campinas, SP.

Os valores médios de comprimento da haste floral, largura e comprimento da espata e comprimento da espádice das cultivares estudadas são apresentados na Tabela 1, com exceção da cultivar lanomami, que não emitiu espata no período.

Tabela 1. Médias (cm) dos parâmetros: comprimento da haste floral, largura e comprimento da espata e comprimento da espádice de cultivares de antúrios, cultivadas em vasos, no Norte do Paraná. Londrina, 2006.

Parâmetros avaliados	Parakanã	Rubi	Terena	Apalai
Comprimento da haste floral	48,3	53,6	44,6	51,6
Largura da espata	7,1	10,1	11,5	8,1
Comprimento da espata	8,4	12,2	15,0	9,4
Comprimento da espádice	4,5	6,0	7,4	5,3

Terena apresentou a menor haste floral, 44,6 cm e Rubi a maior, 53,6 cm. Tombolato et al. (2004) consideram como requisito para flor de corte o comprimento mínimo de 60 cm de haste, entretanto para planta de vaso, quando mais compacta, melhor. Em relação ao tamanho, Terena e Rubi apresentaram as maiores espatas e Apalai e Parakanã as menores, o que mostra as possibilidades de escolha pelo consumidor.

## CONCLUSÕES

As cultivares de antúrio Parakanã, Rubi, Terena e Apalai podem ser recomendadas para o cultivo na região norte do Paraná, enquanto que lanomami apresentou reduzido crescimento vegetativo e não emitiu espata nos três anos de cultivo, sendo descartada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRILEY, R.A. Culture and cultivar selection for *Anthurium* in Hawaii. **Acta Horticulturae**, 1989, n. 246, p. 227-236.

CUQUEL, F.L.; GROSSI, M.L. Produção de antúrio no litoral do Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.10, n.1/2, p. 35-37, 2004.

DUFOUR, L.; GUÉRIN, V. Growth, developmental features and flower production of *Anthurium andreaeanum* Lind. in tropical conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 98, p. 25-35, 2003.

SUDA, A.; FUKUDA, M. Influences of temperature and light intensity in summer on growth and flowering in *Anthurium*. **Research Bulletin of the Aichi Agricultural Research Center**, n.31, p. 173-178, 1999.

TOMBOLATO, A.F.C.; MATTHES, L.A.F.; UZZO, R.P.; CASTRO, A.C.; SAKAI, M.; SAES, L.A. Recursos genéticos e melhoramento do antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden) no IAC-APTA. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.10, n.1/2, p. 1-5, 2004b.

TOMBOLATO, A.F.C.; RIVAS, E.B.; COUTINHO, L.N.; BERGAMAN, E.C.; IMENES, S.L.; FURLANI, P.R.; CASTRO, C.E.F.; MATTHES, L.A.F.; SAES, L.A.; COSTA, A.M.M.; TAGLIACOZZO, G.M.D. e LEME, J.M. **O cultivo de antúrio: produção comercial**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2002. 47p. (Série Tecnologia APTA, Boletim técnico IAC, 194).

VIVEKANANDA, C.A.; CUQUEL, F.L.; DREFAHL, A.; FARIA, R.T.; TOMBOLATO, A.F.C. Avaliação preliminar de cultivares de antúrio para o Paraná. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS. 14, 2003, Lavras. **Resumos do Congresso**, Lavras: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais, 2003. p.384.

## Estudo das relações genéticas de acessos de *Anthurium* Schott e *Etilingera* Giseke usando marcadores moleculares.

Carvalho, A. A. A. de<sup>1</sup>; Diniz, B.T. <sup>1</sup>; Oliveira, D. S. de<sup>1</sup>; Ferreira, M. A.<sup>2</sup>; Paiva, W.O. de<sup>3</sup>; Marouelli, L.P.<sup>4</sup>; Buso, G.S. C.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Graduando de Engenharia Agrônômica (UnB), *Campus* Universitário Darcy Ribeiro, CEP: 70910-900, Brasília, Distrito Federal, fone (61) 3307-2431, e-mail: [andrea.a4c@gmail.com](mailto:andrea.a4c@gmail.com); <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Caixa Postal 02372, CEP 70770, Brasília, Distrito Federal, fone (61) 3448-4645 e-mail: [buso@cenargen.embrapa.br](mailto:buso@cenargen.embrapa.br); <sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Caixa Postal 3761, CEP: 60511-110, Fortaleza, Ceará; <sup>4</sup>Mestranda do Departamento de Botânica (UnB), e-mail: [lilimaro@yahoo.com.br](mailto:lilimaro@yahoo.com.br).

### INTRODUÇÃO

Os antúrios pertencem à família Araceae e ao gênero *Anthurium* Schott, são de regiões tropicais e subtropicais sendo conhecidas mais de 600 espécies. São plantas herbáceas e epífitas. É conhecido como flor um conjunto formado por uma flor modificada e colorida e uma inflorescência tipo espiga (Figura 1). O antúrio cultivado para flor de corte é da espécie *Anthurium andraeanum* Lind., originário da Colômbia. A flor popularmente conhecida como bastão do imperador pertence à família Zingiberaceae e ao gênero *Etilingera* Giseke. Originária da Indonésia se apresenta na forma de grandes inflorescências (Figura 2). Ambas possuem grande potencial ornamental.

O Nordeste, região carente de fontes permanentes de emprego, vem se destacando como grande produtor e exportador de flores tropicais. Visando o incremento do cultivo de antúrio e bastão do imperador nesta região, espécies exóticas e cultivadas foram coletadas de diferentes localidades para estudos de melhoramento genético.

Os marcadores moleculares possibilitam acessar diretamente diferenças no genótipo de indivíduos. Estes marcadores são aplicados para: monitoramento e organização da variabilidade genética, seleção assistida por marcadores moleculares e proteção de cultivares. Dentre as técnicas de marcadores moleculares a empregada foi o RAPD ("Random Amplified Polymorphic" DNA) por ser uma técnica precisa, rápida, que requer baixos custos e pouco intensiva em mão de obra. Estes já foram utilizados com sucesso para avaliação de similaridade genética entre cultivares de *Anthurium* (Wang, et al, 2001). Porém, no Brasil, há poucos estudos com marcadores moleculares para as espécies aqui estudadas.

Este trabalho tem por objetivo analisar a variabilidade genética de acessos de *Anthurium* do banco de germoplasma da Embrapa Agroindústria Tropical, identificando a espécie silvestre que apresenta maior proximidade genética com o *A. andraeanum* Lind., espécie comercial, e verificar a variabilidade genética entre os indivíduos de *Etilingera elatior*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 132 acessos de *Anthurium*, sendo estes, representantes de 9 espécies coletadas respectivamente, no estado do Pará: *A. lindmanianum*, *A. affine*, *A. plowmanii*, *A. galatospadix* e *A. guaiamum*; do Ceará: *A. andraeanum* (mudas de sementes), *A. andraeanum* (mudas micropropagadas), *A. ellipticum*; e no estado da Bahia: *Anthurium*. sp e 21 acessos do gênero *Etilingera* pertencentes à espécie *E. elatior*.

Reação de amplificação: o DNA foi extraído, conforme descrito em Ferreira e Grattapaglia (1998). As reações de amplificação foram feitas por RAPD. Cada reação continha: 3µl de DNA genômico a 3,0ng/µl; 660,96 µl de água milli-Q autoclavada; 198,9 µl de Tampão 10x para Taq DNA Polimerase; 159,12 µl de dNTPs 2,5 mM; 159,12 µl de BSA; 229,86 µl de Primer a 10ng/ µl; 91,98 µl de MgCl<sub>2</sub>; 30,6 µl de enzima Taq DNA Polimerase e 50 µl de óleo

mineral. Até o momento, foram usados cinco primers: R-11, R-4, R-19, R-2 e A-20. Cada reação foi realizada em um termociclador MJ, programado para 40 ciclos de: 1 minuto a 92°C, 1 minuto a 35°C, 2 minutos a 75°C. Os fragmentos foram visualizados, após eletroforese, em géis de agarose a 1,5%.

Análise estatística: O “fingerprint” de DNA obtido a partir desta técnica permitiu gerar uma matriz binária com cento e cinquenta e três acessos e trinta e dois marcadores RAPD, a qual foi utilizada para estimar a similaridade genética entre os acessos empregando o Coeficiente de Dice. Os acessos foram agrupados em dendograma gerado pela análise UPGMA do programa NTSYS versão 2.10z.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O dendograma obtido a partir da análise desses marcadores, de acessos das espécies de *Anthurium* e *Etilingera elatior*, permitiu visualizar a formação de dois grupos distintos (Figura 3). O primeiro formado pelos indivíduos da família Zingiberaceae, com coeficiente de similaridade 0,44 aproximadamente, e o segundo grupo formado pelos acessos da família Araceae, com coeficiente de similaridade de aproximadamente 0,47.

Pode-se verificar que as espécies exóticas de *Anthurium* provavelmente constituem-se em fontes ricas de variabilidade para o melhoramento genético. Foi observado que as diferentes espécies apresentaram bandas bem distintas entre elas o que propiciou o agrupamento dos indivíduos de acordo com as espécies propostas pela classificação com base em descritores morfológicos. Porém alguns acessos classificados anteriormente como sendo de uma espécie, tiveram perfis de bandas comuns ao de outra espécie. Foi o caso dos acessos 2 e 6, antes classificados como *A. lindmanianum*, pertencem à espécie *A. affine*. O agrupamento da espécie *A. andraeanum* (mudas micropropagadas) e *A. andraeanum* (mudas de sementes) foi diferente, porém próximos. Isto provavelmente ocorreu porque apesar de serem da mesma espécie, existe a segregação que ocorre nas plantas provenientes de sementes. A espécie de *Anthurium* que mostrou maior proximidade com a espécie cultivada foi *Anthurium galatospadix* por se agrupar mais próxima à espécie comercial.

## CONCLUSÃO

Através dos marcadores moleculares obtidos foi possível observar a formação de subdivisões nos dois gêneros estudados, o que representa variabilidade genética, condição fundamental para progresso nos programas de melhoramento. Além disso, os marcadores mostraram-se úteis para a detecção de erros na classificação com base em descritores morfológicos.



Figura 1. Flor modificada de *Anthurium* com inflorescência do tipo espiga .



Figura 2. Inflorescência de *Etlingera*.

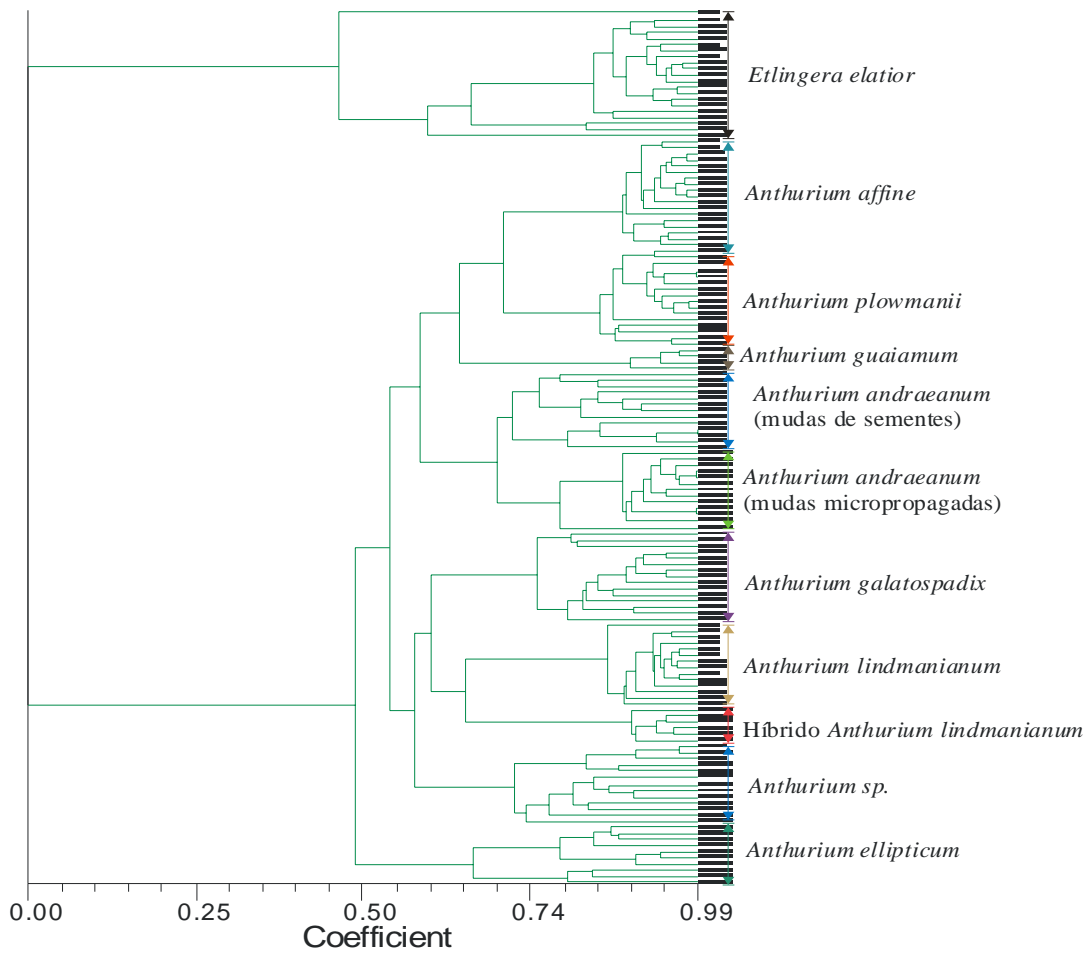


Figura 3. Dendrograma formado utilizando o método de agrupamento UPGMA e coeficiente Dice.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WANG, .J. Y.; CHUANG, K. C.; FAN, M. J., 2001 Comparative analysis of genetic similarity among Anthurium cultivars by using ISSR and RAPD markers Journal-of-Agricultural-Research-of-China, 50(1): 54-67.

FERREIRA, M. R.; GRATTAPAGLIA, D., 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética 2. Ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN.

## PALAVRAS-CHAVE

*Anthurium*; *Etilingera*; variabilidade genética; melhoramento.

## Indução de calos *in vitro* em diferentes explantes de sisal (*Agave sisalana* Perrine)<sup>1</sup>.

Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos<sup>1,2</sup>; Rios, Ana Paula de Souza<sup>1,3</sup>; Carneiro, Fernando dos Santos<sup>1,4</sup>; Lyra, Camila dos Santos<sup>1,4</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP 44100-000; <sup>2</sup> Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sanqueiroz@ig.com.br](mailto:sanqueiroz@ig.com.br); <sup>3</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup> Prof. Dr. – Depto Biologia - UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

O sisal dá origem à principal fibra dura produzida no mundo, contribuindo com mais da metade da produção comercial de todas as fibras desse tipo. Sua exploração, no Brasil, concentra-se, no Nordeste, geralmente em áreas onde as condições de clima e solo são pouco favoráveis ou de escassas alternativas para a exploração de outras culturas que ofereçam resultados econômicos satisfatórios (EMBRAPA, 2003).

O sisal é propagado vegetativamente e de forma lenta, por bulbilhos e por rebentões. Os bulbilhos são produzidos no escapo floral, após a queda das flores, enquanto os rebentões se originam de rizomas subterrâneos emitidos pela planta –mãe (Silva *et al.*, 1999).

Devido a grande importância econômica desta espécie e da grande demanda de mudas, há necessidade de se acelerar o processo de propagação. Assim, a propagação *in vitro* utilizando bulbilhos como material vegetal pode ser uma técnica viável para o cultivo do sisal.

Estudos realizados na Índia demonstraram que plantas de *A. sisalana* podem ser propagadas *in vitro* com sucesso, tanto via embriogênese somática quanto via organogênese (Nikan, 1997; Hazra *et al.*, 2002a, Hazra *et al.*, 2002b).

O objetivo deste trabalho foi verificar qual melhor tipo de explante na indução de calos em sisal.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

Utilizou-se como material vegetal, bulbilhos de sisal estabelecidos *in vitro* de acordo com Queiroz *et al.* (2006). Utilizou-se três tipos de explantes: bases dos bulbilhos; folhas e raízes (Figura 1).

Empregou-se o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, solidificado com ágar (6,5 g/L), suplementado com sacarose (3%), com ANA (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L) e CIN (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L) sozinhos e em todas as combinações possíveis totalizando 20 tratamentos. O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos). Distribui-se 15 mL de meio de cultura em tubos de ensaio (150 x 25mm).

Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de  $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas - frias.

O delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4 x 5 (Explante x ANA x CIN), com 5 repetições, cada uma formada de 4 tubos.

Aos 60 dias avaliou-se a porcentagem de explantes com calos (%CA).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software Sisvar (Ferreira, 2003). Os dados de porcentagens foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$ .

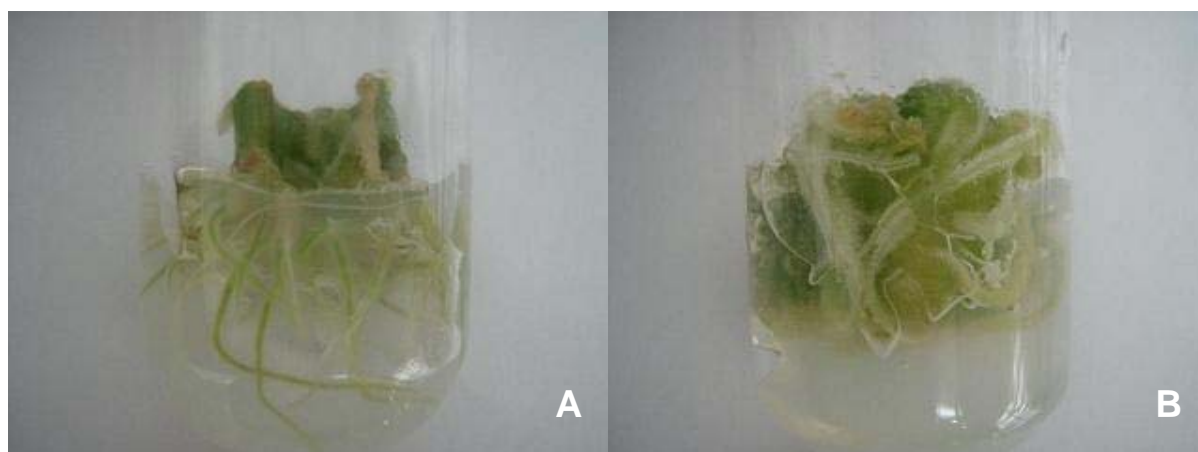




**Figura 1.** Diferentes tipos de explantes de sisal. A – base; B – folha e C – raiz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto o explante base como folha apresentaram excelentes respostas para calogênese. Os calos em geral tinham uma coloração verde clara e aspecto friável. Nas folhas houve grande formação de raízes (Figura 2), o que, segundo alguns autores não é desejável, pois prejudica a posterior regeneração da parte aérea (Scowcroft & Adamson, 1976; Mroginski & Kartha, 1981; Meijer & Broughton, 1981). Já os explantes raízes, apresentaram uma pequena porcentagem de calos e os mesmos escureceram rapidamente. Calos rizogênicos em sisal também foram observados por Nikam *et al.* (2003).



**Figura 2.** Folhas de bulbilhos de sisal. A e B – Indução de rizogênese.

Observou-se para dupla interação entre os explantes e ANA que tanto para base quanto para folha não houve diferenças entre as concentrações sendo que em média obteve-se mais de 70% de calos nesses explantes. Não houve indução de calos na ausência do regulador (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de porcentagem de calos para a dupla interação entre tipos de explantes e concentrações de ANA.

Explantes	Concentrações de ANA (mg/L)			
	0	0,25	0,5	1
Base	0,00bA	70,67aA	72,00aA	73,33aA
Folha	0,00bA	78,67aA	72,00aA	73,33aA
Raiz	0,00aA	12,00aB	8,10aB	8,00aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha, e maiúscula na mesma coluna para cada tratamento, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey.

Analisando-se os resultados obtidos para a tripla interação (CIN x ANA x EXP) verificou-se que independente das concentrações de ANA, os melhores resultados para o explante base, foram obtidos na concentração de 0,5mg/L de CIN, sendo que os valores variaram entre 80 e 100% de formação de calos e para o explante folha na concentração de 1,5 mg/L de CIN, os valores ficaram entre 93,33 e 100% (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios obtidos para a variável porcentagem de calos para a interação tripla entre os tratamentos: tipos de explante dentro de CIN e ANA em explantes de sisal.

CIN	ANA	EXPLANTES		
		BASE	FOLHA	RAIZ
0	0	0,00a	0,00 a	0,00 a
0	0,25	53,33b	86,67a	13,33c
0	0,5	60,00a	60,00a	6,67b
0	1,0	86,67a	86,67a	13,33b
0,25	0	0,00a	0,00a	0,00a
0,25	0,25	80,00a	60,00a	0,00b
0,25	0,5	53,33a	26,67a	35,71a
0,25	1,0	60,00a	40,00a	6,67b
0,5	0	0,00a	0,00a	0,00a
0,5	0,25	86,67a	73,33a	13,33b
0,5	0,5	80,00a	100,00a	0,00b
0,5	1,0	100,00a	80,00a	13,33b
1,0	0	0,00a	0,00a	0,00a
1,0	0,25	80,00a	80,00a	33,00b
1,0	0,5	80,00a	73,33a	0,00b
1,0	1,0	40,00b	66,67a	0,00b
1,5	0	0,00a	0,00a	0,00a
1,5	0,25	53,33b	93,33a	0,00c
1,5	0,5	86,67a	100,0a	0,00b
1,5	1,0	80,00a	93,33a	6,67b

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey.

Binh *et al.* (1990), estudando espécies de Agave, verificaram uma intensidade mínima na indução de calos, quando utilizaram os hormônios CIN e ANA. Já em nosso estudo observou-se que a presença de ANA e CIN se faz necessária para a indução de calos em explantes de bulbilhos de sisal. Verificou-se também que as concentrações de cinetina utilizadas não inibiram a formação de raízes nos explantes (Dados não mostrados).

A melhor média para indução de calos dentro dos tratamentos de CIN associados ao ANA foi obtida na concentração de ANA (1mg/L) + CIN (0,5 mg/L). Resultados semelhantes foram encontrados por Nikam *et al.* (2003), que induziram calos dos bulbilhos de sisal em meio MS suplementado com ANA (0,25 – 1mg/L) + CIN (1 - 2 mg/L).

## CONCLUSÃO

Para a obtenção de calos em sisal faz-se necessário o uso de reguladores de crescimento;

Segmentos da base de bulbilhos de sisal apresentaram maior formação de calos que segmento foliar e radicular, sendo considerados como ótimos explantes para a indução de calos em *Agave sisalana*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BINH, L. T.; MUOI, L. T.; OANH, T. D.; THANG & PHONG, T. D. Rapid propagation of agaves *in vitro* tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* Vol. 23, 1990.

EMBRAPA. Informações gerais sobre o sisal. Disponível em: <<http://www.cnpa, Embrapa.br/>> Acesso em: 13 de outubro de 2003.

FERREIRA, D. F. **SisVar – Versão 4.3**. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Sisal plant regeneration via organogenesis. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, 70, n. 3, p. 235-240, dez., 2002a.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Plant regeneration via somatic embryogenesis in *Agave sisalana* Perr. Ex Engelm. **Phytomorphology**, v. 70, n. 2-3, p. 217-222, 2002b.

MEIJER, E.G.M.; BROUGHTON, W.J. Regeneration of whole plants from hypocotyl-, root-, and leaf-derived tissue cultures of the pasture legume *Stylosanthes guyanensis*. **Physiologia Plantarum**, 52 (2), p. 280-284, 1981.

MROGINSKI, L. A.; KARTHA, K. K. Regeneration of pea (*Pisum sativum* L. Cv. Century) plants by *in vitro* culture of immature leaflets. **Plant Cell Reports**, v.1, n. 2. p. 64-66, 1981.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, 15: 473-497, 1962.

NIKAM, T. D. High frequency shoot regeneration *Agave sisalana*. **Plant Cell Tissue and Organ culture**. Dordrecht, v. 51, n.3, p. 225-228, nov., 1997.

NIKAM, T. D.; BANSUDE, G. M.; ANEESH KUMAR, K. C. Somatic embryogenesis in sisal (*Agave sisalana* Perr. Ex. Engelm). **Plant Cell Report**. New York, v.22, n.3, p.188-194, out., 2003.

QUEIROZ, S. R. O. D.; RIOS, A. P. S. ; OSUNA, J. T. A.; SANTANA, J. R. F. Estabelecimento *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Perrine) I. Controle da contaminação e da oxidação. **Magistra**, V. 18, n. 3, Julho/Set, p. 130-139, 2006.

SCOWCROFT, W. R.; ADANSON, J. A. Organogenesis from callus cultures of the legume *Stylosanthes hamata*. **Plant Science Letters**, 7, 39-42, 1976.

SILVA, O. R. R. F.; CARVALHO, O. S.; RAMOS, E. S. B. Cultivo do Sisal no Nordeste. In: SILVA, O. R. R. F; BETRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Sisal no Brasil**. Brasília, EMBRAPA-SPI; Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999, p. 53-92.

PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per.; Calogênese; Rizogênese.

Agradecimentos: FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).

## Ocorrência e reprodução da espécie *Paepalanthus speciosus* koern.

Tiemann, Luciana Umbelino<sup>1</sup>; Campos, Antonio Xavier de<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Extensionista Rural- NS, Emater/DF.Avenida Central, Bloco 925, casa 04, Núcleo Bandeirante-DF. E-mail: [lutiemann@pop.com.br](mailto:lutiemann@pop.com.br). <sup>2</sup> Professor adjunto 1, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, ICC Sul, Sala 11, caixa Postal 04508, 70910900 Brasília-DF, fone (61) 3307-2823, r. 45 E-mail: [xavierac@unb.br](mailto:xavierac@unb.br)

## INTRODUÇÃO

A distribuição da família das Eriocauláceas é pantropical com centros de diversidade no cerrado. A espécie *Paepalanthus speciosus* koern é um sub-arbusto pertencente à família Eriocaulaceae, angiosperma, da classe monocotiledônea com fruto do tipo cápsula diminuta, bilocular, valvas membranáceas e uma semente por lóculo, Almeida et al., (1998). Essas plantas são conhecidas como sempre-vivas, flores secas, sombreiro devido a suas inflorescências e escapos conservarem a aparência de estruturas vivas. A espécie no local de origem é de fácil identificação pela sua forma de umbela, inflorescência de cor branca, haste oca com cores intercaladas de marrom escuro e branco, folha aculeada de cor verde quando nova, e quando velha fica amarronzada e fixada permanentemente na haste.

*Paepalanthus speciosus* koern é comercializada no seu habitat natural de forma extrativista especialmente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás. Tem tradição ornamental e potencial para decoração, sinalização de estradas e também segundo fontes populares da região do cerrado possui grande atividade como repelente de insetos. A exportação de flores secas para os Estados Unidos e Europa aumentou significativamente a partir da década de 1970, e a procura dessa espécie vem crescendo por parte dos comerciantes. A exploração desordenada está prejudicando a recuperação das populações naturais e em certos casos colocando em riscos de extinção algumas espécies da família Eriocaulácea, Splett et al. (1994), pelo fato de sua inflorescência ser colhida no estágio inicial e não existir a oportunidade para a disseminação e reprodução de sementes da espécie. Os objetivos do trabalho foram levantar as fitofisionomias da ocorrência da espécie *Paepalanthus speciosus* Koern, obter dados sobre a fenologia da planta e avaliar os efeitos de tratamentos aplicados na germinação das sementes.

## METODOLOGIA

O estudo foi realizado, no campo, na área de proteção ambiental da Fazenda Água Limpa da universidade de Brasília com observações das fitofisionomias e ocorrências da espécie com levantamentos da altura total da planta, altura da planta até a inflorescência, altura da inflorescência, diâmetro da inflorescência, diâmetro da haste ao nível do solo, diâmetro da haste a 5cm da inflorescência e coleta de frutos para teste de germinação de sementes em laboratório. As fitofisionomias foram caracterizadas observando o tipo de vegetação, biodiversidade, solo, umidade. A altura e o diâmetro foram determinados com o auxílio de uma trena plástica e paquímetro, respectivamente, em 10 indivíduos escolhidos aleatoriamente em uma população de plantas nativas nas diferentes fitofisionomias.

A % de germinação foi determinada através de 50 sementes com e sem envoltórios cujas inflorescências foram colhidas com estágio avançado de maturação e distribuídas em quatro caixas de acrílico apenas com as sementes embebidas e com os seguintes tratamentos: 1- sementes nuas com água destilada, 2- sementes nuas com nitrato de potássio a 0,2%, 3- fruto com água destilada e 4- fruto com nitrato de potássio a 0,2%. Essas quatro caixas contendo os tratamentos foram fechadas e colocadas numa câmara de germinação no laboratório de sementes da Universidade de Brasília, com temperaturas alternadas de 20°C /30°C, e as horas de luz alternadas em 16 horas sem luz e 8 horas com luz na maior temperatura (20°C/30°C-16h/8h). As sementes germinadas foram contadas após um e dois meses de observação, para calcular a % de germinação. Fez-se a avaliação da densidade populacional da espécie *Paepalanthus speciosus* koern em 10m<sup>2</sup> nas diferentes fitofisionomias, o percentual das medidas de diâmetro e altura da haste e o poder de germinação das sementes.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A distribuição das Eriocauláceas é pantropical e sua ocorrência na área de estudo foi observada nas fitofisionomias denominadas de Murundum, Campo sujo, Campo rupestre e Campo limpo, Figura 1. Estas fitofisionomias apresentam uma população aproximada de 19.000, 10.000, 4.000 e 1.000 plantas por hectare, respectivamente, (Tabela 1). Observa-se que a maior % de população das plantas foi encontrada na fitofisionomia Murundum e se deve a maior % de umidade e fertilidade do solo.

**Tabela 1** – Ocorrência e densidade populacional estimada da espécie *Paepalanthus speciosus* koern na área da Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília.

Fitofisionomias	População de plantas estimada por hectare
Murundum	19.000
Campo sujo	10.000
Campo rupestre	4000
Campo limpo	1000

Na tabela 2 são mostrados os valores médios de altura e diâmetro da haste. A maior altura (1,17m) se deu nas plantas da fitofisionomia Murundum devido possivelmente a % de umidade ser mais elevada além da adequação da profundidade e fertilidade do solo. O maior diâmetro (14,9mm) nas plantas da fitofisionomia Campo sujo pode estar relacionado ao envoltório que as plantas apresentam como mecanismo de proteção às sucessivas queimadas que ocorrem nesse ambiente. As menores alturas (1,09m) e diâmetros da haste (9,17mm) se deram nas plantas da fitofisionomia Campo rupestre que é esperado pelo fato da dificuldade do desenvolvimento do sistema radicular em superfícies de solos litólicos.

**Tabela 2** - Valores médios de altura e diâmetro de dez plantas da espécie *Paepalanthus speciosus* Koern nas diferentes fitofisionomias.

Fitofisionomia	Altura total. (m)	Altura até inflorescência (m)	Altura da Inflorescência (m)	Diâmetro da inflorescência (m)	Diâmetro da haste ao nível do solo (mm)	Diâmetro da haste a 5cm da inflorescência (mm)
Murundum	1,17	0,88	0,29	0,46	12,30	8,80
Campo sujo	1,16	0,87	0,28	0,47	14,90	9,10
Campo rupestre	1,09	0,74	0,28	0,37	9,17	7,50
Campo limpo	1,15	0,78	0,28	0,45	12,00	9,50

A tabela 3 mostra a % de germinação das sementes aos 30 e 60 dias após a aplicação dos tratamentos. Verifica-se que aos 30 dias, as sementes que tinham envoltórios apenas 2% germinaram no tratamento com água e não houve germinação no tratamento com nitrato de potássio a 0,2%, Tabela 3. A % de germinação foi maior (44%) nas sementes nuas tratadas com água e bem menor nos tratamentos com nitrato de potássio a 0,2% (26%). Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos a % de germinação foi 42%, 22%, 8% e 4% para o primeiro, segundo, terceiro e quarto tratamentos, respectivamente (Tabela3). O estudo mostrou que o envoltório inibe a germinação das sementes e segundo Oliveira & Silva, (1993), esse envoltório é uma barreira natural para a germinação das sementes. O mesmo autor assinala que em condições naturais esse envoltório é queimado pelo fogo no período da seca e as sementes são umidificadas pelas águas da chuva de verão que causam a sua germinação. As influências de umidade e temperatura em condições naturais foram ratificadas com os dados encontrados nesse estudo em ambiente controlado.

**Tabela 3** – Porcentagem de germinação de sementes da espécie *Paepalanthus speciosus* Koern 1 e 2 meses após serem submetidas a diferentes tratamentos, na câmara de germinação.

Tratamentos de sementes.	Número de sementes germinadas no primeiro mês	Número de sementes germinadas no segundo mês	% de germinação de sementes no primeiro mês	% de germinação de sementes no segundo mês
Sementes nuas com água.	22	21	44	42
Sementes nuas com KNO <sub>3</sub> a 0,2%	13	11	26	22
Sementes com envoltório com água	01	04	02	08
Sementes com envoltório com KNO <sub>3</sub> a 0,2%.	00	02	00	04

### CONCLUSÕES

As espécies das Eriocauláceas são encontradas em maior número de população e com mais desenvoltura na fitofisionomia Murundum e suas sementes quando nuas germinam com facilidade no tratamento com água.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado espécies vegetais úteis. *Paepalanthus speciosus* Koern. Embrapa – CPAC. Planaltina DF, V. 13. pág. 267 – 269. 1998.

OLIVEIRA, P. E.; SILVA, J.C.S., Reproductive biology of two species of kielmeyera (*Guttiferae*) in the cerrados of central Brazil. *Journal of tropical ecology*. V.9, pág. 67 – 69, 1993.

SPLETT, S.; BARTHLOTT, W.; STUTZEL, TH. As Eriocaulaceas do jardim Botânico de Brasília. *Bol. Herb. Ezechias paulo heringer*. V. 1 pag. 27 – 33. 1994

**PALAVRAS – CHAVES:** *Paepalanthus speciosus*, fitofisionomia, fenologia, sementes, germinação.

## Crioconservação de sementes de *Petunia hybrida* e de *Dyckia tuberosa*

Antonio F.C. Tombolato<sup>1,2</sup>, Thiago N. Lucon<sup>1,3</sup>, Lizz Kezzy de Moraes<sup>1</sup>; Wilson Barbosa<sup>1,2</sup>, Renato F.A. Veiga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Agronômico, IAC, Caixa Postal 28, CEP 13012-970 Campinas (SP), Brasil. E-mail: [tombolat@iac.sp.gov.br](mailto:tombolat@iac.sp.gov.br); <sup>2</sup> bolsista CNPq; <sup>3</sup>bolsista FAPESP.

A crioconservação transformou-se em uma alternativa interessante para a conservação de recursos genéticos. O Jardim Botânico do IAC tem como objetivo conservar espécies nativas do Estado de São Paulo. Possui áreas e estruturas para preservação *in situ*, *ex situ* e *in vitro*, além das câmaras com temperatura baixa. *Petunia* (Solanaceae) e *Dyckia* (Bromeliaceae) são plantas que apresentam valor ornamental e de grande apelação para um mercado futuro, por estas razões, foi objeto da atenção para estudo de conservação de sua diversidade natural. Com o objetivo de pesquisar a criogenia na conservação de sementes de duas espécies, *Petunia hybrida* e *Dyckia tuberosa*, foi realizado um experimento submetendo-se sementes dessas espécies a quatro tratamentos de conservação com nitrogênio líquido (-196°C): T1 – controle em temperatura ambiente; T2 – sem crioprotetor; T3 – com o crioprotetor de alginato de sódio; T4 – com o crioprotetor PVS<sub>2</sub>. Empregou-se um delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 4, em que cada tratamento foi composto de uma amostra de 100 sementes em quatro repetições de 25 unidades cada. Verificaram-se os efeitos dos tratamentos na germinação de sementes, observando-se diferenças significativas em nível de 5% para interação espécie e tratamento de conservação. Observou-se que, para T1 a germinação de *P. hybrida* e *Dyckia tuberosa* foi, em média, de 88% e 60%, respectivamente. Para T2, 83% e 58%, para T3, 5% e 72%, e para T4, 82% e 85%, respectivamente. Os resultados comprovam que o uso de agentes protetores não é necessário para a crioconservação de *P. hybrida*, uma vez que as melhores taxas de germinação ocorreram no controle (88%). O uso do alginato de sódio se mostrou totalmente inadequado para conservar sementes de *P. hybrida*, mostrando uma mortalidade quase total das sementes (5% de germinação). Para *D. tuberosa* a melhor taxa de germinação foi com o agente protetor de PVS<sub>2</sub> com 84,23%, seguida do alginato de sódio com 72%, provando uma ação estimulante desses agentes sobre a germinação das sementes desta espécie.

Palavras-chaves: crioconservação, *Petunia hybrida*, *Dyckia tuberosa*



## **Avaliação da aplicação de fertilizantes comerciais em grama esmeralda (*Zoysia japonica*)**

Carozelli, Paulo André<sup>1</sup>; Castilho, Regina Maria Monteiro de<sup>2</sup>; Oliveira, Letícia Lisboa<sup>3</sup>; Pina, Ticiane Petean<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Agronomia – Unesp – Ilha Solteira, e-mail: pacarozelli@yahoo.com.br; <sup>2</sup> Docente do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia – Unesp – Ilha Solteira, e-mail: castilho@agr.feis.unesp.br; <sup>3</sup> Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Unesp – Ilha Solteira; <sup>4</sup> Eng<sup>a</sup>. Agrônoma.

### **INTRODUÇÃO**

O gramado constitui elemento importante na composição de um jardim, tornando-se às vezes seu ponto central. Realça espécies vegetais e outros elementos paisagísticos como pérgulas, fontes, estátuas e piscinas e é fundamental em áreas de lazer, campos de futebol e golfe. Desta forma, quando do planejamento paisagístico, o revestimento vegetal do solo assume papel de destaque, representando, às vezes, até 80% da área. Em outras circunstâncias, vêm de encontro a uma imposição de ordem técnica, quando relacionado com revestimento vegetal de taludes de obras rodoviárias, represas, ferrovias e, nesses casos, destinam-se a oferecer uma barreira contra os efeitos da erosão (COELHO e PÁDUA, 1997).

*Zoysia japonica* Steud., popularmente conhecida por grama-esmeralda, zoízia silvestre, grama-zoízia ou zoízia, é uma das espécies mais utilizadas para a composição de gramado. Pertencente à família Gramineae (Poaceae) e originária do Japão, é uma herbácea rizomatosa, reptante, perene, de coloração verde-esmeralda e muito ramificada. Atinge a altura de 10-15 cm, sendo suas folhas estreitas e pequenas, dispostas em hastes curtas e densas, formando um perfeito tapete quando ceifada com freqüência. É apropriada para a formação de gramado a pleno sol, em substituição à grama-batatais (*Paspalum notatum*) e à grama-inglesa (*Stenotaphrum secundatum*), por ter a folhagem mais delicada e por exigir podas menos freqüentes. É mais rústica que as demais espécies de *Zoysia*, mas menos resistente ao pisoteio se comparada à grama-batatais e menos tolerante ao sombreamento que a grama são-carlos (*Axonopus*) (LORENZI e SOUZA, 1999).

Por ser tolerante a pisoteio é altamente empregada em campos esportivos, clubes, jardins, residências, indústrias, parques, playgrounds, etc. (DEMÉTRIO et al., 2000).

Uma das vantagens do uso da grama-esmeralda é a formação de um belo tapete pelo entrelaçamento dos estolões, penetrantes e que enraízam facilmente, com as folhas (ARRUDA, 1997).

A grama-esmeralda deve ser mantida com cerca de 3 cm, sendo portanto cortada sempre que a altura ultrapassar esse valor, ou seja, a freqüência de cortes, principalmente se a grama for bem irrigada, é alta. Caso seja um gramado esportivo, que sofre pisoteio constante, a necessidade de adubação se faz maior e a freqüência de cortes aumenta ainda mais, posto saber-se que o crescimento do gramado se torna mais acelerado. A adubação freqüente mantém a coloração verde-esmeralda mais intensa, o que é importante esteticamente (ARRUDA, 1997)

A freqüência com que o gramado necessita ser aparado depende de três fatores: tipo de grama, época do ano e regime de regas e adubação. Em se demorando muito para aparar, quando isso finalmente for feito, o gramado fica com pontos falhos e aspecto de queimado. De qualquer modo, a prática comprova que, quanto mais se fertiliza e rega um gramado, mais freqüentemente ele precisará ser aparado, e que, quando a grama é aparada de maneira adequada e na altura recomendada, as raízes crescem mais profundamente e os gramados ficam mais bonitos e saudáveis (ARRUDA, 1997).



Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso de fertilizantes comerciais em grama esmeralda.

## MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi desenvolvido no período de 27 de maio a 20 de agosto de 2006 na FEPE – Unesp, Ilha Solteira, em grama já existente no local (*Zoysia japonica* Steud.) que fora implantada em tapetes no final de janeiro de 2003, de acordo com MATEUS e CASTILHO (2003).

Foram utilizados os adubos: Florenid Eagle<sup>®</sup> e Florenid Césped<sup>®</sup>, sendo ambos de liberação lenta e Forth Jardim<sup>®</sup> comparado a uma testemunha, sendo suas formulações e doses de aplicação as seguintes:

**Florenid Eagle<sup>®</sup>** : 20g/m<sup>2</sup> em um intervalo de 90 dias.

- N total: 24% (nitríco: 3%, amoniacal: 1%, IBDU (ISODUR): 14,7%, uréico: 5,3%);

- P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 10%

- Fe: 1%

- K<sub>2</sub>O: 10%

- Mn: 0,5%

**Florenid Césped<sup>®</sup>** : 25g/m<sup>2</sup> em um intervalo de 90 dias.

- N total: 20% (nitríco: 2,5%, amoniacal: 8%, IBDU (ISODUR): 9,5%)

- K<sub>2</sub>O: 8%

- MgO: 2%

- P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 5 %

- SO<sub>3</sub>: 17%

- Fe: 0,3%

- B: 0,01%

- Mn: 0,01%

- Cu: 0,002%

- Zn: 0,002%

**Forth Jardim<sup>®</sup>** : 150g/m<sup>2</sup> em um intervalo de 45 dias.

- N: 13%

- Mo: 0,002%

- Mn: 0,08%

- Ca: 0,2%

- K<sub>2</sub>O: 13%

- S: 5%

- B: 0,04%

- Cu: 0,05%

- Zn: 0,15%

- Fe: 0,2%

- Mg: 0,2%

Avaliou-se a massa fresca, massa seca, altura e teor de clorofila das folhas de grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições/tratamento, sendo assim as doses aplicadas e o intervalo de tempo entre as aplicações em cada parcela (2X2m cada parcela). Para a análise estatística foi utilizado o programa SANEST (ZONTA e MACHADO, 1991).

## RESULTADOS

Observa-se na Tabela 1 que, nas parcelas onde foi aplicado o fertilizante Forth Jardim<sup>®</sup> ocorreu um aumento significativo na massa fresca, uma altura maior comparado com a testemunha e um maior índice de clorofila e apresentou uma cor verde azulada, melhorando o seu aspecto estético-ornamental. Esse resultado corrobora com MATEUS e CASTILHO (2004), que concluíram que é necessária a aplicação de fertilizante em grama-esmeralda, em intervalos regulares, para melhorar a resistência e a qualidade estética do gramado.

**Tabela 1.** Média de Massa Fresca (g), Massa Seca (g), Altura das Folhas (cm) e Teor de Clorofila (mg/cm<sup>2</sup>) de grama Esmeralda (*Zoysia japonica*). Ilha Solteira, 2006.

Tratamento	Massa Fresca (g)	Massa Seca (g)	Altura das Folhas (cm)	Teor de Clorofila (mg/cm <sup>2</sup> )
Testemunha	19.69 D	10.98 C	4.13 C	3.14 C
Florenid Eagles	43.21 B	20.43 A	4.33 B	3.67 AB
Florenid Césped	33.45 C	16.00 B	4.71 AB	3.48 B
Forth Jardim	44.76 A	19.54 A	4.95 A	3.77 A

A maior produção de massa seca foi obtida com os fertilizantes Forth Jardim e Floranid Eagle, e para massa fresca o tratamento que proporcionou maior valor foi o Forth Jardim; portanto, pode-se relacionar este resultado com o teor de clorofila das folhas, onde ocorreu uma maior atividade fotossintética, resultando assim em uma maior massa foliar.

Os resultados apresentados pela testemunha, com relação ao teor de clorofila das folhas, demonstram que há a necessidade de fertilização do gramado, posto que diferencia a qualidade estética do mesmo.

Comparando os resultados obtidos, tendo como base a quantidade de nutrientes fornecida por cada fertilizante, observa-se que o Forth Jardim apresentou resultado prontamente, posto que é de liberação imediata.

Em relação aos de liberação lenta, que tiveram resultados inferiores, porém iguais estatisticamente em determinadas avaliações, esses apresentam maior N Total, mas a forma disponível caracteriza a sua liberação lenta, e possivelmente em uma coleta posterior, apresentaria resultados semelhantes.

Segundo TITCHMARSH (1981) a adubação transmite força e espessura para o gramado, dando-lhe mais condições de resistência à seca, às doenças e a plantas infestantes, além de manter boa coloração e textura.

ARRUDA (1997) constata que em gramado esportivo a fertilização deve ser freqüente, garantindo uma maior resistência, já que este sofre pisoteio constante e, portanto, a freqüência de cortes aumenta. A adubação freqüente mantém a coloração verde-esmeralda mais intensa, o que é importante esteticamente.

Campos esportivos, segundo CAMARA (2006), possuem uma intensidade de uso muito maior em relação aos gramados em geral, e sua adubação, assim como as outras práticas de manutenção também devem ser mais intensas, para que o gramado tenha condições de atender às exigências do esporte a ser praticado, com qualidade e sem risco para o usuário.

Verificou-se, portanto, que apesar do maior crescimento do gramado com o uso dos fertilizantes no presente experimento, levando ao maior número de cortes, isso se faz necessário, como citado por ARRUDA (1997), TITCHMARSH (1981) e CAMARA (2006).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que é necessária a aplicação de fertilizantes em gramados, visto o ganho estético e a resistência. Sugere-se que sejam realizadas outras pesquisas para adequar a quantidade do adubo, assim como o uso de reguladores de crescimento.

## REFERÊNCIAS

ARRUDA, R. L. B. **Gramados**. São Paulo: Europa, 1997. 67p. (Itogress)

CAMARA, F. Adubação em gramados esportivos. In: SIGRA – Simpósio sobre Gramados. 3, 2006, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FCA/FUNDUNESP, 2006.

COELHO, S. J.; PÁDUA, T. Formação de gramado com grama-batatais (*Paspalum notatum* Flugge), a partir de diferentes tipos de muda. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.21, n.2, p.160-166, 1997.

DEMÉTRIO, V. A. et al. **Composição paisagística em parques e jardins**. Piracicaba: FEALQ, 2000. V.8, 103p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Plantarum, 1999. p.568.

MATEUS, C. de M. D'; CASTILHO, R. M. M. de. Influências das adubações orgânicas e químicas no desenvolvimento da grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.), em um Argissolo Vermelho no Noroeste Paulista. In: Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 14, 2003, Lavras: **Resumos....**Lavras: UFLA, 2003.

MATEUS, C. de M. D'; CASTILHO, R. M. M. de. Influência da adubação de manutenção em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.), em um Argissolo Vermelho no Noroeste Paulista. In: Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, 15, 2004, Ubatuba. **Resumos...**Ubatuba:UNITAU, 2004.

ZONTA, E. P. ; MACHADO, A. A. SANEST – Sistema de análise de variância por microcomputadores. Pelotas, UFPel, 1991.

PALAVRAS-CHAVE: grama esmeralda, adubação

## **Metodologias para avaliação do pH e condutividade elétrica em substrato sob níveis de fertirrigação.**

Mota, Poliana Rocha D'Almeida<sup>1,2</sup>; Villas Bôas, Roberto Lyra <sup>2</sup>; Ludwig, Fernanda<sup>2</sup>; Fernandes, Dirceu Maximino<sup>2</sup>; Luz, Michele Abreu<sup>2</sup>; Perón, Ivan Henrique<sup>2</sup>; Fanela, Thiago Luís Martins<sup>2</sup>; Oliveira, Cláudio Satoshi Hashimoto de<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem; <sup>2</sup>Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, CEP: 18603-970, Botucatu, SP, fone (14) 3811-7218, e-mail: [polimota@fca.unesp.br](mailto:polimota@fca.unesp.br)

### **INTRODUÇÃO**

O suprimento de nutrientes de forma eficiente é muito importante na produção de flores, pois resulta na disponibilidade destes para as plantas. O controle da fertirrigação visando um manejo adequado, pode se dar medindo o pH e a condutividade elétrica (CE) durante o ciclo de cultivo.

Burgueño (1996) sugere o monitoramento da salinidade, ou seja, da concentração iônica por intermédio de medidas sistemáticas da condutividade da solução do solo e até mesmo a tomada de decisão quanto ao momento e quantidade de fertilizantes a serem aplicados via água de irrigação.

No laboratório o pH e a CE podem ser estimados a partir de medidas do extrato de saturação (CEes) ou da condutividade em diferentes relações solo:água destilada (Richards, 1954). Os métodos mais utilizados tem sido o uso do extrator de solução e o "Pour-through". Essas metodologias vêm sendo adotadas por produtores de flores, porém sem o devido conhecimento da relação entre elas, pois cada metodologia apresenta suas particularidades.

Silva et al. (1999) citam que o uso do extrator de solução provido de cápsulas porosas em umidades próximas a capacidade máxima de retenção de água é de fácil execução e a solução corresponde à umidade equivalente ao momento em que a solução é absorvida pela planta. Assim, os solutos dissolvidos são os mesmos que a planta estaria absorvendo além de possibilitar uma amostragem sistemática, pontual e não destrutiva, sendo ainda a aferição da CE praticamente instantânea.

O método do "Pour-through" se baseia no deslocamento de um volume de solução, adicionado na parte superior do substrato, com o objetivo de se obter amostras de nutrientes através da solução lixiviada (Cavins, 2002).

Devido à escassez de pesquisas relacionando metodologias, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o pH e a CE de substratos submetidos a fertirrigação com diferentes concentrações nutricionais por meio da metodologia do extrator de solução e o método do "Pour-through".

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado sob cultivo protegido no Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo, da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP situado no município de Botucatu, Estado de São Paulo.

Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com cinco repetições e de cinco níveis de condutividade elétrica (CE). Os níveis de CE determinados na solução aplicada foram: 0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e 6,5 dS m<sup>-1</sup>. A fertirrigação foi realizada de modo que cada vaso recebesse as quantidades préestabelecidas de nutrientes e um mesmo volume. O monitoramento da CE foi realizado, ajustando a quantidade de sais aplicados para a manutenção dos valores previstos para os tratamentos. As avaliações e os ajustes da CE e do pH foram realizadas aos 9, 16, 23, 37, 44 e 51 dias após o início das aplicações (DAA).

---

### **<sup>1</sup> AGRADECIMENTOS**

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

O experimento foi conduzido em vaso plástico com volume de 1,3 L (nº 15), com dimensões de 12,2 cm de altura, 14,8 cm de base superior e 9,8 cm de base inferior. O substrato consistiu numa mistura de 30% de terra de subsuperfície e 70% casca de pinus fina. Para a avaliação da CE foram utilizados dois métodos: uso de extratores instalados numa profundidade de 9,5 cm em relação à superfície do substrato, de acordo com Mota (2004) e extração da solução pelo método do “Pour-through” que seguiu a metodologia proposta por Cavins (2002). Após a coleta da solução foram determinados os valores de pH e CE.

Os efeitos dos tratamentos foram submetidos à análise de regressão, tendo sido testados os modelos linear e quadrático e escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão a 1% (\*\*) e 5% (\*) de probabilidade pelo teste F e no maior valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os valores de CE do substrato obtidos com extrator de solução em vasos. A análise de variância revelou efeito significativo linear dos tratamentos sobre a CE extraída para todas as épocas amostradas a 1% de probabilidade.

Tabela 1. Condutividade elétrica do substrato obtida com extrator de solução em vasos, em função dos tratamentos e das épocas amostradas.

Tratamento	DAA						média
	9	16	23	37	44	51	
-- dS m <sup>-1</sup> --	----- dS m <sup>-1</sup> -----						
0,5	2,70	1,93	1,31	1,23	0,83	1,12	1,52
2,0	3,43	2,98	2,52	2,35	1,87	2,12	2,55
3,5	4,07	3,90	3,72	2,92	2,23	2,35	3,20
5,0	4,37	5,02	4,40	4,05	3,90	3,56	4,22
6,5	4,88	6,44	5,98	5,06	5,17	4,76	5,38
F	**	**	**	**	**	**	
Regressão	L**	L**, Q*	L**	L**	L**, Q*	L**	

DAA: dias após o início das aplicações; L e Q: efeitos significativos lineares e quadráticos, respectivamente; \* e \*\*: significância a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Os valores de CE do substrato obtidos pela metodologia do “Pour-through”, submetidos a diferentes níveis de CE são apresentados na Tabela 2. Houve efeito linear significativo em todas as datas amostradas a 1% de probabilidade.

Tabela 2. Condutividade elétrica do substrato obtida pela metodologia do “Pour-through” em vasos, em função dos tratamentos e das épocas amostradas.

Tratamento	DAA						média
	9	16	23	37	44	51	
-- dS m <sup>-1</sup> --	----- dS m <sup>-1</sup> -----						
0,5	2,45	2,00	1,22	0,94	0,89	0,75	1,38
2,0	3,53	3,68	3,11	2,45	2,14	1,67	2,76
3,5	4,52	4,90	4,50	3,55	3,32	2,39	3,86
5,0	5,57	6,46	6,25	5,53	5,38	3,70	5,48
6,5	6,70	7,99	7,97	7,41	6,46	4,58	6,85
F	**	**	**	**	**	**	
Regressão	L**	L**	L**	L**	L**	L**	

DAA: dias após o início das aplicações; L: efeito significativo linear; \*\*: significância a 1% de probabilidade.

Houve aumento linear da CE determinada pelas metodologias em estudo à medida que aumentou a CE aplicada. Houve uma diminuição dos valores de CE ao longo do

período de amostragem, mesmo não havendo planta para absorver os nutrientes aplicados. Possivelmente tenha ocorrido a interação do solo, que representava 30% da composição do substrato, com os íons, ocorrendo a retenção dos mesmos. Uma outra hipótese é de que, com a evaporação da solução, os sais tenderiam a se acumular na superfície do vaso, e a metodologia com o uso do extrator não expressava a CE aplicada por ter a cápsula porosa um raio de alcance limitado (Arthur, 2005), assim como o método do “Pour-through” que tende a amostrar a porção inferior do vaso (Cavins, 2002).

A partir da média dos valores de CE em todas as épocas amostradas, apenas para o tratamento com a menor CE aplicada, o valor médio obtido pela metodologia do “Pour-through” foi mais baixo em relação à metodologia do extrator. O fato dos valores de CE encontrados pelo uso da metodologia do “Pour-through” serem maiores que os valores pelo método do extrator podem ser justificado devido à determinação pontual neste, enquanto que pela metodologia do “Pour-through” ocorre um arraste de sais de um volume maior do substrato.

Os métodos avaliados apresentaram correlação de 0,99 em todas as épocas amostradas, pois à medida que aumentava a CE pelo método do extrator, aumentava também a CE aferida pelo método do “Pour-through”. A alta correlação valida os métodos para estimar a CE.

Para os valores médios de pH do substrato obtidos pelas duas metodologias verificou-se que os níveis de CE tiveram influência linear negativa (Tabelas 3 e 4). Ludwig et al. (2006) encontraram resposta semelhante com o uso da metodologia do “Pour-through”.

Tabela 3. Valores de pH do substrato obtidos com extrator de solução em vasos, em função dos tratamentos e das épocas amostradas.

Tratamento -- dS m <sup>-1</sup> --	DAA						média
	9	16	23	37	44	51	
0,5	7,16	7,75	7,72	7,20	7,77	7,77	7,56
2,0	6,94	7,66	7,42	6,93	7,39	7,43	7,30
3,5	6,99	7,4	7,17	6,95	7,34	7,28	7,19
5,0	6,74	7,82	7,04	6,56	7,26	7,28	7,12
6,5	6,8	6,97	6,8	6,51	7,13	7,19	6,90
F	**	**	**	**	**	**	**
Regressão	L**	L**	L**	L**	L**	L**, Q*	

DAA: dias após o início das aplicações; L e Q: efeitos significativos lineares e quadráticos, respectivamente; \* e \*\*: significância a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 4. Valores de pH do substrato obtidos pela metodologia do “Pour-through” em vasos, em função dos tratamentos e das épocas amostradas.

Tratamento -- dS m <sup>-1</sup> --	DAA						média
	9	16	23	37	44	51	
0,5	7,42	7,86	7,60	7,64	7,79	7,76	7,68
2,0	7,29	7,06	7,27	7,36	7,54	7,62	7,36
3,5	7,35	7,43	7,12	7,14	7,37	7,40	7,30
5,0	7,12	7,25	6,86	6,91	7,19	7,26	7,10
6,5	7,01	6,93	6,58	6,70	6,97	7,07	6,88
F	**	NS	**	**	**	**	**
Regressão	L**	NS	L**	L**	L**	L**	

DAA: dias após o início das aplicações; L: efeito significativo linear; \*\*: significância a 1% de probabilidade.

A correlação da média dos valores de pH (0,99) sugere a possibilidade do uso das metodologias.

## CONCLUSÃO

Os métodos com uso do extrator de solução e o método do “Pour-through” podem ser utilizados para avaliação do pH e da CE dos substratos, viabilizando o manejo da fertirrigação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHUR, R.C.J. **Determinação do raio de influência de extratores de solução do solo e de tensiômetros utilizando a técnica de tomografia computadorizada de raios gama.** 2005. 51f. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA, Piracicaba, 2005.

BURGUEÑO, H. **La fertirrigacion en cultivos hortícolas com acolchado plástico.** Culiacan, 1996. v.1, 45p.

CAVINS, T. J. **Adaptation of the pourthru nutrient extraction procedures to greenhouse crop production.** 2002. 148 f. Tese (Doutorado) - Faculty of North Carolina State University, 2002.

LUDWIG, F.; FERNANDES, D.M.; MOTA, P.R.D.; LUZ, M.A.; PERÓN, I.H; FANELA, T.L.M.; OLIVEIRA, C.S.H. de. Avaliação da condutividade elétrica e pH em cultivares de gérbera utilizando o método “Pour-through”. In: 46º CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 24. 2006, Goiânia. Goiânia, 2006. 1 CD – ROM.

MOTA, P.R.D. **Níveis de condutividade elétrica da solução do substrato em crisântemo de vaso, em ambiente protegido.** 2004. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Irrigação e Drenagem) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. 2004.

RICHARDS, L.A. **Diagnostico y rehabilitacion de suelos salinos y sodicos.** Ed. Limusa. México, 1954. 172p.

SILVA, E.F.F.; MIRANDA, J.H.; COELHO, R.D. et al. Determinação da salinidade do solo utilizando extratores de cápsulas porosas e soluções diluídas. (compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 28, Pelotas, 1999. **Anais...** Pelotas: SBEA, 1999.

## PALAVRAS-CHAVES

Extrator de solução, “Pour-through”, manejo de nutrientes.

## El uso de mutágenos en el mejoramiento de germoplasma ornamental nativo.

**Alderete, Marisol<sup>1</sup>; Bologna, Paula<sup>1</sup>; Facciuto, Gabriela<sup>1</sup>; Hagiwara, Juan Carlos<sup>1</sup>; Kato, Adriana<sup>1</sup>; Escandón, Alejandro Salvio<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Instituto de Floricultura. INTA-Castelar, de los reseros y Nicolás Reppetto s/n. Pcia. de Buenos Aires, Argentina, email: [asescandon@cnia.inta.gov.ar](mailto:asescandon@cnia.inta.gov.ar)

La mejora se basa en la existencia de variabilidad genética entre los seres vivos, esta variación, a su vez, se basa en la aparición continua de mutaciones. Una mutación puede definirse, sintéticamente, como un cambio heredable en el ADN. La mutación espontánea es la base de la selección natural y en consecuencia de la evolución y de la selección para el proceso de mejoramiento. La mutación inducida es un complemento de la natural a fin de incrementar la variación existente, ya sea por acotamiento de aquella o cuando no se dispone del rasgo deseado (Cubero, 2003).

Estas mutaciones artificiales provocan cambios genéticos de carácter aleatorio, generando variación o variaciones genéticas en el corto plazo. Estos cambios pueden llevar a la incorporación de características totalmente nuevas y poco probables desde el punto de vista del "pool" de genes de la especie, provocando que los programas de mejoramiento se vean considerablemente acelerados, dado que generalmente la selección de mutantes inducidos se efectúa a través del fenotipo y muchas de las plantas que se propagan vegetativamente permiten la detección, selección y conservación de las mutantes dentro de la primer generación M1.

Las plantas ornamentales representan un área de la agricultura cuyo mercado se caracteriza por ser muy exigente y ávido de novedades que responden a modas y gustos del momento, razón por la cual la generación de nuevos productos es una demanda constante. Es así que uno de los objetivos en el mejoramiento de plantas ornamentales es la generación de variación genética a partir de la cual se efectúe una selección en base a características o rasgos morfoagronómicos deseables, como tamaño floral, pigmentación foliar y/o floral, hábito de crecimiento, etc. (Schum & Preil, 1998).

Clásicamente las mutaciones se clasificaron según el nivel de cambios que provocaban en el genoma:

-genómicas: cambios que afectan a todo el genoma (poliploidías).

-cromosómicas: afectan a cromosomas (aneuploidías, inversiones, traslocaciones, deleciones etc.).

-de punto: cuando afectan a un gen propiamente dicho.

Hoy en día éste último es el sentido principal y prácticamente el único que se le da a la palabra mutación.

### MUTANTES POR RADIACIÓN

*Calibrachoa*, La LLave y Lexarza (Solanaceae), es un género originario de Sudamérica (Stehmann & Semir, 1997) de apreciado valor ornamental y del cual es posible hallar una gran cantidad de variedades comerciales en el mercado mundial.

En el Instituto de Floricultura (INTA-Castelar) se ha comenzado un plan de mejoramiento genético en *Calibrachoa* (híbr.) con el objetivo de obtener plantas compactas que se adapten a las condiciones ambientales de Buenos Aires. Dentro de este marco se está llevando a cabo el ajuste de metodologías para la inducción de variación genética mediante mutagénesis por radiación-X. Para ello se han realizado trabajos relativos a la caracterización del germoplasma nativo (Facciuto et al., 2006), poliploidización *in vitro* (Hagiwara et al., 2002) y micropropagación del género (Coviella & Facciuto, 2005). Teniendo en cuenta el uso de rayos X como herramienta de mutagénesis para el mejoramiento, se han llevado a cabo trabajos de selección de clones de acuerdo a



características tales como tiempo de floración, compacidad, color de flor y capacidad de enraizamiento, entre otras.

Comenzando con el plan de mejoramiento por medio de la técnica de inducción de mutantes para material *in vivo*, se seleccionó un clon con potencial ornamental.

Para la determinación de la LD50 (dosis letal media), estacas enraizadas de aproximadamente 4 semanas fueron tratadas a distintas dosis de radiación, evaluándose de esta forma, la dosis letal 50 (LD50). Se obtuvo una curva de daño fisiológico medida en base al crecimiento de los brotes axilares de las estacas irradiadas, viéndose que la supervivencia de los brotes disminuyó a medida que aumentó la dosis de radiación.

Posteriormente se irradió el genotipo selecto a la dosis de LD50 (24 Gy) -material que se encuentra en este momento en evaluación-. Se observó que el material *in vivo* irradiado con el objeto de obtener la LD50, ciertas plantas presentaban diferencias morfológicas con respecto al clon original en cuanto a color de flor, tamaño y forma; así como también el grado de compacidad. En vistas a evaluar estas diferencias, se realizaron estacas con el objetivo de propagar vegetativamente el material y ver la estabilidad de dichos cambios. Durante su seguimiento, se observaron que ciertos cambios revertieron, lo cual se puede inducir a efectos epigenéticos; mientras que hubo otras plantas que mantuvieron el fenotipo.

Dentro de este plan de mejoramiento para el género *Calibrachoa*, se comenzaron también trabajos de mutagénesis con material *in vitro* con el objetivo de evaluar ambos sistemas de cultivo para la inducción de mutantes del mismo clon selecto. Previo a esto, trabajos de investigación en micropropagación documentan para el género *Calibrachoa* el desarrollo de yemas adventicias a partir de trozos de hojas maduras cultivadas *in vitro* (Coviella & Facciuto, 2005) mediante el uso de 6-bencil amino purina (BAP).

Los materiales irradiados para la obtención de la LD50 se encuentran en este momento en estudio; pero ensayos preliminares indican que la dosis de radiación de LD50 para dicho material y en esa condición de cultivo sería de una dosis menor, que la obtenida para el material tratado *in vivo*; debido posiblemente a que los explantos de hoja son significativamente muy diferentes en cuanto a fisiología de tejido, ontogenia y edad del mismo, que las estacas utilizadas para el ensayo *in vivo*.

## POLIPLOIDES

El término "ploidía" se refiere al número de juegos de cromosomas de un individuo y se lo denomina como "x". Un individuo con dos juegos de cromosomas (2x) se refiere como un diploide, con 3x, triploide y sucesivamente.

Por definición un individuo poliploide tiene un número de cromosomas diferente del número básico "n" correspondiente a las gametas de la especie. Los organismos superiores que están formados por dos series de genomas se consideran diploides.

El fenómeno de poliploidía es muy raro en animales. Por el contrario en plantas es relativamente frecuente y juega un papel muy importante en la evolución. En oposición con la evolución como un proceso gradual en el cual las nuevas especies surgen a partir del aislamiento de poblaciones y una importante acumulación de mutaciones, el fenómeno de poliploidización puede originar nuevas especies en forma abrupta, el mecanismo consiste en que una vez originada la población tetraploide sólo puede originar descendencia fértil cruzándose entre sí, por lo que queda aislada desde el punto de vista reproductivo; la poliploidización genera, en consecuencia, un barrera reproductiva entre los poliploides y la población parental, dado que la cruce entre individuos diploides y tetraploides generará una descendencia estéril.

Desde hace tiempo se ha sugerido que un importante porcentaje de las plantas fanerógamas tienen como origen evolutivo el proceso de la poliploidización, un ejemplo es la familia de las Rosáceas, la subfamilia maloideae (entre otros géneros: *Malus*, *Pyrus*; *Photinia* y *Chaenomeles*), se postula que todos tienen origen en un allopoliploide con  $n=17$ , mientras que en otras subfamilias de rosáceas el ancestro habría tenido un número  $n=8$  ó  $9$  (Rowley, 1993).

En otros géneros, como *Chrysanthemum* (*Dendranthema*), las diferentes especies que lo componen muestran diferentes niveles de ploidía, representando series de ploidías crecientes en base  $n=9$ , esto es:  $2n= 18; 36; 54; 72; 90$  y  $198$  (Ranney, 2000).

Un poliploide natural se puede generar a partir del cruzamiento de gametas no reducidas, si pertenecen a la misma especie se denominará autopoliploide o autoploide, en cambio si se trata del cruzamiento entre gametas de diferentes especies se lo considerará alopoliploide o aloploide (Cubero, 2003).

La poliploidía confiere una serie de ventajas adaptativas, por lo que los poliploides son seleccionados positivamente en el curso de la evolución (Ranney, 2000). Las ventajas en cuestión se refieren a:

- Una mayor dosis génica, lo que implica una mayor cantidad de proteína, aunque puede generar problemas en cuanto a reducción de fertilidad, en el caso de los autoploides con los mismos cromosomas homólogos.
- Una mayor heterosis, eventualmente el individuo podría disponer de 4 alelos diferentes en el mismo *locus*.
- A partir de esta redundancia genética, las mutaciones que se produzcan en estas copias extras de genes pueden originar nuevas características sin poner en riesgo las funciones esenciales.
- En los poliploides aumenta la frecuencia de autofecundación y el fenómeno de apomixis.
- La heterocigocidad de los alopoliploides disminuye los efectos deletéreos de la endocria.
- Mayor tolerancia al estrés, dada la multiplicidad de enzimas que les confiere una gran flexibilidad y aumenta su capacidad adaptativa.

A pesar de la relevancia de la poliploidía en la evolución de los vegetales, la aplicación de esta estrategia de mejoramiento no ha tenido gran impacto en los programas de mejoramiento de los grandes cultivos. En efecto, la duplicación somática de la dotación cromosómica aunque produce copias adicionales de los genes pre existentes, no introduce nueva información genética a los materiales. A esto se suma que esta cantidad extra de ADN debe ser duplicada en cada división, incrementando la duración del ciclo mitótico, la duplicación de estructuras implica un incremento del tamaño celular que trae aparejado desbalances anatómicos. Otros inconvenientes detectados son la fragilidad de la madera, frutos con exceso de agua (desabridos), etc. (Ranney, 2000).

Sin embargo, desde el descubrimiento de los inhibidores de la mitosis en la década del 30, el desarrollo de poliploides somáticos se ha convertido en una estrategia de rutina en ornamentales. En este contexto, el incremento del tamaño los órganos, especialmente de hojas y flores, la intensificación de los colores, además del restablecimiento de androfertilidad y la posibilidad de generar triploides estériles, hacen de la poliploidía una herramienta de gran utilidad en los programas de mejoramiento en ornamentales. Prueba de ello es el importante número de especies que, independientemente de que se trate de flor de corte o plantas en macetas se ha utilizado la poliploidización en su correspondiente programa de mejoramiento.

Los inhibidores de la mitosis son sustancias de naturaleza alcaloide que provocan la desorganización del uso acromático y en consecuencia, se impide la migración de las cromátides hermanas. Entre los más utilizados se encuentran, entre otros: la orizalina, la vincristina, la vinblastina y la colchicina, siendo esta última la de aplicación más generalizada. Estos alcaloides se utilizan en soluciones cuyas concentraciones oscilan entre el 0,05% y 0,9% (P/V), bajo condiciones *in vivo* se aplican: embebiendo semillas en proceso

de germinación, sumergiendo raíces o aplicándola sobre meristemas por medio de algodones embebidos en la solución del alcaloide (Callaway & Callaway, 2000). Asimismo, es posible su aplicación bajo condiciones *in vitro*, esta alternativa tiene algunas ventajas respecto de la aplicación *in vivo*. En efecto, es más reproducible en cuanto a las condiciones experimentales y además permite aprovechar la posibilidad del cultivo *in vitro* de tejidos de generar condiciones de multibrotación a partir del explanto utilizado, lo que podría redundar en un significativo incremento en la producción de poliploides (Escandón *et al.*, 2007).

En el Instituto de Floricultura de INTA se han obtenido individuos poliploides aplicando tanto técnicas *in vivo* como *in vitro*. Con relación a la primera alternativa, Mata *et al.* (2003) reportaron la obtención de individuos poliploides de *Jacaranda mimosifolia*, *Tabebuia heptaphyla* y *Tecoma stans*, exponiendo por imbibición semillas de estas especies a diferentes dosis de colchicina. Posteriormente se evaluaron las diferencias entre los individuos tetraploides y los diploides originales, encontrándose diferencias entre los grupos de las 3 especies. El individuo tetraploide de *T. heptaphyla* mostró flores más grandes, hojas más gruesas y de un color verde más intenso, los granos de polen fueron de mayor tamaño y con un 100% de viabilidad.

En *J. mimosifolia*, las plantas tetraploides mostraron entrenudos más cortos, flores más grandes y de un color azul más intenso así como en el verde de las hojas, pero en este caso el tamaño de las mismas fue menor, aunque presentaron estomas de mayor tamaño así como los granos de polen.

Las plantas tetraploides de *T. stans* mostraron entrenudos más cortos y una mayor intensidad en los colores de flores y hojas. Asimismo, estos órganos mostraron de ser mayor tamaño y con menos número de estomas por unidad de área. En este caso también el polen tetraploide fue de mayor diámetro que el de los controles diploides.

En el IF se comenzó a trabajar en la puesta a punto de la poliploidización bajo condiciones *in vitro* en *Calibrachoa pygmaea* y *C. linearis* con los trabajos de Hagiwara *et al.* (2002) y Hagiwara *et al.* (2006), a partir de los cuales se obtuvieron nuevos cultivares en ambas especies.

Con el objetivo de consolidar en el IF el uso de esta estrategia, nuestro grupo de trabajo optó por tres géneros de la familia Schrophulariaceae: *Scoparia*, *Bacopa* y *Mecardonia*, para utilizarlos en ensayos de aplicación de biotécnicas en la exploración de germoplasma nativo con potencial ornamental. Estos géneros se caracterizan por tener flores de colores llamativos, pero de pequeño tamaño, lo mismo ocurre con el tamaño de las hojas, por lo que la obtención de poliploides representa una alternativa válida para intentar incrementar el tamaño de estos órganos y mejorar la calidad ornamental de algunas especies de estos géneros.

En una primera etapa se efectuaron ensayos de introducción *in vitro* y poliploidización con diferentes especies del género *Scoparia*. Para ello se establecieron las condiciones de desinfección y establecimiento *in vitro* para segmentos nodales de *S. montevidiensis*, para lo cual sobre un medio MS (Murashige & Skoog, 1962) se probaron con diferentes tratamientos de reguladores del crecimiento (mg/L): 0,0; 0,25; 0,50 y 1,00; de ácido naftalen acético (ANA) y BAP, todas combinadas entre sí y cultivadas bajo un fotoperíodo 16:8, con 3.000 lux de irradiancia. El tratamiento conteniendo 0,25 mg/L de BAP, con una tasa de multiplicación de 9 brotes por explanto, resultó el más adecuado entre todas las combinaciones de reguladores probados. Los brotes regenerados *in vitro* fueron aclimatados y transferidos a condiciones de invernáculo sin mayores inconvenientes.

Tomando como referencia los datos obtenidos con *S. montevidiensis*, se aplicaron esas condiciones de cultivo para otras accesiones del género *Scoparia*: *S. montevidiensis* var. *montevidiensis* y var. *glandulifera*; *S. nudicaulis*, *S. hasleriana* y *S. dulcis*, con el objetivo de estudiar la respuesta *in vitro* de este germoplasma. Se observó que con la excepción de *S. hasleriana*, el resto tuvo un comportamiento *in vitro* similar al de *S. montevidiensis*. Ajustado de esta forma el protocolo de cultivo de tejidos, se comenzaron los ensayos de poliploidización *in vitro* con *S. montevidiensis* var. *montevidiensis*. Segmentos nodales de plántulas cultivadas *in vitro* fueron tratados con las siguientes concentraciones de colchicina (v/v %): 0,0; 0,1; 0,05; 0,01 y 0,001 en 1% v/v dimetill-sulfóxido (DMSO) (24 y 48 h); se

llevaron a cabo 3 tratamientos control: explantos sin tratar, tratados con agua y con solución 1% de DMSO.

De los brotes tratados con colchicina se midieron con el citómetro de flujo un total de 379 plantas de *S. montevidiensis* entre las cuales se pudieron detectar 4 tetraploides sólidas y 15 quimeras. Las plantas fueron analizadas desde el punto de vista fenotípico y se hallaron diferencias significativas con relación al tamaño de hojas y flores, a la intensidad del color verde del follaje, entre controles y tetraploides y entre estos entre sí (Escandón et al., 2005).

Tomando como base el protocolo ajustado para *S. montevidiensis* se llevaron a cabo ensayos de establecimiento y ajuste de condiciones de cultivo *in vitro* de tejidos para *Bacopa monnieri* y *Mecardonia tenella*. Ambas especies coincidieron que el medio MS suplementado con 0,25 mg/L de BAP era el tratamiento más adecuado para su multiplicación *in vitro*, se obtuvo una tasa de multiplicación de yemas de 18 para *B. monnieri* y de 32 yemas/explanto para *M. tenella*. Con respecto a la poliploidización con colchicina, aplicando el protocolo ajustado para *Scoparia*, sobre 150 individuos medidos por el citómetro de flujo, se detectaron 2 individuos de *B. monnieri* tetraploides sólidos y 2 quimeras (Escandón et al., 2006). Por su parte, con *M. tenella*, sobre 126 individuos medidos, 68 fueron tetraploides y el resto, quimeras (Escandón et al., 2007).

En lo que se refiere al fenotipo, en ambas especies, se encontraron diferencias significativas entre controles y tratados, con relación al tamaño de hojas y flores y a la intensidad de los colores, aunque no se detectaron diferencias entre los tetraploides sólidos recuperados en ambas especies.

Excepto una, el resto de las schrophulariaceas ensayadas mostraron requerimientos culturales similares bajo condiciones *in vitro*. Además con las 3 especies ensayadas fue posible la obtención de nuevos cultivares tetraploides, aunque, en este contexto, es importante recalcar las diferencias observadas entre ellas en lo que hace a la cantidad de individuos afectados por la colchicina en el caso de *S. montevidiensis* y *B. monnieri*, por un lado y *M. tenella*, por el otro. Esta diferencia podría estar relacionada con una diferencia en la sensibilidad de las especies frente al alcaloide utilizado, así como también a la diferente tasa de multiplicación observada en las condiciones de cultivo establecidas, esto la capacidad de multibrotación sería directamente proporcional a la cantidad de individuos tetraploides recuperados.

## BIBLIOGRAFÍA

CALLAWAY, M.B.; CALLAWAY, D.J. Genetics and its applications. En: **Breeding ornamental plants**. Cap. 1. Editores: CALLAWAY, M.B. y CALLAWAY, D.J. Timber Press Portland, Oregon. EEUU, 2000. p. 19-48.

COVIELLA, M. A.; FACCIUTO, G. **Regeneración de plantas a partir de hojas maduras y segmentos nodales de cuatro especies de *Calibrachoa***. (BIOTEC 2005).

CUBERO, J.I. Los poliploides en la mejora vegetal. En: **Introducción a la mejora genética vegetal**. Cap. 15. Ediciones Mundi-prensa. Madrid. España, 2003. p. 325-351.

ESCANDÓN, A.S.; ALDERETE, M. L.; HAGIWARA, J. C. **A new variety of *Mecardonia tenella*, a native plant from South America with ornamental potential, obtained by *in vitro* polyploidization**. Scientia Horticulturae, 2007. en prensa.

ESCANDÓN, A.S., HAGIWARA, J.C.; ALDERETE, M.L. A new variety of *Bacopa monnieri* obtained by *in vitro* polyploidization. In: Proceeding of VI Symposium REDBIO-Argentina 2005. "A Biotechnology vision from South America". (Eds.) ESCANDÓN, A.; SHARRY, S.; IZQUIERDO, J. **Electronical Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 157-162, 2006. [on line]. <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol9/issue3/full/8/>

ESCANDÓN, A.S.; MIYAJIMA, I.; ALDERETE, M.; HAGIWARA, J.C.; FACCIUTO, G.; MATA, D.; SOTO, S.M. Wild ornamental germplasm exploration and domestication based on biotechnological approaches. *In vitro* colchicine treatment to obtain a new cultivar of *Scoparia montevidensis*. **Electronical Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 2, p. 204-211, 2005. [online]. <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol8/issue2/full/2/>

FACCIUTO, G; PANNUNZIO, M. J.; COVIELLA, M.A.; SOTO, S.; HAGIWARA, J.C.; BORJA, M. Characterization of the ornamental value of *Calibrachoa spp* native to Argentina. **Acta Horticulturae**, n.714, p.37-42, 2006.

HAGIWARA, J.C.; KATO, A.; MORI, M.; MIYAJIMA, I. Obtención de poliploides en *Calibrachoa pygmaea* mediante el uso de colchicina *in vitro*. 1er. Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales. Buenos Aires, Noviembre, 2002. p. 90.

HAGIWARA, J.C.; KATO, A.; GARCÍA LAGER, E.; MORI, M.; GREPPI, J. 3er. Congreso Argentino de Floricultura. La Plata, Noviembre 2006, p. 353.

HORN, W. Breeding methods and breeding research. En: **Breeding for ornamentals: classical and molecular approaches**. Editor: VAINSTEIN, A. Kluwer Acad. Pub. Impreso en Holanda, 2002. p. 47-83.

MATA, D.; FACCIUTO, G.; HAGIWARA, J.C.; SOTO, S.; MIYAJIMA, I.; KOBAYASHI, N. Morphological characterization of induced tetraploids from native Bignoniaceae in Argentina. V International Symposium on New Floriculture Crops. Iguazu Falls. Brasil, 2003. p. 63.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 437-497, 1962.

RANNEY, T.G. Polyploidy: From evolution to landscape plant improvement. Proceedings of the 11th Conf. Metropolitan Tree Improvement Alliance (METRIA). En: [www.ces.ncsu.edu/fletcher/programs/nursery/metria/metria11/ranney/polyploidy.htm](http://www.ces.ncsu.edu/fletcher/programs/nursery/metria/metria11/ranney/polyploidy.htm). 2000.

ROWLEY, G.D. Rosaceae: The rose family. En HEYWOOD, V.H. (Ed.), **Flowering plants of the world**. Batsford Pub. Londres, 1993. p. 141-144.

SCHUM, A.; PREIL, W. Induced mutation in ornamental plants. In: JAIN, S.M.; BRAR, D.S.; AHLHOOVALIA, B.S. (Eds.). **Somaclonal variation and Induced Mutations in Crop Improvement**, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1998. p. 367-378.

STEHMANN, J.R.; SEMIR, J. A New Species and New Combinations in *Calibrachoa* (Solanaceae). **Novon**, v. 7, p. 417-419, 1997.

PALAVRAS CHAVES:  
Mutágenos, mejoramiento, germoplasma.

## Enraizamento *in vitro* de plantas lenhosas: dificuldades e soluções.

Aloufa, Magdi Ahmed Ibrahim<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)- Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Campus Universitário Lagoa Nova, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Natal, Rio Grande do Norte, fone: (84) 3211-9205, email: [magdi-aloufa@bol.com.br](mailto:magdi-aloufa@bol.com.br);

### INTRODUÇÃO

Por muitos anos, espécies lenhosas foram consideradas materiais difíceis para estudos *in vitro*. Durante os últimos anos, porém, tremendo progresso foi feito neste campo (Bonga & Durzan, 1982). Uma técnica de propagação rápida é altamente desejável quando o método tradicional *in vivo* de propagação vegetativa está muito lento ou improdutivo, e quando o número de mudas disponível é limitado.

A propagação de cultivares *in vitro* torna possível produzir árvores enraizadas que, caso contrário, não enraizariam *in vivo*. Não obstante, estacas permanecem importantes. A propagação rápida de estacas clonadas via métodos *in vitro* pode superar as dificuldades relacionadas a mudanças sazonais, idade e base genética das plantas-mãe.

Para propagação próspera em larga escala, devem ser superadas três dificuldades principais: (a) estabelecimento de explantes primários em cultura, (b) desenvolvimento de meios ótimos de cultura e condições ambientais para alcançar alta taxa de multiplicação (c) indução de iniciação de raiz e aclimação dos propágulos depois de transferência para o solo. Embora o progresso seja considerável em relação a estas fases, o enraizamento permanece um problema principal na propagação de fruteiras.

A presente revisão enfoca a indução de raiz em estacas de fruteiras decíduas. Apenas, então, serão mencionadas as características mais importantes da micropropagação de fruteiras.

### FORMAÇÃO DE RAIZ ADVENTÍCIA *IN VIVO*

A habilidade dos tecidos vegetais para formar raízes adventícias depende de interações de fatores endógenos e exógenos. O papel de auxinas no desenvolvimento de raiz foi revisado por Scott (1972) e é um fato bem conhecido que auxinas são os fatores principais envolvidos na formação da raiz. Na complexidade do enraizamento, foi prestada também atenção a carboidratos (Nanda & Jain, 1972), lactones terpênicos (Shibaoka et al., 1967), compostos lipídicos (Heuser & Hess, 1972) e ácido abscísico (Basu et al., 1970). De acordo com Bouil-lenne (1964) ortho-dihydroxyphenols específicos (co-fatores de enraizamento) são produzidos nas folhas e brotos e translocados à região de enraizamento onde, com auxina e polyphenoloxidasas, e dão origem a um complexo estimulador de enraizamento que conduz à iniciação e crescimento de primórdio de raiz.

Alguns dos protetores de auxinas são polímeros de ortho-dihydroxyphenol, e a função principal deles é manter os tecidos em um estado reduzido, i.e., eles agem como antioxidantes e assim mantêm um baixo potencial de redox, uma condição associada com a juvenildade (Stonier et al., 1970).

O processo de formação de raiz adventícia pode ser dividido em duas fases: a iniciação de primórdio seguindo ferimento, e a fase de aparecimento de raiz e crescimento. É considerado (Bonner, 1965) que na primeira fase, IAA age como ativador de gene, i.e., alavancando a formação precoce de primórdio de raiz. Foi proposto por Ryugo & Breen (1974) que o papel principal do IBA (a auxina indutora de raiz mais efetiva na propagação convencional) é favorecer a conjugação entre IAA endógeno e aminoácidos que conduzem à síntese das proteínas específicas necessárias para a formação de raízes iniciais. Para a formação de primórdio de raiz, o complexo auxina-fenol é sintetizado através de polyphenoloxidase (Haissig, 1974). Bassuk et al. (1981) comparou a atividade de co-fatores

extraídos de estacas de maçã e sintetizados *in vitro*, e ambos natural e sintetizado promoveram enraizamento.

Na região de indução excessiva de raízes, a proliferação de raízes novas é bloqueada por inibidores formados nos ápices radiculares (Torrey, 1959) e também foi mostrado que nem todos os primórdios iniciados depois de tratamento com auxina desenvolvem-se em raízes emergentes (Mitsuhashi-Kato et al., 1978). Para alongamento de raiz, não é requerida, normalmente, auxina exógena ou pode até ter ação inibitória (Mohammed & Eriksen, 1974; Mitsuhashi-Kato et al., 1978).

## FATORES QUE AFETAM A INDUÇÃO DE RAIZ EM PROPÁGULOS DE FRUTEIRAS IN VITRO

A literatura sobre o tema mostra que o refinamento dos meios de cultura como também a determinação de ótimas condições ambientais para diferentes estacas e cultivares permanecem os objetivos principais, e tendências para estudar a base bioquímica e fisiológica têm uma importância considerável.

## COMPOSIÇÃO DO MEIO NUTRIENTE

### SAIS MINERAIS E PH

Publicações interessantes a respeito de enraizamento de brotos de *Prunus* sugere que os macronutrientes de Murashige-Skoog + micronutrientes de Heller sejam usados (Quoirin et al., 1977). Os macros e micronutrientes de Murashige-Skoog (MS) também eram normalmente os componentes dos meios usados (Mehra & Mehra, 1974). Depois, a concentração dos macronutrientes desta fórmula foi abaixada a 1/2, 1/3 ou 1/4, o que foi mais benéfico (Quoirin et al., 1977). Um meio novo, desenvolvido por Quoirin & Lepoivre (Quoirin et al., 1977), contém 1/4 de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> da fórmula de MS e 1200 mg/l de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Para enraizamento, concentrações relativamente altas de cálcio e nitrogênio são essenciais (Tripathi, 1971). Aumentar o conteúdo de Ca não teve nenhum efeito estimulatório no enraizamento de Cereja, Ameixa e Marmelo (G. Németh, 1978). Para enraizamento de pêsego, é chamada atenção a P, Mg, Ca e conteúdo de S (Bini & Sanesi, 1982). Meios com baixa concentração salina, como a de solução de White e Knop também foram aplicados (Tabachnik & Kester, 1977). Cheng (1978) desenvolveu um meio para maçã, pêra, ameixa e cereja. G. Németh (1978) encontrou que o meio de Dudits et al. (1975) é melhor que o de Boxus ou a fórmula de MS. Para enraizamento de maçã, cereja, ameixa e marmelo, este autor encontrou depois melhor o meio de Quoirin-Lepoivre diluído pela metade, com mistura de vitaminas modificada (G. Németh 1981). Bom enraizamento foi obtido com o meio de Linsmaier-Skoog (Aynsley, 1978), Bourgin - Nitsch's (Rugini & Verma, 1982). Em vez de Fe-EDTA, vários autores usaram FeNaEDTA (Jones et al., 1977a, b).

Boxus (1971) encontrou um pH mais baixo (5.0) melhor para culturas de *Prunus*. Cerejas também enraizaram a pH 5.3 - 5.8 (Feucht & Dausend, 1976) e ameixa a pH 5.0-5.9 (Németh, 1979).

### VITAMINAS E AMINOÁCIDOS

A mistura de vitamina mais simples é a de Jones et al. (1977 a), contendo só thiamine-HCl e myo-inositol. Enraizamento próspero da maioria das fruteiras mostra que a fórmula de vitamina do meio de MS é satisfatória. As vitaminas do grupo B são bastante satisfatórias. O meio usado por G. Németh (1979) provou ser melhor para crescimento e enraizamento de culturas de maçã, cereja, híbrido pêsego x amêndoa, ameixa e marmelo que o de Jones et al. (1977a). Mudando o componente de vitamina do meio de Quoirin-Lepoivre pelos de Dudits et al. (1975) resultou em hábito de crescimento melhor das plantas (G. Németh, 1981). Esta mistura também contém glutamina e ácido ascórbico. O papel do último é atuar como um antioxidante, prevenindo o escurecimento do meio de cultura ao redor do tecido. O

uso de ácido ascórbico também foi informado por outros (Skirvin & Chu, 1977).

Os efeitos de bases de ácidos nucleicos como adenina, citosina, guanina e timina também foram investigadas: 1 mg/l de adenina, 1 ou 5 mg/l de citosina promoveram formação de raiz significativamente em cereja (Jordan et al., 1982). G. Németh (1979) não observou nenhuma estimulação do enraizamento através de 40 mg/l de adenina em culturas de cereja, ameixa e marmelo.

#### FONTE DE CARBONO

A maioria das experiências foi administrada com 20 - 30 g/l de sacarose no meio, como a fonte de energia principal e agente osmótico. Clones de mutante de cereja F12/1 foram enraizados até mesmo a 50 mg/l de sacarose (Ancora et al., 1982). O alongamento e enraizamento de cereja azeda em meio livre de hormônio dependeram da presença de sacarose (20 mg/l) e a omissão disto suprimiu o enraizamento completamente (Snir, 1983). A redução do conteúdo de sacarose para 10-15g/l era mais benéfica para algumas espécies (Aynsley, 1978). Este autor observou inibição ou nenhuma indução de raiz sem açúcar.

Os melhores resultados para mono e polissacarídeos foram obtidos com frutose com ou sem glicose + sacarose, e galactose+lactose com ou sem sacarose (Minotta, 1981).

#### ÁGAR

A concentração de Agar em experimentos de enraizamento varia de 0 (meio líquido) a 0.9%; o habitual é 0.6-0.8%. Diminuir o conteúdo de Agar faz a disponibilidade de nutrientes e hormônios melhorar, mas aumenta o problema de evaporação de água. Uma vez que o Agar geralmente serve para apoiar os propágulos, Anderson (1978) considera que sua concentração deveria ser tão baixa quanto possível. Tabachnik & Kester (1977) encontraram 0.7 - 0.8% de Agar ser crítico para o enraizamento de amêndoa. Boxus (1978) e Constantine (1978) chamam atenção ao fato de que o inóculo deveria ter um bom contato com o meio. Abaixando o conteúdo de Agar a 5 - 6 g l<sup>-1</sup> resultou em melhora no enraizamento de ameixa (Skirvin et al., 1980). G. Németh (1978) observou vitrificação das folhas a 0.5% e em meio líquido. Formação de primórdio de raiz tinha êxito em maçã em meio agitado, mas não em meio líquido estacionário (Sriskandarajah & Muilins, 1981).

Para amêndoa, meio líquido sem auxina e vermiculita estéril era usado como um apoio (Tabachnik & Kester, 1977).

#### CARVÃO ATIVO

Carvão ativo (AC) é considerado importante pela sua influência através da absorção de componentes tóxicos liberados pelo inóculo (Fridborg et al., 1978). Nos experimentos de enraizamento, AC era aplicado junto com auxina. A adição de 0.5% AC em meios durante o estágio de alongamento (antes de enraizamento) não melhora a taxa de enraizamento em culturas de *Prunus* (Quoirin et al., 1977). Em culturas de marmelo e ameixa em meio de Quoirin-Lepoivre modificado com 500mg/l de AC inibiu significativamente a porcentagem de enraizamento, e diminuiu o número de raízes por planta (G. Németh, não publicado). Também foram observadas cloroses e diminuição marcante da freqüência de plantas enraizadas em ameixa e cereja (Snir, 1983), considerando que com estacas de maçã 100% enraizaram e uma influência positiva no comprimento da raiz foi observada (Cheema & Sharma 1983). A inibição pode ser devido à absorção parcial de auxinas e outros nutrientes (Weatherhead et al., 1979).

#### COMPOSTOS FENÓLICOS

Estimulação ou inibição da iniciação de raiz através de compostos fenólicos são devido à interação deles com auxinas. Foram realizados estudos com Phlorizin (PZ) e phloroglucinol (PG) e seus efeitos no enraizamento, visto que Jones (1976) mencionou o efeito



estimulatório deles no crescimento de caule e formação de raiz em macieira. A utilização de PG a 162 mg/l aumentou a frequência de enraizamento e número de raízes em culturas de cereja F12/1 e ameixa Pixy (Jones & Hopgood, 1979a). Estudo anatômico de raízes e folhas revelou que PZ e PG promoveram desenvolvimento de xilema e cloroplastos, mas este fenômeno não foi relacionado com pyrogallol, catechol e ácido caféico (Jones et al., 1978). Também foi mostrado que (James & Thurbon, 1981a, b) isso elevou níveis de PG endógeno no broto e favoreceu a iniciação de raiz durante a fase auxina-sensível e teve uma ação sinérgica com auxina, dependendo do tempo de exposição (James & Thurbon, 1979a, b). Esta ação é explicada de certo modo pelo papel de auxina - protetor de PG que pode agir como substrato alternativo para peroxidase e/ou de IAA - oxidase, e isto conduz a níveis elevados de IAA endógeno. O efeito sinérgico entre auxina e PG também foi influenciado pela de luz, mas não pela temperatura em uma gama de 22° -29°C (James, 1983a). Para isto foi mostrado que culturas de Ameixa Pixy mantidas no escuro precisavam de PG na fase de multiplicação, durante a mudança do estágio autotrófico para o heterotrófico (Jones et al., 1981). Quoirin et al. (1977) informou uma promoção leve como também inibição de enraizamento em espécies de *Prunus* quando PG estava presente durante a fase de alongamento. Em cereja azeda, Snir (1983) também observou inibição em meio de enraizamento que contém 162 mg/l de PG. Em ameixa *Pixy*, estimulação foi observada também por Aynsley (1978). Phorozin não melhorou enraizamento de microestacas de pêsego (Mosella Chancel e Macheix 1979). Zimmermann & Broome (1981) observaram que PG não era essencial para o enraizamento de cultivares de maçã. Em várias experiências G. Németh não encontrou nenhum efeito de PG com estacas de maçã, entretanto inibição leve foi observada em Marmelo e Cereja, e PG era inibitório para ameixa e híbridos de pêsego. Os resultados contraditórios podem ser explicados pelas diferenças entre clones e/ou espécies, pelo estado fisiológico de material, por exemplo, idade, pré-condicionamento e tempo de exposição ao PG e auxina (Zimmermann, 1983a, b).

Outros tipos de fenólicos foram experimentados para enraizamento como possíveis auxina-sinergistas. Hydroquinone, catechol e pyrogallol isolados não tiveram nenhum efeito em enraizamento, e com IAA só pyrogallol aumentou o número de raízes para cultura de Maçã (James & Thurbon, 1979b). Não foram encontrados nenhum efeito positivo de ácido clorogênico e ácido salicílico com cereja azeda (Popov et al., 1976). Em culturas de hipocótilo de cereja doce, o ácido clorogênico inibiu a formação de raiz (Jordan et al., 1980), considerando que com ameixa foi encontrado um aumento significativo de enraizamento na presença de luz (Hammerschiag, 1982a). Quercetin & Rutin aumentaram significativamente a porcentagem plântulas enraizadas de pêsego quando presentes durante a fase de iniciação

## REGULADORES DE CRESCIMENTO

**Auxinas.** Na prática de micropropagação, normalmente são usadas a auxina natural IAA e auxinas sintéticas NAA e IBA para enraizamento. Jones et al. (1977a) usou IBA em suas experiências. Auxinas isoladas ou com citocininas, GA<sub>3</sub>, ABA e fenólicos mostram seus efeitos principalmente durante a indução de raiz e iniciação. A determinação de formação de broto/raiz é geralmente dependente na relação de citocinina/auxina no meio nutritivo, porém o equilíbrio crítico de reguladores de crescimento deve estar no próprio tecido que forma o órgão. O nível endógeno é regulado por atividade de IAA-oxidase/peroxidase, e de acordo com a hipótese de Lee & Skoog (1965) o aumento de atividade antes da iniciação de formação de órgão indica a baixa exigência de auxina de endógena pelo tecido provocar uma relação de auxina/citocinina satisfatória. Tecidos com formação de raiz são ricos em peroxidases (Van Hoof & Gaspar, 1976). Durante enraizamento, acontecem mudanças nos padrões de isoperoxidase: um aumento contínuo em número e intensidade de peroxidases anódicas e aumenta a intensidade de isoperoxidases catódicas até um máximo, então seguido por uma diminuição. Gaspar et al. (1977) interpretou estas mudanças como indicando um processo de lignificação e uma exigência de fase dupla para auxinas endógenas: (I) redução de auxina durante indução de raiz (nenhuma mudança histológica é

observada) e (2) aumento em auxina durante iniciação de raiz (início de formação de primórdios radiculares). O período Indutivo em culturas de *Prunus* correspondeu à fase de alongamento do broto sem reguladores de crescimento exógenos ou só com GA<sub>3</sub> (Quoirin et al., 1974). Conveniência de isoperoxidases e conteúdos de fenólicos endógenos como marcadores bioquímicos para as fases distintas de indução e iniciação foram mostrados para maçã Jonagold por Druart et al. (1982).

**Citocininas.** Em muitas espécies de plantas foi mostrado que a ótima formação de raiz aconteceu na presença de auxinas e citocininas (Dudits et al., 1975). Muitas espécies de *Prunus* não enraizavam quando altas concentrações iguais de BA e IBA estavam presentes no meio (Boxus & Quoirin, 1974). A maioria de documentos informou enraizamento só de fruteiras com auxina. Em segmentos de talo de *P. avium* e *P. Pseudocerasus*, baixa frequência de formação de raiz aconteceu em relações diferentes de IBA/BA e NAA/BA (Feucht & Dausend, 1976). O melhor enraizamento em cerejas azedas foi obtido com BA+IBA (Ponchia & Roselli 1980). Junto com NAA ou IAA, 0.1mg/l kin aumentou significativamente a frequência de enraizamento em segmentos de hipocótilo de cereja (Jordan et al., 1980). Enraizamento de brotos de cereja foi observado respectivamente com 0.1 e 1mg/l BA até 70 - 100% e 20%, mas não foi considerada uma estimulação, desde que em meio hormônio-livre a mesma frequência foi encontrada (Lineberger, 1983). Foi observada estimulação de enraizamento em cereja, ameixa, pêssego X amêndoa através de 1 µM de BA, e em marmelo através de 5 µM BA em luz contínua, mas esta estimulação não foi achada com 2iP, Kin ou zeatina (G. Németh 1978, 1979). A frequência de enraizamento era mais baixa que com IBA e era aproximadamente igual à com NAA, NOA ou IAA. Em cereja, Wilkins e Dodds (1982) observaram formação de raiz depois de 6-10 semanas em meio rico em citocinina (2.5 - 5 mg /l BA).

Estas observações sugerem que um ótimo equilíbrio auxina-citocinina endógeno poderia ter sido estabelecido para formação de raiz. Embora, é considerado que citocininas inibem enraizamento (Varga & Humphries, 1974), em fases posteriores, o efeito inibitório de citocininas desaparece e o desenvolvimento de primórdio de raiz parece depender de citocininas (Eriksen, 1974).

**Ácido Giberélico (GA<sub>3</sub>).** Foi sugerido que GA<sub>3</sub> não aja diretamente na formação de raiz, mas por regulamento de nível de IAA (Anand et al., 1972), e muitos autores acrescentaram habitualmente 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> no meio de enraizamento (Hammerschiag, 1982a). Culturas de fruteira podem enraizar sem GA<sub>3</sub> exógeno (G. Németh 1982). Em ameixa 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> estimulou enraizamento, mas não era essencial (Hammerschiag 1982a), considerando que em pêssego GA<sub>3</sub> + PG aumentou o número de plantas bem-desenvolvidas (Chancel et al., 1980). Com ameixa GF 31 G. Németh (1979) encontrou um aumento significativo de enraizamento através de 3 µM GA<sub>3</sub>, mas não em cereja e híbridos pêssego X amêndoa, embora o alongamento de brotos fosse pronunciado. Em marmelo BA 29, 3 µM GA<sub>3</sub> diminuiu em 50% o número de brotos enraizados. Em amêndoa inibição completa foi observada através de 1 mg/l GA<sub>3</sub> (Rugini & Verma, 1982). Thorpe (1980) considera que GA's são envolvidos no crescimento normal do tecido e diferenciação, e inibição de formação de órgão através de GA exógeno resulta de níveis supraótimos e a estimulação de organogênese *in vitro* pode ser interpretada como indicativo de baixo nível de GA endógeno.

**Ácido Abscísico.** Nenhuma formação de raiz em segmentos de *P. avium* *P. pseudocerasus* foi observada com 0.1 - 10 mg/l ABA só, considerando que 0.1 mg/l combinado com I ou I, 5 mg/l BA deu origem a plantas enraizadas (Feucht & Dausend, 1976). Rugini & Verma (1982) observaram inibição completa de enraizamento através de 0.8 mg/l ABA em culturas de amêndoa. Precisa-se de mais dados para a interpretação do papel do ABA no enraizamento de fruteiras *in vitro*

## BASE GENÉTICA

Diferenças no enraizamento *in vitro* de *P. Pseudocerasus* (Fácil de enraizar) *P. avium* (difícil de enraizar) podem explicar a reação diferencial a hormônios (Feucht & Dausend, 1976). Em maçã (*Granny Smith* maçã), a formação de primórdios radiculares em meio

líquido agitado parecia ser genótipo-específico (Sriskandarajah & Muilins, 1981). Análise Estatística da frequência de formação de raiz em culturas de maçã MM 104, M 26, M 27 e Starkspur mostraram uma interação significativa entre auxinas e clones e isto sugeriu que a indução de raiz adventícia foi influenciada fortemente pela base genética das variedades estudadas (G. Németh, 1981). Foram achadas diferenças genotípicas entre clones de maçã anões na reação deles com citocinina (Lane et al., 1982). Zimmermann & Broome (1981) levantaram a hipótese de que a reação de clones de maçã e cultivares para PG também poderia ser genótipo-específica. Com base nos achados deles com maçã M9 e M26. James (1983a, b) explicou a diferença em sensibilidade para auxina pelas diferenças em metabolismo de auxina.

## INFLUÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Monsion & Dunez (1971) informaram a dependência de enraizamento de ameixa *P. mariana* do período do ano quando foram levadas das estacas para cultura. A idade da árvore mãe também é importante do ponto de vista da juvenilidade. Jones (1978) encontrou uma demora longa em termo de diferenciação do meristema de uma macieira de 8 anos em contraste com esses levados de uma árvore de 1 ano, mas uma vez o crescimento iniciado, os resultados eram semelhantes. Como uma das explicações para a grande variabilidade de enraizamento de maçã *Spartan*, Zimmermann & Broome (1981) descartaram a idade (12 anos) da árvore mãe. Enraizamento era mais alto em jovem que em adulto em estacas de maçã A2 (Welander e Huntrieser 1981) e para o máximo de enraizamento. Diferentes concentrações de IBA eram necessárias em cultivares jovens e adultos de maçã M.26 (Welander, 1983).

Boxus & Quoirin (1974) mencionaram que a idade de propágulos de *Prunus* influenciou a formação de raiz. Em meio de multiplicação de broto, enraizamento dobrado foi observado em maçã, e James & Thurbon (1981b) explicaram isto antes do outono em concentração de BA às bases de broto. O número crescente de subcultura melhora o enraizamento, como observado por Jonathan em maçã Deliciosa (Sriskandarajah et al., 1982), em cereja (Leva et al., 1981) e amêndoa (Rugini & Verma, 1982). Em relação ao enraizamento, foram levantadas perguntas sobre rejuvenescimento durante subcultura prolongada (Sriskandarajah et al., 1982), mas nenhuma resposta foi determinada.

As condições de subcultura precedendo a fase enraizamento mostram influência em iniciação de raiz. Alongamento em meio hormônio-livre ou com 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> (Boxus & Quoirin 1974; Quoirin et al., 1977) como também a baixa concentração de citocinina (Rugini & Verma, 1982) favorece a formação de raiz. Jones & Hopgood (1979a) informaram o efeito benéfico de PG no crescimento de broto e em enraizamento subsequente de ameixa e cereja. O efeito promotor de PG durante a fase de alongamento de broto não era evidente com várias espécies de *Prunus* (Quoirin et al., 1977). O efeito de condicionamento de PG no enraizamento subsequente de maçã tipo M. 9 e ausência deste efeito em maçã tipo M. 26 foram explicados através de diferenças em metabolismo de IAA (James & Thurbon, 1981b).

O tamanho de brotos levados para enraizamento em experiências diferentes varia entre 1 e 5 cm (Jones & Hopgood, 1979a). O Tamanho de brotos de maçã entre 1 e 3.5 cm não teve nenhum efeito em enraizamento e nenhum efeito de número de folha foi mencionado por James (1981a). Experimento de Jones et al. (1977b) com ameixa Pixy chamaram atenção a contaminação bacteriana dentro do tecido que pode influenciar a habilidade de enraizamento.

## INFLUÊNCIA DO AMBIENTE

### LUZ

Boxus e Quoirin (1974) mencionaram que luz era inibitório para enraizamento. Tabachnik & Kester (1977) obtiveram enraizamento de amêndoa tanto na luz quanto no escuro,

enquanto que Rugini & Verma (1982) aplicaram só escuridão para amêndoa. Discos foliares de *P. mahaleb* só enraizaram em luz (Hedtrich, 1977). Mantendo os brotos de diferentes variedades de *Prunus* na escuridão durante os primeiros 5 dias e os transferindo então para a iluminação aumentaram-se as porcentagens de enraizamento, dependendo da qualidade de luz (Standardi et al., 1978). G. Németh (1979) observou altas porcentagens de plantas enraizadas em meio contendo BA abaixo de 2000 lx que em 800 lx de intensidade luminosa. Jordan et al. (1982) obtiveram 80% de enraizamento de *P. avium* em escuridão, embora sob baixa intensidade luminosa, foram bem enraizados também brotos de cereja (Sauer, 1983; Snir, 1983). Hammerschiag (1982a) declarou que um período de duas semanas no escuro era essencial para máximo enraizamento de ameixa Calita, e a luz inibiu formação de raiz. Frequência de enraizamento alta foi obtida em maçã debaixo de iluminação contínua (Srisikandarajah et al., 1982), enquanto que Welander (1983) observou um aumento ao nível de enraizamento em escuridão. Nenhuma diferença significativa foi achada entre brotos estiolados e brotos crescidos na presença de luz para enraizamento de maçã M. 9 (James & Thurbon, 1979b). Em alguns cultivares de maçã, estiolação durante a fase de multiplicação aumentou o enraizamento subsequente (Zimmermann, 1983a, b).

Druart et al. (1982) estudaram o efeito de diferentes regimes claros durante os estágios indutivos (alongamento do broto) e iniciação de enraizamento e encontrou aquele regime de escuridão-escuridão deu origem à frequência mais alta e número de raízes. A atividade de peroxidase aumentou durante a fase indutiva, seguida por uma diminuição na fase de iniciação. Considerando que a atividade de peroxidase é relacionada ao nível endógeno de auxina, os resultados variados obtidos por muitos autores podem ser explicados em parte pela sensibilidade à luz destas fases de enraizamento e a destruição da maior parte do IAA através da luz azul (Yamakawa et al., 1979).

## TEMPERATURA

Tratamento com frio a 4 °C em escuridão melhorou o alongamento de brotos (Quoirin et al., 1977), mas este efeito não foi observado por G. Németh (1978). Análise da literatura mostrou que culturas de fruteiras enraizam entre 21°-30°C de temperatura. Lane (1978) obteve ótimo enraizamento de brotos de maçã a 28 °C e a porcentagem de plantas enraizadas estava reduzida a 23 °C e 21 °C. A cultura de brotos de maçã a 22°, 25 ° ou 29° C em meio contendo auxina (fase de iniciação) e em meio sem hormônio (aparecimento de raiz) não mostrou nenhuma diferença na resposta de enraizamento (James, 1983a). Na opinião de Fellenberg (1976) “no momento não há nenhuma hipótese satisfatória ou evidência metabólica da temperatura no enraizamento”.

A Influência da umidade não foi estudada sistematicamente, embora Lane (1979) observou aumento do número de brotos, o que aumenta a umidade e o enraizamento. Isso parece ser confirmado (Rosati et al., 1980) em ameixa, que enraizou 95% a densidade de broto alta em jarros.

## ACLIMATAÇÃO DE PROPÁGULOS PARA CONDIÇÕES DE TERRA

O sucesso do transplante e sobrevivência de plantas depende da qualidade das raízes (Navatel, 1982). Formação de calo concentração-dependente de auxina também pode reduzir a taxa de sobrevivência. Raízes induzidas por IBA de plantas de pêra eram de qualidade melhor que em meio com NAA (Lane, 1979). Em princípio, uma planta com só uma raiz é capaz de sobreviver, não obstante, um maior número de raízes por planta pode compensar raízes não funcionais ou estragadas. Em cereja azeda (Snir, 1983) foram produzidas 5-15 raízes por planta. O sistema radicular precisa ser micorrizado para a árvore crescer prosperamente (David, 1978), e a síntese de micorrizas *in vitro* de *P. avium* micropropagada com o fungo *Gigaspora marginata* foi realizada (Navatel, 1983). Foram obtidas altas porcentagens e boa qualidade de enraizamento em cereja sob condições não-estéreis (Lineberger, 1983).

Folhas produzidas *in vitro* têm uma cutícula incompleta (Zimmermann & Broome,

1980). Resultados obtidos com microscópio eletrônico de varredura revelaram diferenças na cera epicuticular de plântulas aclimatadas e não aclimatadas de ameixa, e os autores concluíram que aquela perda de água aconteceu principalmente na superfície abaxial onde os estômatos estão situados (Fuchigami et al., 1981). Uma resposta estomatal lenta era uma causa significativa da perda de água em maçã. Brainerd & Fuchigami (1981) mostraram que partes de plantas micropropagadas podem ser aclimatadas em baixa umidade dentro de 4-5 dias de exposição para 30 - 40% umidade relativa, e isto envolveu o desenvolvimento de resposta estomatal acelerada.

Borrifando as plantas com fertilizantes e/ou antitranspirantes pode-se melhorar o estabelecimento na terra (Lane, 1979). Spray com 200 ppm GA<sub>3</sub> melhorou o alongamento e eliminou o hábito de roseta de ameixa Pixy (Howard & Oehl, 1979).

## CONCLUSÕES

Normalmente, abaixar a concentração de macronutrientes e açúcar nos meios basais aplicados resulta em um aumento no enraizamento. Carvão ativo deveria ser usado com cautela. Meio líquido acrescido com perlite ou vermiculita como suporte em condições estéreis torna a manipulação mais fácil; enraizamento em condições não-estéreis debaixo de fluxo de água em forma de neblina podem eliminar um passo de cultura, tornando a produção mais econômica.

Auxinas deveriam ser aplicadas distintamente durante fases diferentes de formação de raiz (indução, iniciação, emergência de raiz e alongamento), levando em conta o tipo, efeito "tempo x concentração" e interação com outras substâncias como citocininas, GA<sub>3</sub>, fenólicos e outros elementos adicionados. Efeito de luz e escuridão tem importância considerável durante as fases de formação de raiz, inclusive sucessão destes regimes, intensidade e qualidade de luz. Padrão de Isoperoxidase e conteúdo de fenólicos são marcadores satisfatórios do processo de regeneração de raiz.

Fundo genético e estado fisiológico da planta-mãe e explantes levados para enraizamento são fatores importantes na interação com hormônios e condições ambientais. A aclimação das plantas deve ser realizada gradualmente, à temperatura satisfatória, alta umidade relativa e sob baixa intensidade luminosa, com aplicação de spray com antitranspirantes, solução nutriente ou GA<sub>3</sub> se necessário.

São marcadores adequados no processo de regeneração, a base genética do material vegetal e o estado fisiológico da planta mãe e o explante utilizado para o enraizamento são fatores importantes na interação com os hormônios e as condições ambientais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANAND, V.K; CHIBBAR, R.N; NANDA, K.K. Effects of GA<sub>3</sub> and IBA (indole-3-butyric acid) on rooting and on the sprouting of buds on stem cuttings of *Ipomoea fistulosa*. **Plant Cell Physiol.**, v.13, p. 917-921, 1972.

ANCORA, G., BENVENUTO, E., ROSELLI, G.; DONINI, B. Micropropagation of cherry rootstock F12/1 clones originated from irradiation: the isolation of solid mutants. **Riv Ortofrutticoltura Ital**, v. 66, p. 231-238, 1982.

ANDERSON, W. Rooting of tissue cultured propagation of rhododendron. **In vitro**. v. 14, p.334 (Abstr), 1978.

AYNSLEY, J. In vitro multiplication of woody species. **Round Table Conf.**, 6-8 June, Gembloux, Belgium, p. 133, 1978.

BASSUK, N. L; HUNTER L.D; HOWARD, B.H. The apparent involvement of polyphenoloxidase and phloridzin in the production of apple rooting cofactors. **J Horticult Sci**,

v. 56, p. 313 – 322, 1981.

BASU, R. N; ROY, B. N; BOSE, T. K. Interaction of abscisic acid and auxin in rooting of cutting. **Plant Cell Physiol.**, v. 11, p. 681- 684, 1970.

BIN, G; SANESI, G. La moltiplicazione dei pesco con la tecnica della micropropagazione. **Inf Agr**, v. 38, p. 22371-22374, 1982.

BONGA, J. M; DURZAN, D. J. (Eds). Tissue culture in forestry. Nijhoff, The Hague Bonga JM, Fowler DP (1970) Growth and differentiation in gametophytes of *Pinus resinosa* cultured in vitro. **Can J Bot**, v.48, p. 2205-2207, 1982.

BONNER, J. Development. In: Bonner J, Varner JE (Eds) Plant biochemistry. **Academic Press.**, London New York, p. 850-866, 1965.

BOXUS, P. H. La culture méristèmes de *Prunus*. Note préliminaire relative a l'espèce *P. pandora*. **Buli Rech Agron GX**, v. 6, p. 3-5, 1971.

BOXUS, P. H. In vitro multiplication of woody species. **Round Table Conf**, 6-8 June, Gembloux, Belgium, p. 147, 1978.

BOXUS, P.H.; QUOIRIN, M. La culture de méristèmes apicaux de quelques espèces de *Prunus*. **Buli Soe R Bot Belg**, v.107, p. 91-101, 1974.

BRAINERD, K.E.; FUCHIGAMI, L. H. Acciimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. **J Am Soe Hortic Sei**, v. 106, p. 515-518, 1981.

CHANCEL, L. M. ; MACHEIX, J. J, JONARD, R. Lès conditions du microbouturage in vitro du pêcher/ *Prunus pérsica* Batsch.: influences combinées dès substances de croissance et de divers composés phénoliques. **Physiol Veg**, v. 18, p. 597-608, 1980.

CHEEMA, G.S.; SHARMA, D. P. In vitro propagation of apple root-stock - EMLA 25. **Acta Hortic**, v.131, p. 75-88, 1983.

CHENG, T. Y. Clonal propagation of woody plant species through tissue culture techniques. **Proc Int Plant Prop Soe**, v.28, p. 139-155, 1978.

CONSTANTINE, D. In vitro multiplication of woody species. **Round Table Conf**, 6-8 June, Gembloux, Belgium, p. 134, 1978.

DAVID, A. In vitro multiplication of woody species. **Round Table Conf**, 6-8 June, Gembloux, p. 149, 1978.

DUART, P. H; KEVERS, C. L; BOXUS, P. H.; GASPAR, T. H. In vitro promotion of root formation by apple shoots through darkness effect on endogenous phenols and peroxidases. **Z Pflanzenphysiol**, v. 108, p. 429-436, 1982.

DUDITS, D.; NEMETH, G.; HAYDU, Z. Study of callus growth and organ formation in wheat *Triticum aestivum* tissue culture. **Can J Bot**, v. 53, p. 957-963, 1975.

ERIKSEN, E. N. Root formation in pea cuttings. III. The influence of cytokinin at different developmental stages. **Physiol Plant**, v. 30, p. 163-167, 1974.

FELLENBERG, G. Developmental physiology. In: Ellenberg H, Esser K, Merxmüller H, ShnerpfE, Ziegler H (eds) **Progress in botany**, Springer, Berlin Heidelberg New York, v. 38,

p 167-186, 1976.

FEUCHT, W.; DAUSEND, B. Root induction in vitro of easy-to-root *Prunus pseudocerasus* and difficult-to-root *Prunus avium*. **Sci Hortic**, v. 4, p. 49 – 54, 1976.

FRIDBORG, G.; PEDERSIN, M.; LANDSTROME, L. É.; ERIKSSON, T. The effect of activated charcoal on tissue culture: Adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. **Physiol Plant**, v. 32, p. 104-106, 1978.

FUCHIGAMI, L. H.; CHENG, T. Y.; SOELDNER, A. Abaxial transpiration and water loss in aseptically cultured plum. **J Am Soc Hortic Sci**, v. 106, n. 4, p. 519-522, 1981.

GASPAR, T. H.; SMITH, D.; THORPE, T. Arguments supplémentaires en faveur d'une variation inverse du niveau auxinique endogène au cours des deux premières phases de la rhizogénèse. **C R Acad Sci Ser D**, v. 285, p. 327-330, 1977.

HAISSIG, B. E. Influences of auxins and auxin synergists on adventitious root primordium initiation and development. **N Z J For Sci**, v. 4, p. 311-323, 1974.

HAMMERSCHIAG, F. A. Factors influencing in vitro multiplication and rooting of the plum rootstock Myrobalan (*Prunus cerasifera* Ehrh.). **J Am Soc Hortic Sci**, v. 107, n. 1, p. 44-47, 1982a.

HEDTRICH, C. M. Differentiation of cultivated leaf discs of *Prunus mahaleb*. **Acta Hortic**, v. 78, p. 177-183, 1977.

HEUSER, C. W.; HESS, C. E. Isolation of three lipid root-initiating substances from juvenile *Hedera helix* shoot tissue. **J Am Soc Hortic Sci**, v. 97, p. 571-574, 1972.

HOWARD, B.H.; OEHL, V. H. Propagation in vitro. Establishment of micropropagated Pixy plum rootstock. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 76, 1979.

JAMES, D. J. Adventitious root formation in vitro in apple rootstocks (*Maius pumila*), I. Factors affecting the length of auxin-sensitive phase in M 9. **Physiol Plant**, v. 57, p. 149-153, 1983a.

JAMES, D. J. Adventitious root formation in vitro in apple rootstocks (*Maius pumila*). II. Uptake and distribution of indol-3-acetic acid during the auxin-sensitive phase in M 9 and M 26. **Physiol Plant**, v. 57, p. 154-158, 1983b.

JAMES, D. J.; THURBON, U. Culture in vitro of M 9 apple rootstocks. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 189-192, 1979a.

JAMES, D. J.; THURBON, U. Culture in vitro of M 9 apple. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 179-180, 1979b.

JAMES, D.J.; THURBON, U. Shoot and root initiation in vitro in the apple rootstock M 9 and the promotive effect of phloroglucinol. **J Hortic Sci**, v. 56, p. 15-20, 1981a.

JAMES, D.J.; THURBON, U. Phenolic compounds and other factors controlling rhizogenesis in vitro in the apple rootstock M 9 and M 26. **Z. Pflanzenphysiol**, v. 105, p. 11 -20, 1981b.

JONES, O.P.; HOPGOOD, M.E. The successful propagation in vitro of two rootstocks of *Prunus*: the plum rootstock Pixy (*P. instittia*) and the cherry rootstock F12/1 (*P. avium*). **J Hortic Sci**, v. 54, p. 63-66, 1979a.

- JONES, O. P. ; HOPGOOD, M.E.; O'FARRELL, D. Propagation in vitro of fruit trees. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 79, 1976.
- JONES, O. P.; HOPGOOD, M.E.; O'FARRELL, D. Propagation in vitro of M 26 apple rootstocks. **J Hort Sci**, v. 52, p. 235-238, 1977a.
- JONES, O. P.; PONTIKIS, C. A.; HOPGOOD, M. E. Shoot and root development in vitro. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 176-178, 1977b.
- JONES, O.P.; HOPGOOD, M. E.; FULLER, M. M. Morphogenetic factors in xylem sap. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 18, 1978.
- JONES, O. P.; MARKS, T. R.; ALLER, B. J. Propagation in vitro. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 159, 1981.
- JORDAN, M.; ITURRIAGA, L.; FEUCHT, W. Inhibition of root formation in *Prunus avium* hypocotyls by chlorogenic acid in vitro. **Gartenbauwissenschaft**, v. 45, p. 15-17, 1980.
- JORDAN, M.; ITURRIAGA, L.; FEUCHT, W. Effect of nitrogenous bases on root formation of hypocotyls from *Prunus avium* L. 'Mericier' and 'Bing' grown in vitro. **Gartenbauwissenschaft**, v. 47, p. 46-48, 1982.
- LANE, W. D. Regeneration of apple plants from shoot meristem-tips. **Plant Sei Lett**, v. 13, p. 281 -285, 1978.
- LANE, W. D. Regeneration of pear plants from shoot meristems. **Plant Sei Lett**, v. 16, p. 337-342, 1979.
- LANE, W.D.; LOONEY, N. E.; MAGE, F. A selective médium for growth of compact (dwarf) mutants of apple. **Theor Appl Genet**, v. 61, p. 219-223, 1982.
- LEE, T. T.; SKOOG, F. Effect of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue cultures. **Physiol Plant**, 18:386-402, 1965.
- LEPOIVRE, P. H. In vitro multiplication of woody species. **Round Table Conf**, 6-8 June, Gembloux, Belgium, p. 135- 145, 1978.
- LINEBERGER, R. D. Shoot proliferation, rooting, and transplant survival of tissue cultured 'Hally Joiivette' cherry. **HortSci**, v. 18, p. 182-185, 1983.
- MARKS, T. R.; JONES, O. P.; TREHARNE, K. J.; HOPGOOD, M. E. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 186, 1980.
- MARKS, T. R.; TREHARNE, K. J.; JONES, O. P. Uptake and metabolism of <sup>14</sup>C-phenylglucosin. **Rep E Mailing Rés Stn**, p. 159- 160, 1981.
- MEHRA, A.; MEHRA, P. N. Organogenesis and plantlet formation in vitro in almond. **Boi Gaz**, v. 135, p. 61-73, 1974.
- MINOTTA, G. Studies on the use of different carbohydrates in substrates for the micropropagation of plum. **Riv Ortofrutticoltura It**, v. 65, p. 343-352, 1981.
- MITSUHASHI-KATO, M.; SHIBAOKA, H.; SHIMOKORYAMA, M. The nature of the dual effect of auxin on root formation in *Azuki* cuttings. **Plant Cell Physiol**, v. 19, p. 1535-1542, 1978.



MOHAMMED, S.; ERIKSEN E. N. Root formation in pea cuttings. IV. Further studies on the influence of indole-3-acetic acid at different developmental stages. **Physiol Plant**, v. 32, p. 94-96, 1974.

MONSION, M.; DUNEZ, J. Obtention de jeunes plants de *Prunus mariana* à partir de boutures cultivées in vitro. **C R Acad Sei Ser D**, v. 272, p.1861 - 1864, 1971.

MOSELLA-CHANCEL, L.; MACHEIX, J. J. Lê microbouturage in vitro du Pêcher (*Prunus pérsica* Batsch): influence de certains composés phenoliques. **C R Acad. Sei Ser D**, v. 289, p. 567-570, 1979.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiol Plant**, v.15, p. 473-497, 1962.

NANDA, K. K.; JAIN, M. K. Utilization of sugars and starch as carbon sources in the rooting of etiolated stem segments of *Popuius nigra*. **New Phytol**, v. 71, p. 825-828, 1972.

NAVATEL, J. C. Problèmes lies à la production de porte-greffe d'arbres fruitiers par la multiplication in vitro. **Fruits**, v. 37, p. 331-336, 1982.

NÉMETH, G. In vitro multiplication of woody species. **Round Table Conf**, 6-8 June, Gembloux, Belgium, p. 135-137, 238-242, 1978.

NÉMETH, G. Benzyladenine-stimulated rooting in fruit-tree rootstocks cultured in vitro. **Z Pflanzenphysiol**, v. 95, p. 389-396, 1979.

NÉMETH, G. Adventitious root induction by substituted 2-chloro-3-phenyl-propionitriles in appie rootstocks cultured in vitro. **Sei Hortic**, v. 14, p. 253-259, 1981.

PONCHIA, G.; ROSELLI, G. Prove di micropropagazione di due cloni di ciliegio acido (*Prunus cerasus* L.) **Riv Ortofl It**, v. 64, p. 229-240, 1980.

POPOV, Y.; VYSOTSKY, V. A.; TRUSCHECHKIN, V. G. Kul'tura izolirovannih steblevih verhusek vischni. **Sov Plant Physiol** v. 23, p. 513-518, 1976.

QUOIRIN, M.; BOXUS, P. H.; GASPAR, T. H. Root initiation and isoperoxidases ofstem tip cuttings from mature *Prunus* plants. **Physiol Veg**.,v. 12, p.165-174, 1974.

QUOIRIN, M., LEPOIVRE, P. H.; BOXUS, P. H. Un premier bilan de 10 années de recherches sur lês cultures de méristèmes et la multiplication in vitro de fruitiers ligneux. C R Rech 1976-1977. **Stn Cult Fruit Maraicheres**, Gembloux, p 93-117, 1977.

ROSATI, P.; MARINO, G.; SWIERCZEWSKI, C. In vitro propagation of Japanese pium (*Prunus salicina* Lindl cv. Calita). **J Am Soe Hortic Sei** v. 105, p. 126-129, 1980.

RUGINI, E.; VERMA, D. C. Micropropagation and cell suspensions of a difficult to propagate almond (*Prunus amygdaius* Batsch) cultivar. In: Fujiwara A (ed) **Plant tissue culture**, 1982. Maruzen, Tokyo, p. 741-742, 1982.

RYUGO, K.; BREEN, P. J. Indoleacetic acid metabolism in cuttings of pium (*Prunus cerasifera* x *P. munsoniana* cv. Mariana 2624). **Proc Am Soe Hortic Sei**, v. 99, p. 247, 1974.

SCOTT, T. K. Auxins and roots. **Annu Rev Plant Physiol**, v. 23, p.235-258, 1972.

SHIBAOKA, H.; SHIMOKORIYAMA, M.; YRINCHIJIMA, S.; TAMURA, S. Promoting activity of terpenic lactones in *Phaseolus* rooting and their reactivity toward cysteine. **Plant Cell Physiol**, v. 8, p. 297-305, 1967.

SKIRVIN, R. M.; CHU, M. Tissue culture may revolutionize the production of peach shoots. **III Rés**, v. 19, p. 18-19, 1977.

SKIRVIN, R. M.; CHU, M. C.; RUKAN, H. Tissue culture of peach, sweet and sour cherry, and apricot shoot tips. Proc 111. **State Hort Soc**, v. 113, p. 30-38, 1980b.

SNIR, I. A micropropagation system for sour cherry. **Sei Hort**, v.19, p. 85-90, 1983.

SRISKANDARAJAH, S.; MUILINS, M. G. Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation in vitro. **J Hort Sci**, v. 56, p. 71-76, 1981.

SRISKANDARAJAH, S.; MUILINS, M. G.; NAIR, Y. Induction of adventitious rooting in vitro in difficult-to-propagate cultivars of apple. **Plant Sci Lett**, v. 24, p. 1-9, 1982.

STANDARDI, A.; BOXUS, P. H.; DRUART, P. H. Preliminary research into effect of light on the development of axillary buds and the rooting of plantlets cultivated in vitro. **Round Table Conf In Vitro Multi Woody Spec. Gembloux**, Belgium, June 6-8, p.269-282, 1978.

STONIER, T.; HUDEK, J.; VANDE-STROUWE, R.; YANG, H. (1970) Studies of auxin protectors. VIII. Evidence that auxin protectors act as cellular poisons. **Physiol Plant**, v. 23, p. 775-783, 1970.

TABACHNIK, L.; KESTER, D. E. Shoot cultures for almond and almond-peach hybrid clones in vitro. **HortSci**, v. 12, p. 545-547, 1977.

TORREY, J. G. Experimental modification of development in the root. In: Rudnick (ed) **Cell organism and milieu**, Ronald, New York, p. 189-222, 1959.

TORREY, J. G. Root hormones and plant growth. **Annu Rev Plant Physiol**, v. 27, p. 435-459, 1976.

TRIPATHI, B. K. Études sur la nutrition minérale et la néoformation de racines par lès tissus de topinambour cultivés in vitro. **Lès cultures de tissus de plantes**, (Ed) Centre Nat Rech Sei) Paris, p. 201-208, 1971.

VARGA, M.; HUMPHRIES, E. C. (1974) Root formation on petioles of detached primary leaves of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*) pretreated with gibberellic acid, triiodobenzoic acid, and cytokinins. **Ann Bot**, (London) 38:803-807, 1974.

WEATHERHEAD, M. A.; BURDON, J.; HENSHAW, G. G. Effects of activated charcoal as an additive plant tissue culture media, p 2. **Z Pflanzenphysiol**, v. 94, p. 399-405, 1979.

WELANDER, M. In vitro rooting of the apple rootstock M 26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets. **Physiol Plant**, v. 58, p. 231 -238, 1983.

WELANDER, M.; HUNTRIESER, I. (1981) The rooting ability of shoots raised in vitro from apple rootstock A2 in juvenile and in adult growth phase. **Physiol Plant**, v.53, p. 301-30, 1981.

WILKINS, C. P.; DODDS, J. H. (1982) Effect of various growth regulators on growth in vitro of cherry shoot tips. **Plant Growth Regu**, v. 1, p. 209-216, 1982.

YAMAKAWA, T.; KURAHASHI, O.; ISHIDA, K.; KATO, S.; KODAMA, T.; MINODA, Y. Stability of indole-3-acetic acid to autoclaving, aeration and light illumination. **Agric Biol, Chem**, v. 43, p. 879-880, 1979.

ZIMMERMANN, R. Factors affecting in vitro propagation of apple cultivars. **Acta Hortic**, v. 131, p. 171-178, 1983a.

ZIMMERMANN, R. H. Tissue culture. In: Moore JN, Janick J (Eds) **Methods in fruit breeding**. West Lafayette, Purdue Univ Press, West Lafayette, p. 124- 135, 1983a.

ZIMMERMANN, R. Z.; BROOME, O. C. Phioroglucinol and *in vitro* rooting of apple cuttings. **J Am Soc Hortic**, Sei v. 106, p. 648-652, 1981.

PALAVRAS-CHAVE:

Enraizamento, micropropagação, plantas lenhosas.

## Valorização da biodiversidade urbana em Curitiba.

Cuquel, Francine L.<sup>1</sup>; Mielke, Erica C.<sup>2</sup>; Valle, Francisca Juçara Ribeiro do<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Professora, doutora Universidade Federal do Paraná - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo. Caixa Postal 19061, CEP 81531-99041, Curitiba, Paraná, (41) 3350-5751, [francine@ufpr.br](mailto:francine@ufpr.br). <sup>2</sup>Agrônoma, mestre Prefeitura Municipal de Curitiba - Secretaria Municipal de Meio Ambiente. Av. Manoel Ribas, 2727. CEP 80810-000, Curitiba, Paraná, (41) 3350-9206, [emielke@onda.com.br](mailto:emielke@onda.com.br). <sup>3</sup>Coordenadora de Planejamento Estratégico, Prefeitura Municipal de Curitiba - Secretaria Municipal de Meio Ambiente, (41) 3350-9206, [fvalle@smma.curitiba.pr.gov.br](mailto:fvalle@smma.curitiba.pr.gov.br)

## INTRODUÇÃO

Somente o Brasil abriga cerca de 20% de toda biodiversidade mundial, a qual se encontra majoritariamente em ecossistemas florestais (Kury et al., 2006) A biodiversidade é um ativo de imenso e inestimável valor para a sobrevivência e melhor qualidade vida do ser humano. Apesar disto grande parte de nosso patrimônio genético tem sido perdido em virtude, principalmente da expansão agrícola e populacional. O ser humano que conduz a expansão urbana, muitas vezes desordenadamente é o mesmo que demanda por qualidade de vida. Então, medidas preventivas devem ser elaboradas no sentido de promover o equilíbrio entre o desenvolvimento urbano e a conservação do meio ambiente.

Neste século, a maioria da população mundial viverá nas cidades cuja demanda exigirá novos planejamentos urbanísticos (Bryant, 2006). A urbanização gera compactação do solo, reduz a percolação de água, fragmenta e isola áreas naturais e reduz a diversidade de espécies vegetais (Godefroid, 2001) Embora as espécies nativas apresentem interação nos processos ecológicos, mantendo a biodiversidade e a integridade biológica do ambiente (Karr 1991; Munn 1993; Angermeier & Karr, 1997) a utilização destas espécies na urbanização não tem sido empregada com frequência devido à ausência de estudos consolidados em relação à biologia, ecologia, técnicas de propagação e manejo destas espécies. Mesmo que as plantas exóticas possam apresentar características ornamentais interessantes, o estabelecimento delas no ecossistema urbano pode ser favorecido por elas serem eventualmente mais resistentes às condições ambientais adversas frequentes no meio urbano, tais como estresse hídrico, altas temperaturas e solos alcalinos, tornando-se desta forma invasoras (Wania et al., 2006). De fato tais cenários preenchem muitos dos papéis estéticos utilitários que os habitats naturais oferecem, mas seus custos de estabelecimento e manutenção tendem a ser altos, uma vez que poucas de suas funções auto-regenerativas dos ecossistemas naturais estão disponíveis. O plantio das plantas nativas em ecossistemas urbanos permite que espécies que eventualmente estejam em processo de extinção possam ser favorecidas pelo plantio em larga escala. Igualmente, a presença de um “corredor” de plantas nativas poderá viabilizar a conectividade dos ecossistemas urbanos, dispersão de sementes e propágulos e poderá auxiliar na restauração de áreas naturais nas cercanias da cidade. Outro aspecto relevante está relacionado a fauna nativa que pode ser favorecida pela presença de plantas nativas para se alimentar e se abrigar. Da mesma forma, as plantas nativas se favorecem da presença da fauna nativa em seus processos de polinização (Kenta et al., 2006).

A Prefeitura Municipal de Curitiba desde o início da década de setenta, confere especial distinção no que se refere as áreas verdes urbanas e unidades de conservação, seja pela instituição de uma legislação municipal adequada, seja pelo planejamento de áreas naturais protegidas, ou ainda pela excepcional qualidade de arborização de seus logradouros. A preservação e a conservação do meio ambiente, em particular das áreas verdes, estão fixadas em farta legislação municipal. A preservação das áreas verdes é um dos instrumentos importantes da política municipal de meio ambiente e saneamento. Um

dos aspectos fundamentais da política de áreas verdes urbanas de Curitiba é, justamente, a afirmação da recreação e do lazer como fatores indispensáveis ao equilíbrio físico e mental do ser humano e a seu desenvolvimento. Mas o lazer, ainda que essencial aos desgastes da vida urbana, não é a finalidade primordial de boa parte das áreas verdes, tendo na preservação ambiental e no saneamento - com a manutenção da permeabilidade do solo junto aos rios, da mata ciliar, da fauna, da flora - e na despoluição hídrica, aérea e sonora, os principais objetivos, equilibrando as relações da cidade com seu meio ambiente (Prefeitura Municipal de Curitiba, 2007).

O “Projeto Biocidade” é uma destas ações que visa enriquecer a biodiversidade nativa pela inserção e conhecimento da flora regional, inclusive aquela ameaçada de extinção e com potencial paisagístico, bem como fomentar o seu plantio no paisagismo urbano. Ele visa também despertar e conscientizar a comunidade do seu fundamental envolvimento na conservação do meio urbano.

## METODOLOGIA

O projeto ocorreu no Município de Curitiba, capital do Estado do Paraná, Brasil localizada a 934,6 metros acima do nível do mar. De acordo com estimativas de 2006, sua população é de 1.788.559 habitantes. A Região Metropolitana de Curitiba é formada por 26 municípios, agrupados em cinco microrregiões, num total de 3.261.168 habitantes. O clima de Curitiba é subtropical úmido, sem estação seca, com verões suaves e invernos relativamente frios, pela classificação de Köppen.

A temperatura média anual de Curitiba é de 16,5°C, com amplitude térmica anual de aproximadamente 7°C, sendo 13,5°C a temperatura média no mês mais frio (julho) e 20,5°C no mês mais quente (fevereiro). O índice pluviométrico alcança 1.500 mm em média por ano, pois as chuvas são uma constante do clima local. Esse fato em parte deve-se ao grande desmatamento da Serra do Mar, barreira natural de umidade.

Curitiba está situada na Floresta ombrófila mista, composto por estepes gramíneo-lenhosas pontuadas por capões de florestas com araucária, além de outras formações, como várzeas e matas ciliares. Na vegetação local ainda aparecem remanescentes do pinheiro-do-Paraná (*Araucaria angustifolia*), que resistiram à ação civilizadora dos tempos atuais. As araucárias estão em bosques particulares e públicos, agora protegidas pela legislação ambiental que impede a sua derrubada. A área verde da cidade é de 51 m<sup>2</sup> por habitante. Curitiba possui hoje mais de 77 milhões de metros quadrados de vegetação nativa de porte arbóreo, entre bosques públicos e em áreas particulares. Essa vegetação é regida pela Lei 9806/00 que institui o Código Florestal Municipal.

O planejamento das ações pertinentes ao Projeto iniciou em maio de 2006 e as ações de identificação, reinserção e fomento do uso da flora nativa, de educação ambiental e de desenvolvimento de políticas públicas conservacionistas em setembro do mesmo ano.

## RESULTADOS

### Identificação, re-introdução e fomento ao uso da flora nativa

Foi feito um levantamento das plantas nativas herbáceas e arbustivas com potencial ornamental e outras ameaçadas de extinção no Herbário do Museu Botânico Municipal (MBM). Este levantamento foi realizado para a identificação das espécies alvos para posterior desenvolvimento de estratégias de manutenção bem como a re-introdução em biomas naturais (conservação *in situ*) e em logradouros públicos (conservação *ex situ*). Estão sendo feitas viagens científicas no entorno para resgatar exemplares assim descritos, dos quais estão sendo coletados exemplares das plantas selecionadas que estão sendo introduzidos em estufa climatizada situada no Jardim Botânico Municipal (JBM). Parte dos materiais coletados foi destinado a execução de exsicatas que integram o acervo do MBM.

No período de três meses do Projeto foram efetuadas 18 viagens científicas e nestas coletadas 157 espécies pertencentes às famílias: Amaranthaceae, Begoniaceae, Melastomataceae, Eriocaulaceae, Araceae, Orchidaceae, Moraceae, Musaceae, Tropaeolaceae, Solanaceae, Asteraceae, Bromeliaceae, Gesneriaceae, Oxalidaceae, Fabaceae, Rhamnaceae, Fabaceae, Onagraceae, Verbenaceae. Entre elas destacam-se duas espécies ameaçadas de extinção (*Gomphrena macrocephala* e *Bilbergia magnifica*). Estas plantas estão sendo avaliadas quanto a fenologia e outras características relevantes. Espécies cuja re-introdução for dificultada terão o seu método de propagação avaliado pela Universidade Federal do Paraná. As plantas introduzidas no JBM serão propagadas e seus exemplares serão alocados numa área experimental no JBM para avaliar a sua adaptação no ecossistema urbano. Finalmente as plantas selecionadas deverão ser produzidas em escala comercial pelos viveiros municipais.

Outro objetivo do projeto foi promover a valorização das plantas nativas já disponíveis no mercado. Desta forma, está sendo implantado o Jardim de Nativas (JN), com área de 600m<sup>2</sup>, composto exclusivamente por plantas nativas brasileiras identificadas pelo nome vulgar e científico. No período de três meses o JN possui 80 espécies estabelecidas.

### Educação ambiental

Como ações de educação ambiental têm sido ofertados cursos gratuitos. O objetivo destes cursos é capacitar e disseminar o conhecimento de práticas que auxiliem na preservação ou na melhoria do meio ambiente. Os cursos têm como público alvo escolas públicas, associações de bairro, ONG's, floriculturas, viveiros e paisagistas.

Um dos cursos aborda técnicas simples de jardinagem, tais como aproveitamento de resíduos vegetais resultantes do corte de grama e poda e lixo doméstico, uso de produtos alternativos para controle de pragas, uso de compostagem e uso racional de recursos naturais renováveis. O outro valoriza o uso de plantas nativas em projetos de paisagismo. Ambos os cursos são ministrados no JN. No JN também estão sendo ofertados cursos de observação da fauna local rica em pássaros e borboletas. Além de cursos foram produzidos livretos, livros e folders sobre fauna e flora nativa. No período de três meses foram ministrados nove cursos para 360 participantes, cuja lista de espera atual para os próximos módulos mensais é de seis meses Além disto, foram produzidos dois Livretos para público infantil.

### Políticas Públicas Conservacionistas

Contribuindo para os objetivos propostos para o "*Projeto Biocidade*" ocorreu a regulamentação da Lei Municipal 12.080/06 que a cria a Reserva Particular do Patrimônio Natural Municipal (RPPNM). De acordo com a proposta, os proprietários de áreas com mata nativa que preservarem no mínimo 70%, terão vantagens como isenção total de tributos municipais e podem pedir a transferência do potencial construtivo do lote para outro terreno. O proprietário da RPPNM também poderá fazer projetos de uso alternativo para a reserva, como turismo ecológico, pesquisas científicas e outras atividades que não descaracterizem a conservação ambiental. O proprietário da RPPNM também poderá fazer projetos de uso alternativo para a reserva, como turismo ecológico, pesquisas científicas e outras atividades que não descaracterizem a conservação ambiental. No período de três meses uma RPPNM foi estabelecida.

### CONCLUSÕES

Os resultados parciais obtidos no "*Projeto Biocidade*" já demonstraram o interesse da população pelas plantas nativas e o potencial de uso destas em Projetos de Paisagismo Urbano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGERMEIER, P.L; KARR, J.R. Biological integrity versus biological diversity as policy directives: protecting biotic resources. In: SAMSON, F. B.; KNOFF, F. L. (Eds.). **Ecosystem management: select readings**. Springer, N. Y, 1997.

BRYANT, M.M. Urban landscape conservation and the role of ecological green ways at local an metropolitan scales. **Landscape and Urban Planning**, n.76, p. 23-44, 2006.

GODEFROID, S. Temporal analisys of Brussels flora as indicators for changing environmental quality. **Landscape and Urban Planning**, n. 52 p. 203-224, 2001.

KARR, J.R. Biotic integrity: a long neglected aspect of water resources management. **Ecological applications**, n. 1, p. 66-84, 1991.

KENTA, T; INARI, N; NAGAMITSU, T; GOKA, K; HIURA, T. **Commercialized European bumblebee can cause pollinization disturbance**: Na experiment on seven native plant species in Japan.doi:10.1016/j.biocon.2006.07.023.

KURY, A. B.; ALEIXO, A; BONALDO, A. B. **Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade**. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos: MCT. 2006.

MUNN, R.E. Monitoring ecosystem integrity. In: WOODLEY, S.; KAY, J.; FRANCIS, G. (Eds.). **Ecological integrity and the management of ecosystems**, Ottawa: St. Lucie Press, 1993.

WANIA, A; KUHN I; KLOTZ, S. Plant richness patterns in agricultural and urban landscapes in central Germany - spatial gradients of species richness. **Landscape and Urban Planning**, n. 75, p. 97-110, 2006.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA. <http://www.curitiba.pr.gov.br>. 2007.

### PALAVRAS CHAVES:

Paisagismo, plantas ornamentais nativas.

## Marcadores bioquímicos e moleculares para estudos da morfogênese *in vitro*.

Floh, Eny Iochevet Segal<sup>1</sup>; Santa-Catarina, Claudete<sup>1</sup>; Silveira, Vanildo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL), Rua do Matão, 277, Butantã, Cx.P.: 11461, CEP: 05422-970. São Paulo-SP. email: enyfloh@usp.br; <sup>2</sup>Laboratório de Biotecnologia (LBT), Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB), Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF).

### INTRODUÇÃO

A morfogênese nas plantas é consequência da integração dos processos de divisão e diferenciação celular, os quais conduzem a uma estrutura organizada e característica (Handro & Floh, 1990). Tais processos são controlados por uma variedade de sinais internos ou do ambiente, tais como os hormônios e a luz, capazes de modificar o crescimento e o desenvolvimento. Os padrões mais comuns que ocorrem em tecidos cultivados *in vitro* são: a) a neoformação de raízes e gemas caulinares, vegetativas ou florais, através da organogênese, que pode ser ainda direta, ou indireta, a partir de um calo e; b) a formação de embriões somáticos através da embriogênese somática, que também pode ser direta ou indireta.

A embriogênese somática constitui um exemplo da expressão da totipotencialidade, postulada por Haberlandt em 1902, em que as células vegetais possuem a capacidade de regenerar indivíduos completos a partir de uma única célula. A sua utilização como técnica para propagação clonal tem sido tema de diferentes estudos e revisões (Santa-Catarina et al., 2001; Quiroz-Figueroa et al., 2006). Entretanto, a embriogênese constitui um modelo bastante interessante para estudos básicos de fisiologia, biologia celular, bioquímica, genética da diferenciação e morfogênese em vegetais. Estudos utilizando esta abordagem têm sido realizados em especial com abordagens morfológicas e cito-histológicas (Cangahuala-Inocente et al., 2004). Neste aspecto, deve-se destacar que as limitações impostas pela falta de estudos básicos sobre a ontogênese dos embriões zigóticos e embriogênese somática, nos seus aspectos fisiológicos e bioquímicos complementados com a caracterização molecular, torna frequentemente, os protocolos de cultivo *in vitro* bastante empíricos e pouco eficientes.

No presente trabalho serão discutidos alguns aspectos relacionados à utilização de marcadores moleculares estádio-específicos, como estratégia para o estudo dos processos da embriogênese zigótica e somática. Sua identificação e utilização permite uma melhor compreensão dos aspectos básicos destes processos de desenvolvimento, além de, propiciar a possibilidade de otimização de sistemas e protocolos de embriogênese somática para fins aplicados e biotecnológicos.

A embriogênese *in vitro* foi descrita pela primeira vez, independentemente, por Steward et al. (1958) e Reinert (1958) em cenoura. Embora existam relatos para inúmeras espécies, os seus avanços ainda são limitados pela falta da compreensão dos estímulos e condições necessárias para sua indução e controle. A embriogênese somática é um processo onde através da técnica de cultivo *in vitro*, células isoladas ou um pequeno grupo de células somáticas dão origem a embriões (Tautorus et al., 1991), numa seqüência morfogenética que se aproxima aos eventos representativos da embriogênese zigótica. Este processo pode ser dividido em quatro fases: 1) a *indução* em meios de culturas contendo auxinas (mais frequentes) e citocininas (menos frequentes); 2) *multiplicação* em meios contendo auxinas em baixas concentrações; 3) *maturação* em presença de ABA e/ou agentes osmóticos e; 4) *germinação* em meios de cultura isentos de fitoreguladores (Tautorus et al., 1991). As condições para promover a embriogênese somática estão relacionadas com a presença de reguladores de crescimento, estresses osmóticos, alterações de pH, choques térmicos e tratamentos com diferentes substâncias (Guerra et al., 1999) sendo as auxinas referenciadas como essenciais na indução do processo (Fehér et



al., 2002). Além das condições de cultivo, também devem ser considerados como fundamentais, o explante inicial, incluindo o seu genótipo, estágio de desenvolvimento e as condições fisiológicas, como por exemplo, o conteúdo hormonal endógeno do material (Jiménez, 2001). Portanto, o processo da embriogênese pode ser definido como um processo multifatorial e altamente complexo.

Similaridades morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, entre os processos de embriogênese somática e embriogênese zigótica foram demonstradas para diferentes sistemas vegetais, incluindo gimnospermas e angiospermas. Uma melhor compreensão dos fatores associados à embriogênese zigótica pode ser buscada na interface entre os modelos de embriogênese somática e embriogênese zigótica. Ambos os processos apresentam os mesmos estádios de desenvolvimento pró-embriônicos e embriônicos incluindo: globular, cordiforme (em dicotiledôneas), torpedo, cotiledonar e maduro (Zimmerman, 1993). As estruturas internas do embrião somático globular e cordiforme são semelhantes aos equivalentes zigóticos. Assim, são evidentes no estágio globular a protoderme e a polaridade, e no estágio cordiforme a simetria bilateral (Guerra et al., 1999). Em *Pinus taeda*, Pullman et al. (2003) demonstraram que além das semelhanças morfológicas, similaridades estão presentes no padrão de aminoácidos nos diferentes estádios da embriogênese. Mais recentemente, Winkelmann et al. (2006) utilizando *Cyclamen persicum*, através de análises proteômicas comparativas, demonstraram similaridades nos dois processos de desenvolvimento. As principais diferenças entre os embriões somáticos e zigóticos relacionam-se com o fato dos embriões somáticos se desenvolvem livres de correlações físicas, fisiológicas e genéticas, as quais ocorrem durante o desenvolvimento de um embrião zigótico (Zimmerman, 1993). Adicionalmente, as células embriogênicas, *in vitro*, são passíveis de manipulação pela grande maioria de técnicas celulares e moleculares, em contraste com as células gaméticas e o zigoto, que estão embebidos no tecido materno. Uma particularidade dos embriões somáticos é a presença de um sistema vascular fechado, sem conexão vascular com os tecidos do explante inicial (Guerra et al., 1999).

## INDUÇÃO PARA A EMBRIOGÊNESE

Em condições *in vitro*, a embriogênese somática ocorre em explantes cujas células são determinadas, ou pré-embriogênicas, ou então, o processo se inicia com uma fase inicial onde células se desdiferenciam, tornam-se competentes, e são determinadas para a embriogênese. Estes processos envolvem mecanismos complexos de reativação celular, divisão e reprogramação do metabolismo e desenvolvimento (Fehér et al., 2003). O termo “células embriogênicas” frequentemente é utilizado para aquelas células que tenham completado a sua transição do estado somático para o estado embriogênico. Nesta situação nenhum outro estímulo, por exemplo, a aplicação de reguladores de crescimento, é necessária para a produção de embriões somáticos. Aquelas células em um estágio intermediário, ou seja, que necessitam de algum estímulo exógeno para tornarem-se embriogênicas são ditas como “competentes para a embriogênese” (Guerra et al., 1999).

Os processos moleculares que governam a competência e a indução para a embriogênese em células vegetais ainda não estão totalmente esclarecidos (Mordhost et al., 1997). Sem dúvida estes processos envolvem a reprogramação da expressão gênica, que resultam em alterações morfológicas, bioquímicas e metabólicas nas células. Trabalhos recentes têm sido realizados objetivando a obtenção de marcadores moleculares para a detecção e/ou promoção da competência embriogênica. A identificação e expressão destes genes marcadores são, na sua maioria, utilizados para a identificação populações celulares competentes para a embriogênese.

Um dos primeiros genes descritos como envolvidos na expressão da competência celular foi o “Somatic Embryogenesis Receptor Kinase” (*DcSERK*) (Schmidt et al., 1997), em cultura de tecidos de *Daucus carota*. A expressão do gene *SERK* tem sido utilizada como um marcador, dentro de uma população das células embriogênicas competentes e não competentes (Santa-Catarina et al., 2004). Esta situação também foi identificada para outros sistemas como: *Arabidopsis* (*AtSERK1*) (Hecht et al., 2001), *Dactylis glomerata* (*DgSERK*)

(Somleva et al., 2000) e *Medicago trunculata* (*MtSERK1*) (Nolan et al., 2003). Salienta-se, entretanto, que a expressão destes homólogos não é específica para marcar células competentes para formar embriões, mas está também envolvida no processo que confere a competência embriogênica, podendo ser um componente da via de sinalização da embriogênese especialmente durante os estádios iniciais de desenvolvimento (Ikeda et al., 2006). As células competentes podem conter um receptor inativo, que pode ser ativado pela presença de algum fator que aciona o programa genético da embriogênese (Fehér et al., 2003; Nolan et al., 2003). Agregados celulares de *O. catharinensis* cultivados, com a competência à embriogênese, foram associados à expressão do gene *SERK*, e com perfis específicos de poliaminas (PAs) e aminoácidos associados a síntese de PAs (Santa-Catarina et al., 2004). Ficou evidenciado que, para este sistema é possível a utilização da expressão do gene *SERK* como um marcador para o reconhecimento das células competentes.

A influência das auxinas exógenas, em especial o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), na indução da embriogênese somática está bem documentada (Dudits et al., 1995). Foi sugerido que o 2,4-D atua indiretamente através de um aumento nos níveis endógenos do AIA e alterando o metabolismo das auxinas. Fehér et al. (2003) propuseram que o 2,4-D, quando acima de uma determinada concentração, possui um duplo efeito nas culturas, como uma auxina (diretamente ou através do metabolismo endógeno) e como um agente de estresse. A ativação simultânea das respostas ao estresse e aos sinais auxina/ABA (ácido abscísico) podem ser um evento chave na adaptação celular, causando reprogramações genéticas, metabólicas e fisiológicas, que resultam na competência embriogênica das células somáticas. No sistema de agregados de *O. catharinensis* (Santa-Catarina et al., 2004) ficou demonstrada a indução da expressão do gene *SERK* por auxinas, mais especificamente o 2,4-D. Assim, em culturas onde o 2,4-D foi adicionado ao meio de cultura, foram identificadas populações celulares competentes e não competentes para embriogênese, em um mesmo calo. Naquelas em que o regulador de crescimento estava ausente populações de células competentes não foram observadas (Santa-Catarina et al., 2004). A existência, em um mesmo calo, de populações celulares competentes e não competentes, parece ser um requisito para a aquisição da competência embriogênica. As células não competentes produziram e secretaram moléculas para o meio de cultura, como as quitinases, as arabinoglucanos, e proteínas, que seriam identificadas por outras células que alterariam o seu padrão e expressariam a sua competência em desenvolver-se em embriões (Hecht et al., 2001). Indutores não hormonais, incluindo altas concentrações de sacarose e estressores osmóticos, metal pesado e alta temperatura, também podem ser utilizados para promover a transição do estágio somático para o embriogênico (Fehér et al., 2003). Neste sentido, a adição de sorbitol ao meio de cultura WPM, pode ter sido efetivo na aquisição da competência para a embriogênese somática em agregados celulares de *O. catharinensis* (Santa-Catarina et al., 2004).

Em diversas coníferas, os padrões protéicos vêm sendo utilizados como marcadores da competência das culturas embriogênicas, (Kormuták & Vooková, 1997). Em agregados celulares de *O. catharinensis*, mantidos em diferentes meios de cultura e com diferentes graus de competência para a embriogênese, constatado pela expressão do gene *SERK* (Santa-Catarina et al., 2004), foram identificadas proteínas diferencialmente expressas com maior expressão nos agregados celulares considerados competentes (Moraes et al., 2006; Moraes, 2006). Possivelmente estas proteínas sejam candidatas a marcadores moleculares da competência da embriogênese somática nesta espécie.

## DESENVOLVIMENTO DA EMBRIOGÊNESE

Vários fatores interferem no processo de embriogênese quando do estabelecimento da estrutura bipolar, que contém o ápice caulinar e radicular, conhecida como eixo embrionário. Este processo é resultado de um complexo controle espacial e temporal, onde vários hormônios atuam na regulação da expressão de múltiplos genes. Estudos envolvendo a expressão gênica nesta fase inicial da embriogênese, têm sido realizados, utilizando-se

mutantes de *Arabidopsis* (Willemsen & Scheres, 2004). Exemplos podem ser obtidos para os genes *CLAVATA1* (*CLV1*), *PLETHORA* (*PLT*), *WOX* (*WUSCHEL* related homeobox) e *PIN* (Friml *et al.*, 2003; Willemsen & Scheres, 2004; Haecker *et al.*, 2004).

Diferentes pesquisas revelam que os hormônios vegetais apresentam variações estádio-específicas, podendo ser utilizados marcadores moleculares durante o processo de embriogênese. Dentre os vários hormônios vegetais, o AIA (ácido indol-3-acético) é um dos principais fatores relacionados com o estabelecimento do eixo ápice-base, e com a simetria bilateral do embrião (Kong *et al.*, 1997; Friml *et al.*, 2003). Durante a embriogênese zigótica em várias espécies de arbóreas, como *A. angustifolia* (Astarita *et al.*, 2003a) e *O. catharinensis* (Santa-Catarina *et al.*, 2006), conteúdos maiores de AIA foram observados nos estádios iniciais, seguido por um decréscimo contínuo até o final do desenvolvimento embrionário, quando da diferenciação dos cotilédones e desenvolvimento da semente. A interface e similaridades, nos processos de embriogênese zigótica e somática, em relação aos conteúdos de AIA, foram observadas em *O. catharinensis*, onde embriões somáticos também apresentaram maiores níveis de AIA nos estádios iniciais do desenvolvimento embrionário somático (Santa-Catarina *et al.*, 2006). Esta variação nos teores de AIA é uma característica das sementes em desenvolvimento, cujos valores máximos ocorrem durante o crescimento, no início da embriogênese, seguida pela redução em sementes maduras (Bewley & Black, 1994). Em outras espécies, como *Pinus taeda*, um aumento crescente no conteúdo de AIA pode ocorrer do estádio globular ao cotiledonar, decrescendo no estádio maduro (Silveira *et al.*, 2004a).

Nas sementes de várias gimnospermas e angiospermas, os conteúdos endógenos de ABA seguem padrões de variação bem conhecidos. Assim, o conteúdo de ABA é baixo durante as fases iniciais da embriogênese, aumentando durante o crescimento do embrião, e decrescendo nas fases finais de desenvolvimento embrionário (Stasolla & Yeung, 2003). Este panorama foi observado durante o desenvolvimento de sementes de *A. angustifolia* (Silveira *et al.*, 2007) e *P. taeda* (Silveira *et al.*, 2004a). Entretanto, em sementes de *O. catharinensis* (Santa-Catarina *et al.*, 2006), um decréscimo nos níveis de ABA no estádio maduro não foi observado sugerindo uma possível relação com recalcitrância e dormência. Nos embriões maduros e desidratados há indícios, em muitas espécies, do acúmulo de ABA impondo um estado de dormência, pelo menos por um curto período de tempo durante a maturação, sendo que a quebra desta dormência estaria relacionada com uma mudança nos níveis endógenos de ABA e de GAs (giberelinas) (Bewley & Black, 1994). A compreensão destes fatores, atuantes na embriogênese zigótica têm sido fundamentais para a otimização, em especial na manipulação dos meios de cultura, do processo de embriogênese somática em arbóreas. Maior ênfase tem sido dada para os reguladores de crescimento, como o ABA e o ajuste osmótico, durante a etapa de maturação. Observou-se que para coníferas que, um aumento na qualidade e quantidade de embriões somáticos, pode ser obtido ao adicionar-se ao meio de cultura ABA e PEG (polietilenoglicol) (Guerra *et al.*, 2000). Em *O. catharinensis*, uma angiosperma, esta a combinação também se mostrou eficiente para a maturação dos embriões somáticos (Dias *et al.*, 2007a). Simulando a desidratação observada na embriogênese zigótica, para a maturação dos embriões somáticos, pode-se recorrer à desidratação e reidratação, e como consequência alterações nos níveis de ABA e etileno destes embriões somáticos (Stasolla & Yeung, 2003).

Como resposta à ação do ABA, e ao estresse osmótico, que ocorrem no embrião maduro, foram identificadas as proteínas tipo desidrinas e tipo LEA (Late Embryogenesis Abundant) (Campalans *et al.*, 2000). Estas proteínas têm sido utilizadas como marcadores estádio-específicas do processo de embriogênese em diferentes sistemas. A utilização de proteínas, como marcadores para embriogênese somática e zigótica, têm sido descrita para várias espécies (Misra, 1995), tentando relacionar os estádios embriogênicos com alterações nos perfis proteômicos. Estudos iniciais na área de análise proteômica foram realizados para os diferentes estádios da embriogênese de *O. catharinensis* e *A. angustifolia* (Dias *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2007b; Silveira *et al.*, 2007; Moraes, 2006). Estudos proteômicos iniciais também estão sendo desenvolvidos durante a embriogênese somática nestas espécies. Em *A. angustifolia*, culturas embriogênicas submetidas à maturação com

PEG, ABA e maltose apresentaram diferenças no padrão de proteínas diferencialmente expressas, onde o tratamento com PEG apresentou maior número de polipeptídeos e o ABA o menor, enquanto a maltose apresentou maior porcentagem de polipeptídeos de alto peso molecular (Andrade et al., 2007). Nos embriões somáticos de *O. catharinensis* obteve-se a identificação de proteínas diferencialmente expressas, a germina e quitinase, as quais possuem papel importante nos processos de desenvolvimento vegetal (Moraes, 2006). A germina apresentou maior expressão nos estádios globular e cotiledonar, enquanto a quitinase foi nos estádios cotiledonar inicial e maduro (Moraes, 2006). Estes estudos proteômicos comparativos entre a embriogênese somática e zigótica além de fundamentais para o entendimento destes processos, são importantes para o monitoramento e otimização da embriogênese somática nestas espécies, podendo as proteínas serem utilizadas como marcadores moleculares dos diferentes estádios de desenvolvimento.

As PAs, atualmente consideradas como reguladores de crescimento por diferentes pesquisadores, atuam em vários processos de desenvolvimento interferindo na biossíntese de macromoléculas, divisão e diferenciação celular, organogênese e embriogênese. Estas substâncias têm sido relacionadas com estresses ambientais, tais como deficiências minerais, estresse osmótico e salino (Kakkar et al., 2000). As principais PAs encontradas nas plantas superiores são a Put (putrescina), a Spd (espermidina) e a Spm (espermina), protonadas em pH fisiológico, podendo ocorrer na forma livre ou conjugada com ácidos fenólicos e moléculas de baixo peso molecular (Fehér et al., 2003). As PAs estão relacionadas com a regulação da embriogênese somática e zigótica (Kong et al., 1998), podendo ser utilizadas como marcadores bioquímicos durante esses processos (Shoeb et al., 2001; Bais & Havishankar, 2002; Astarita et al., 2003b; Silveira et al., 2004a,b; Santa-Catarina et al., 2006; Steiner et al., 2007). Em *Allium cepa*, a adição de Put associada com a Spd promove a indução de embriões somáticos, enquanto que a presença, apenas de Spd estimula a maturação e a conversão de embriões em plantas (Martínez et al., 2000). Em *Daucus carota* a Spm estimula a formação de embriões somáticos (Takeda et al., 2002). Baixas concentrações de ABA e de Put, e níveis elevados de Spd foram associadas às altas taxas de conversões de embriões somáticos em *Quercus petraea* (Cvikrová et al., 1999). Shoeb et al. (2001), propuseram que não apenas o conteúdo de PAs mas também a relação Put/Spd, constituem importantes biomarcadores da capacidade regenerativa em plantas. Adicionalmente, a interação das PAs com diferentes reguladores de crescimento vem sendo estudada (Steiner et al., 2007). Segundo Andersen et al. (1998), o aumento nos níveis de PAs nos tecidos cultivados *in vitro* causaria a redução nas concentrações de etileno e a promoção da morfogênese. Em coníferas, estudos indicam que as PAs estão envolvidas no estabelecimento da competência dos tecidos em responder à indução da embriogênese somática (Silveira et al., 2004b, 2006). Na embriogênese zigótica, foi sugerido que a Put possui importância fundamental no início da embriogênese, quando a taxa de divisão celular é alta. Altos conteúdos de Spd e/ou Spm são essenciais do meio ao final do desenvolvimento do embrião, quando o crescimento é principalmente devido ao alongamento celular (Santa-Catarina et al., 2006; Astarita et al., 2003b).

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso e altamente difusível, que tem sido descrito como um mensageiro intra e intercelular, podendo participar de vários processos em plantas (Neill et al., 2003). Nos vegetais, estudos apontam o NO como uma molécula sinalizadora nos mecanismos de defesa, nas respostas ao estresse abiótico, e na regulação do crescimento, diferenciação e desenvolvimento vegetal como a germinação, senescência, expansão celular e morte celular programada (Durner & Klessig, 1999; Santa-Catarina et al., 2007). Recentemente, foi demonstrado que o NO pode estimular a ativação da divisão celular e a formação de células embriogênicas em células de protoplastos de alfafa, na presença de auxina (Ötvos et al., 2005).

Em células animais foi demonstrada a interação em PAs e o NO (Hillary & Pegg, 2003), visto que a Arg é um precursor comum para ambas substâncias. Trabalhos recentes mostraram que as PAs, especialmente a Spm, estão relacionadas com a biossíntese de NO em plântulas de *Arabidopsis* (Tun & Santa-Catarina et al., 2006), culturas celulares de tabaco, embriões somáticos de *O. catharinensis* (Santa-Catarina et al., 2007) e culturas

embriogênicas de *A. angustifolia* (Silveira et al., 2006). Nestas últimas, verificou-se que as PAs Spd e Spm reduzem o crescimento celular, promovem a evolução morfológica das culturas embriogênicas concomitantemente a redução na síntese de NO. Por outro lado, a Put não reduz o crescimento, não promove a evolução morfológica e aumenta a síntese de NO nestas culturas embriogênicas (Silveira et al., 2006). Estes resultados sugerem uma possível correlação entre a produção de NO, induzida ou não pelas PAs, e o processo de embriogênese. A Put e o NO estariam relacionados com a divisão celular, enquanto a Spd e Spm estariam envolvidas na via de diferenciação com a progressão da evolução morfogenética das culturas embriogênicas. Trabalhos recentes comprovaram esta hipótese observando-se um aumento na divisão celular das células embriogênicas em *A. angustifolia* quando tratadas com doadores de NO (dados não publicados). Estudos realizados por Silveira et al. (2006) também evidenciaram que as células embriogênicas de *A. angustifolia* acumulam mais NO do que as células alongadas do suspensor, sugerindo que as células embriogênicas podem ter uma fisiologia distinta em relação à biossíntese de NO. Na embriogênese somática em *O. catharinensis* também foi verificado o efeito das PAs no crescimento, evolução morfogenética e nos níveis endógenos de NO (Santa-Catarina et al., 2007). Embriões somáticos desta espécie apresentaram uma redução no crescimento, maior evolução morfogenética e maiores níveis NO quando cultivados em meio contendo Spd e Spm, enquanto a Put apresentou resultados contrários. Os resultados obtidos para estas espécies sugerem que o NO pode ser utilizado como um marcador molecular em diferentes fases do desenvolvimento da embriogênese somática, permitindo realizar estudos básicos no controle da morfogênese *in vitro*.

A utilização de marcadores bioquímicos como as PAs e hormônios vegetais, em conjunto com marcadores e moleculares, como as proteínas, NO e expressão de genes marcadores, podem representar uma importante estratégia para a otimização e controle dos processos morfogenéticos *in vitro*. Adicionalmente, o uso destes marcadores, podem ser cruciais para estudos básicos em biologia celular, bioquímica e fisiologia vegetal utilizando sistemas de cultura de tecidos de plantas. Esta estratégia pode ser importante para a viabilização da cultura de tecidos na propagação de genótipos superiores e conservação de germoplasma, assim como sua utilização como ferramenta complementar em programas de melhoramento genético, que utilizam técnicas biotecnológicas, como a transformação genética, para aumentar o ganho genético.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, S.I.; BASTOLA, D.R.; MINOCHA, S.C. Metabolism of polyamines in transgenic cells of carrot expressing a mouse ornithine decarboxylase cDNA. **Plant Physiology**, v.116, p.299-307, 1998.

ANDRADE, J.B. DA R.; DIAS, L.L.C.; BALBUENA, T.S.; SANTA-CATARINA, C.; FLOH, E.I.S.; SILVEIRA, V. Análise proteômica comparativa durante a maturação de culturas embriogênicas de *Araucaria angustifolia*. In: **3. Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos Vegetais**, Goiânia, GO, 2007.

ASTARITA, L.V.; FLOH, E.I.S.; HANDRO, W. Changes in IAA, tryptophan and activity of soluble peroxidases associated with zygotic embryogenesis in *Araucaria angustifolia* (Brazilian pine). **Plant Growth Regulation**, v. 39, p.113-118, 2003a.

ASTARITA, L.V.; FLOH, E.I.S.; HANDRO, W. Changes in polyamines content associated with zygotic embryogenesis in the Brazilian pine, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 163-168, 2003b.

BAIS, H.P.; HAVISHANKAR, G.A. Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 69, p. 1-34, 2002.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. p. 445.

CAMPALANS, A.; PAGÈS, M.; MESSEGUER, R. Protein analysis during almond embryo development. Identification and characterization of a late embryogenesis abundant protein. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 449-457, 2000.

CANGAHUALA-INOCENTE, G.C.; STEINER, N.; SANTOS, M.; GUERRA, M.P. Morphohistological analysis and histochemistry of *Feijoa sellowiana* somatic embryogenesis. **Protoplasma**, v. 224, p. 33-40, 2004.

CVIKROVÁ, M.; BINAROVÁ, P.; CENKLOVÁ, V.; EDER, J.; MACHÁCKOVÁ, I. Reinitiation of cell division and polyamine and aromatic monoamine levels in alfafa explants during the induction of somatic embryogenesis. **Physiologia Plantarum**, v. 105, p. 330-337, 1999.

DIAS, L.L.C.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V.; FLOH, E.I.S. Conteúdo endógeno de AIA, ABA, poliaminas e aminoácidos na maturação de embriões somáticos de *Ocotea catharinensis*. In: **3. Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas**, Goiânia, GO, 2007a.

DIAS, L.L.C.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; BALBUENA, T.S.; FLOH, E.I.S. Comparative analysis of the two-dimensional gel electrophoresis patterns during seed development in *Ocotea catharinensis*. **Proteomics** (submetido). 2007b.

DIAS, L.L.C.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; FLOH, E.I.S. Análise proteômica comparativa durante o desenvolvimento do embrião zigótico de *Ocotea catharinensis*. In: **8. Congresso e Exposição Internacional Sobre Florestas-Forest 2006**; Cuiabá. CD-ROM da..., Cuiabá, MT, 2006.

DURNER, J.; KLESSIG, D.F. Nitric oxide as a signal in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 369-374, 1999.

DUDITS, D.; GYORGYEY, J.; BOGRE, L.; BAKÓ, L. Molecular biology of somatic embryogenesis. In: THORPE, T.A. **In vitro embryogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 267-308.

FEHÉR, A.; PASTERNAK, T.; ÖTVÖS, K.; MISKOLCZI, P.; DUDITS, D. Induction of embryogenic competence in somatic plant cells: a review. **Biologia**, v. 57, p. 5-12, 2002.

FEHÉR, A.; PASTERNAK, T.P.; DUDITS, D. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 74, p.201-228, 2003.

FRIML, J.; VIETEN, A.; SAUER, M.; WEIJERS, D.; SCHWARZ, H. Efflux-dependent auxin gradients establish the apicalbasal axis of *Arabidopsis*. **Nature**, v. 426, n. 6963, p. 147-53, 2003.

GUERRA, M.P.; SILVEIRA, V.; SANTOS, A.L.W.; ASTARITA, L.V.; NODARI, R.O. Somatic embryogenesis in *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze., In: S.M. Jain, P.K. Gupta; R.J. Newton (eds.), **Somatic embryogenesis in woody plants**, v. 6, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000. p. 457-478.

GUERRA, M.P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. Embriogênese somática e sementes sintéticas, In: A.C. TORRES, L.S. CALDAS; J.A. BUSO (eds.), **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, v. 2, Embrapa, Brasília, 1999. p. 533-568

HAECKER, A.; GROSS-HARDT, R.; GELGES, B.; SARKAR, A.; BREUNINGER, H.; HERRMANN, M.; LAUX, T. Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. **Development**, v. 131, p. 657-668, 2004.

HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. Aspectos básicos do controle da morfogênese in vitro. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Eds.). **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**, ABCTP/EMPRAPA-CNPH, Brasília, 1990. p. 203-212.

HECHT, V.; VIELLE-CALZADA, J-P.; HARTOG, M.V.; SCHMIDT, E.D.L.; BOUTILIER, K.; GROSSNIKLAUS, U.; DE VRIES, S.C. The *Arabidopsis* **SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 1** gene is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture. **Plant Physiology**, v.127, p. 803–816, 2001.

HILLARY, R.A.; PEGG, A.E. Decarboxylase involved in polyamine biosynthesis and their inactivation by nitric oxide. **Biochemistry and Biophysics Acta**, v. 1647, p. 161-166, 2003.

IKEDA, Y.; BANNO, H.; NIU, Q-W.; HOWELL, S.H.; CHUA, N-H. 2006. The ENHANCER OF SHOOT REGENERATION 2 gene in *Arabidopsis* regulates CUP-SHAPED COTYLEDON 1 at the transcriptional level and controls cotyledon development. **Plant Cell Physiology**, v. 47, n. 11, p. 1443–1456, 2006.

JIMÉNEZ, V.M. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2 p.196-223, 2001.

KAKKAR, R.K.; NAGAR, P.K.; AHUJA, P.S.; RAI, V.K. Polyamines and plant morphogenesis. **Physiologia Plantarum**, v. 43, p. 1-11, 2000.

KONG, L.; ATTREE, S.M.; FOWKE, L.C. Changes of endogenous hormone levels in developing seeds, zygotic embryos and megagametophytes in *Picea glauca*. **Physiologia Plantarum**, v. 101, p. 23-30, 1997.

KONG, L.; ATTREE, S.M.; FOWKE, L.C. Effects of polyethylene glycol and methylglyoxal bis(guanylhydrazone) on endogenous polyamine levels and somatic embryo maturation in white spruce (*Picea glauca*). **Plant Science**, v. 133, p. 211-220, 1998.

KORMUTÁK, A.; VOOKOVÁ, B. Biochemical variation between non-embryogenic and embryogenic calli of silver fir. **Biologia Plantarum**, v. 39, p.125-130, 1997.

MARTÍNEZ, L.E.; AGÜERO, C.B.; LÓPEZ, M.E.; GALMARINI, C.R. Improvement of *in vitro* gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines. **Plant Science**, v. 156, p. 221-226, 2000.

MISRA, S. Molecular analysis of zygotic and somatic conifer embryos. In: S.M. Jain, P.K. Gupta; R.J. Newton, (Eds.) **Somatic embryogenesis in woody plants**, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, v. 3, p. 119-142, 1995.

MORAES, F. M. DE S. **Análise proteômica da embriogênese somática e da aquisição de competência embriogênica de *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauracea)**. Dissertação de Mestrado. Brasília: Universidade de Brasília, 90 p., 2006.

MORAES, F. M. DE S.; SOUSA, M. V.; SANTA-CATARINA, C.; FLOH, E.I.S.; RICART, C. A. O. Two-dimensional electrophoresis analysis of *Ocotea catharinensis* during somatic embryogenesis and embryogenic competence acquisition. In: XXXV Reunião Anual da SBBq. Águas de Lindóia. **Anais da...** v. 1, p. 3-19, 2006.

MORDHOST, A.P.; TOONEN, M.A.J.; DE VRIES, S.C. Plant embryogenesis. **Critical Review in Plant Science**, v. 16, p. 535-576, 1997.

NEILL, S.J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Nitric oxide signalling in plants. **New Physiology**, v. 159, p. 11-35, 2003.

NOLAN, K.E.; IRWANTO, R.R.; ROSE, R.J. Auxin up-regulates *MtSERK1* expression in both *Medicago trunculata* root-forming and embryogenic cultures. **Plant Physiology**, v. 133, p. 218-230, 2003.

ÖTVOS, K.; PASTERNAK, T.P.; MISKOLCZI, P.; DOMOKI, M.; DORJGOTOV, D.; SZUCS, A.; BOTTKA, S.; DUDITS, D.; FEHER, A. Nitric oxide is required for, and promotes auxin-mediated activation of, cell division and embryogenic cell formation but does not influence cell cycle progression in alfalfa cell cultures. **The Plant Journal**, v. 43, p. 849–860, 2005.

PULLMAN, G.S.; JOHNSON, S.; PETER, G.; CAIRNEY, J.; XU, N. Improving loblolly pine somatic embryo maturation: comparison of somatic and zygotic embryo morphology, germination, and gene expression. **Plant Cell Report**, v. 21, p.747-758, 2003.

QUIROZ-FIGUEROA, F.R.; ROJAS-HERRERA, F.; GALAZ-AVALOS, R.M.; LOYOLA-VARGAS, V.M. Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 86, p.285–301, 2006.

REINERT, J. Morphogenese und ihre kontrolle an geweberkulturen aus karotten. **Naturwissenschaften**, v. 45, p. 344-345, 1958.

SANTA-CATARINA, C.; HANAI, L.R.; DORNELAS, M.C.; VIANA, A.M.; FLOH, E.I.S. SERK gene homolog expression, polyamines and amino acids associated with somatic embryogenic competence of *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauraceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 79, p.53-61, 2004.

SANTA-CATARINA, C.; MACIEL, S.C.; PEDROTTI, E.L. Germinação *in vitro* e embriogênese somática a partir de embriões imaturos de canela sassafrás (*Ocotea odorifera* Mez.). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 501-510, 2001.

SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V.; BALBUENA, T.S.; VIANA, A.M.; MARANHÃO, M.E.E.; HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. **Plant Growth Regulation**, v. 49, p. 237:247, 2006.

SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V.; SCHERER, G.F.E.; FLOH, E.I.S. Polyamine and nitric oxide levels correlate with morphogenetic evolution in somatic embryogenesis of *Ocotea catharinensis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, (aceito para publicação), 2007.

SCHMIDT, E.D.L.; GUZZO, F.; TOONEN, M.A.J.; DE VRIES, S.C. A leucine-rich repeat containing receptor-like kinase marks somatic plant cells competent to form embryos. **Development**, v. 124, p. 2049–2062, 1997.

SHOEB, F.; YADAV, J.S.; BAJAJ, S.; RAJAM, M.V. Polyamines as biomarkers for plant regeneration capacity: improvement of regeneration by modulation of polyamine metabolism in different genotypes of indica rice. **Plant Science**, v. 160, p. 1229-1235, 2001.

SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; TUN, N.N.; SCHERER, G.F.E.; HANDRO, W.; GUERRA, M.P.; FLOH, E.I.S. Polyamine effects on the endogenous polyamine contents, nitric oxide release, growth and differentiation of embryogenic suspension cultures of *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze. **Plant Science**, v. 171, p. 91-98, 2006.

SILVEIRA, V.; BALBUENA, T.S.; SANTA-CATARINA, C.; FLOH, E.I.S.; GUERRA, M.P.; HANDRO, W. Biochemical changes during zygotic embryogenesis in *Pinus taeda* L. **Plant Growth Regulation**, v. 44, n. 2, p.147-156, 2004a.

SILVEIRA, V.; FLOH, E.I.S.; HANDRO, W.; GUERRA, M.P. Effect of plant growth regulators on the cellular growth and levels of intracellular protein, starch and polyamines in embryogenic



suspension cultures of *Pinus taeda*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 76, p. 53-60, 2004b.

SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; BALBUENA, T.S.; MORAES, F.M.S.; RICART, C.A.O.; SOUSA, M.V.; GUERRA, M.P.; HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. Endogenous abscisic acid levels and comparative proteome during seed development of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Biologia Plantarum**, (no prelo), 2007.

SOMLEVA, M.N.; SCMIDT, E.D.L.; DE VRIES, S.C. Embryogenic cells in *Dactylis glomerata* L. (Poaceae) explants identified by cell tracking and by *SERK* expression. **Plant Cell Report**, v. 19, p. 718-726, 2000.

STASOLLA, C.; YEUNG, E.C. Recent advances in conifer somatic embryogenesis: improving somatic embryo quality. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 74, p. 15-35, 2003.

STEINER, N.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V.; FLOH, E.I.S.; GUERRA, M.P. Polyamine effects on growth and endogenous hormones levels in *Araucaria angustifolia* embryogenic cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 89, p. 55-62, 2007.

STEWART, F.C.; MAPES, M.O.; MEARS, K. Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures from freely suspended cells. **American Journal of Botany**, v. 45, p. 705-708, 1958.

TAKEDA, T.; HAYAKAWA, F.; OE, K.; MATSUOKA, K. Effect of exogenous polyamines on embryogenic carrot cells. **Biochemical Engineering Journal**, v. 12, p. 21-28, 2002.

TAUTORUS, T.E.; FOWKE, L.C.; DUNSTAN, D.I. Somatic embryogenesis in conifers, **Canadian Journal of Botany**, v. 69, p. 1873-1899, 1991.

TUN, N.N.; SANTA-CATARINA, C.; BEGUM, T.; SILVEIRA, V.; HANDRO, W.; FLOH, E.I.S.; SCHERER, G.F.E. Polyamine induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) release in *Arabidopsis* seedlings. **Plant and Cell Physiology**, v. 47, n. 3, p. 346-354, 2006.

WILLEMSSEN, V.; SCHERES, B. Mechanisms of pattern formation in plant embryogenesis. **Annals Review Genetics**, v. 38, p. 587-614, 2004.

WINKELMANN, T.; HEINTZ, D.; VAN DORSSELAER, A.; SEREK, M.; BRAUN, H.P. Proteomic analyses of somatic and zygotic embryos and endosperm tissue of *cyclamen persicum* - ISHS Acta Horticulturae 714: **XXII International Eucarpia Symposium**, Section Ornamentals, Breeding for Beauty, 2006.

ZIMMERMAN, J.L. Somatic embryogenesis: A model for early development in higher plants. **The Plant Cell**, v. 5, p. 1411-1423, 1993.

PALAVRAS CHAVES:

Marcadores moleculares, morfogênese, biotecnologia.

## Proteômica comparativa aplicada à cultura de tecidos de plantas.

Dias, Leonardo L. C.<sup>1</sup>; Floh, Eny I. S.<sup>1</sup>; Santa-Catarina, Claudete<sup>1</sup>; Silveira, Vanildo<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Celular de Plantas (BIOCEL), Departamento de Botânica, Instituto de Biociências/USP. São Paulo-SP; <sup>2</sup>Laboratório de Biotecnologia (LBT), Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB), Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Avenida Alberto Lamego, 2000. Parque Califórnia. CEP 28013-602. Campos dos Goytacazes-RJ. E-mail: [vanildo@uenf.br](mailto:vanildo@uenf.br).

### INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas os códigos genéticos de diversos organismos foram completamente seqüenciados, representando um importante avanço do conhecimento na área genômica. No contexto das “ômicas” grande ênfase tem-se dado para a genômica funcional, que visa a identificação da seqüência e função dos genes e proteínas através de estudos do transcriptoma e proteoma dos organismos vivos (Figura 1).

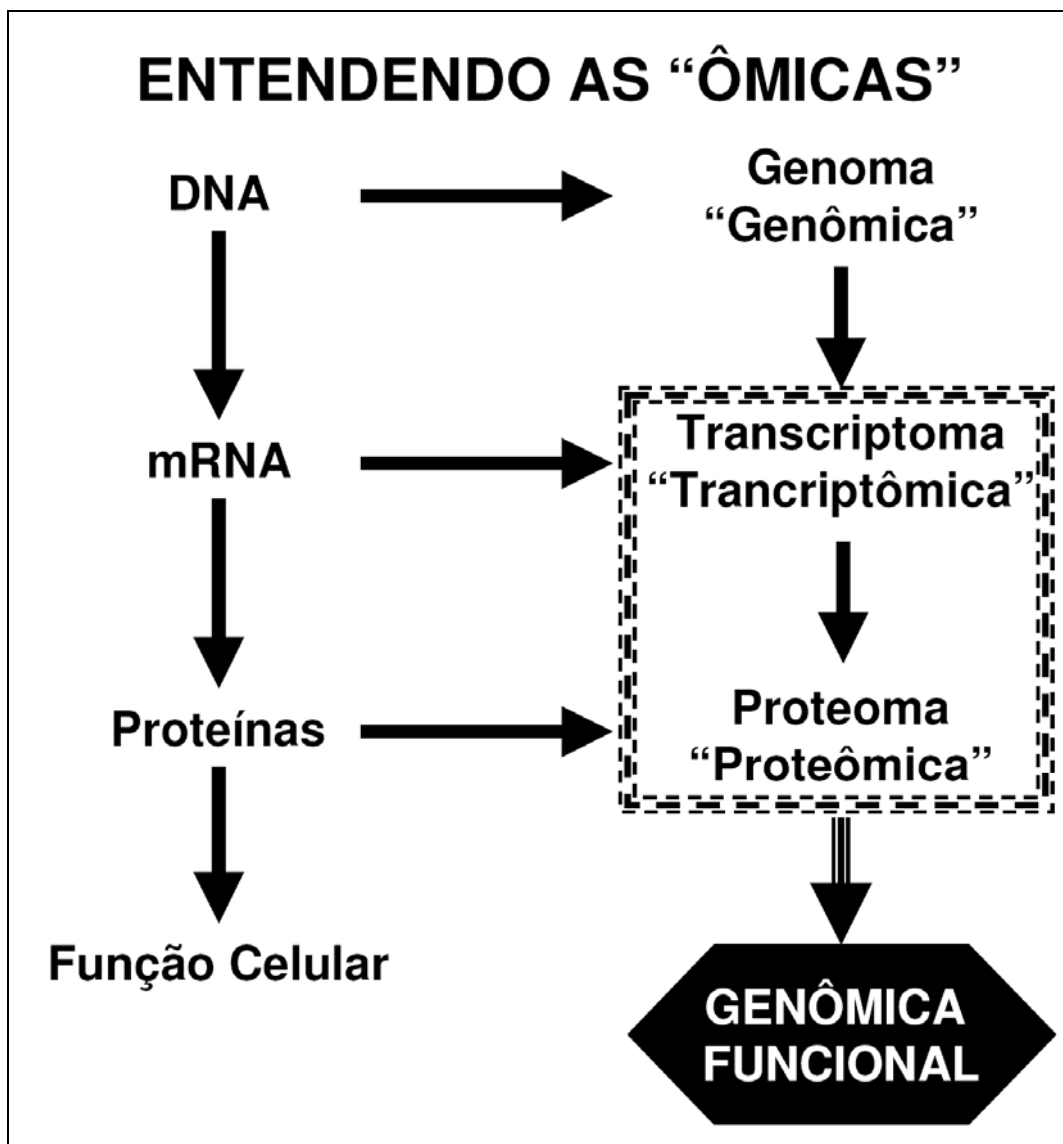


Figura 1. Organograma dos estudos das “ÔMICAS” nos organismos vivos. A genômica funcional refere-se aos estudos do transcriptoma e proteoma.

Embora a proteômica tenha ganhado destaque nos últimos anos, o termo Proteoma é relativamente novo e refere-se ao conjunto de proteínas expressas pelo genoma de um organismo num dado momento ou condição (Wasinger et al., 1995). Neste contexto, a proteômica é a ciência que estuda sistematicamente um proteoma (Park, 2004), permitindo avaliações quantitativas e qualitativas de proteínas que atuam no metabolismo celular (Chen & Harmon, 2006). Conseqüentemente, a identificação de proteínas expressas diferencialmente permite a associação destes polipeptídeos com diferentes eventos fisiológicos que ocorrem nas células, tecidos e órgãos (Korkumat et al., 2006).

A proteômica possui diversas aplicações como: 1) estudo da expressão diferencial de proteínas, que pode fornecer importantes informações sobre a sinalização celular e desenvolvimento dos organismos; 2) estudo de modificações pós-traducionais; 3) estudos de interação proteínas-proteínas e suas possíveis aplicações no desenvolvimento de mecanismos de defesa; 4) estudo da proteômica estrutural que visa o estudo da composição protéica de organelas e membranas; 5) estudo da função das proteínas através da proteômica funcional e; 6) proteômica computacional, que visa estudos de modelagem e dinâmica das proteínas (Figura 2).

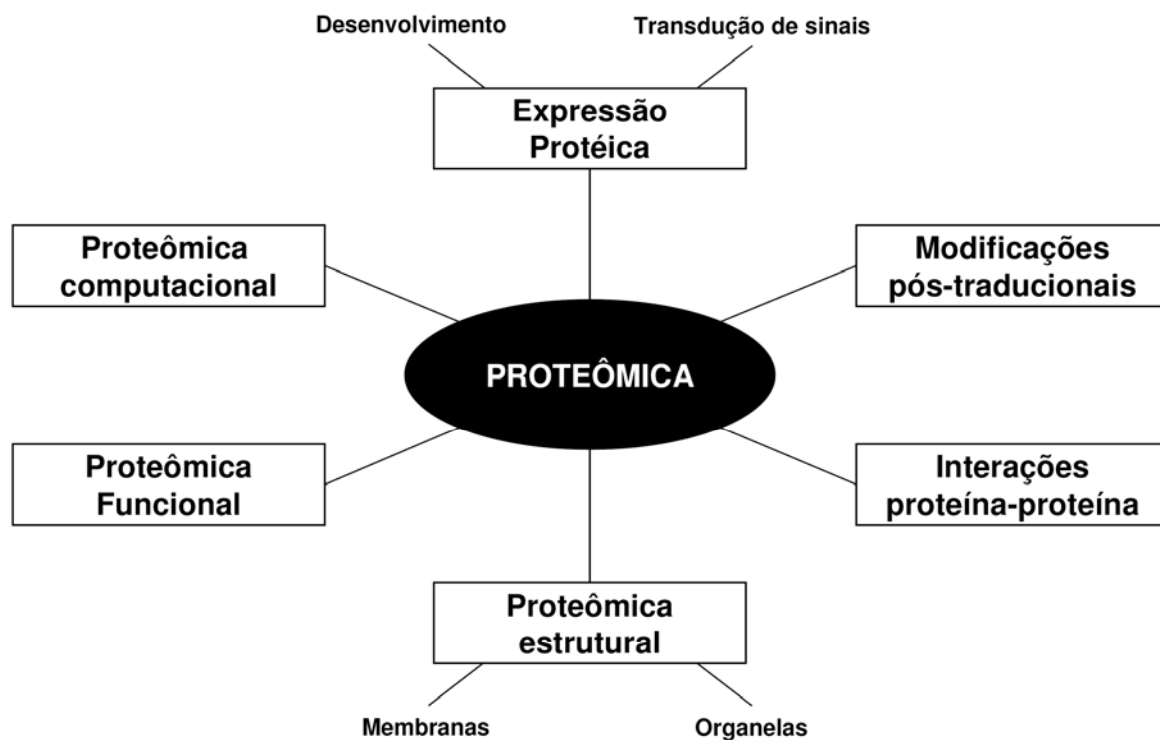


Figura 2. Tipos e aplicações de estudos em proteômica em diferentes sistemas biológicos.

A dinâmica de proteínas em um sistema vivo é influenciada por diversos fatores internos e externos que determinam modificações estruturais e a conformação das proteínas. Neste sentido, o estudo e caracterização de mapas proteômicos apresentam-se como uma importante ferramenta complementar aos estudos de genômica. A análise proteômica oferece a oportunidade de examinar simultaneamente alterações e classificar padrões temporais de acúmulo de proteínas que ocorrem durante o desenvolvimento da semente, possibilitando a identificação de proteínas marcadoras estágio específicas (Dias et al., 2007; Silveira et al., 2007). Nos últimos anos vários estudos têm focado a caracterização da dinâmica de proteínas ao longo do desenvolvimento vegetal, associada à caracterização do genoma e transcriptoma (Roberts, 2002; Heazlewood & Millar, 2003; Chen & Harmon, 2006; Rossignol et al., 2006).

Avaliações da expressão gênica em nível do transcriptoma fornecem informações importantes sobre carga genética transcrita de um organismo em um determinado estado, entretanto, ela não reflete diretamente a expressão das proteínas deste organismo (Chen & Harmon, 2006). Vários mecanismos estão envolvidos no controle da síntese protéica, mecanismos estes que atuam desde a transcrição do gene até a obtenção da proteína na forma ativa (Figura 3). Durante a síntese protéica podem ocorrer modificações pós-transcricionais e pós-traducionais alterando conformação espacial de proteínas e gerar diferentes classes protéicas, as quais bioquimicamente e estruturalmente que podem desempenhar diferentes funções nas vias metabólicas e na composição do proteoma do organismo.

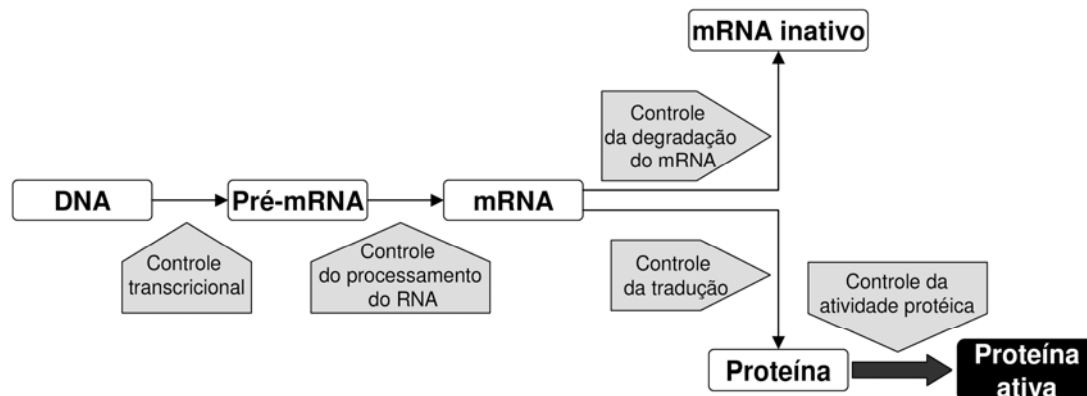


Figura 3. Mecanismos de controle que atuam na síntese protéica. Estes mecanismos fazem com que um único gene dê origem a múltiplas proteínas com conformações e funções distintas.

## PROTEÔMICA EM PLANTAS

Os estudos proteômicos em plantas foram iniciados com milho (Touzet et al., 1996) e *Arabidopsis thaliana* (Shanoun et al., 2000). De acordo com os trabalhos iniciais, as análises proteômicas em plantas foram divididas em duas categorias: 1) estudo do proteoma específico de determinados órgãos ou tecidos e conseqüente elaboração de mapas proteômicos de referência e; 2) análise proteômica comparativa de diferentes proteomas (Rose et al., 2004). Este último ainda pode ser dividido de acordo com o objetivo do estudo em: 1) avaliação entre diferentes genótipos; 2) avaliação da influência da aplicação de sinais no metabolismo vegetal, como por exemplo a adição ou supressão de reguladores de crescimento e; 3) comparação entre diferentes tecidos e/ou estádios de desenvolvimento vegetal.

Atualmente, uma das maiores dificuldades da proteômica vegetal é a capacidade de identificação de proteínas de espécies, cujos genomas ainda não foram seqüenciados. A identificação e caracterização de proteínas são aceleradas pela disponibilidade de seqüências genômicas e de seqüências expressas (EST, Expressed Sequence Tags). Para contornar os problemas de falta de seqüências genômicas, duas são as alternativas possíveis: 1) através de seqüências ESTs disponíveis, as proteínas podem ser identificadas por seqüências de peptídeos obtidas por MS/MS, mas é altamente dependente do tamanho e qualidade dos bancos de dados de ESTs e; 2) outro caminho seria realizar buscas baseadas na homologia com proteínas de outras espécies vegetais, preferencialmente usando-se seqüências obtidas de MS/MS ou seqüenciamento de Edman.

Em geral, a maioria absoluta dos trabalhos em proteômica comparativa em plantas utilizam a interface que consiste principalmente na separação das proteínas através de eletroforese bidimensional (2-DE) em gel de poliacrilamida (2D-PAGE) com posterior identificação da proteína por espectrometria de massas (MS/MS)(Figura 4).

A 2-DE é um poderoso e amplo método de análise de misturas complexas de proteínas extraídas de células, tecidos e outros materiais biológicos. A 2-DE separa as proteínas em dimensões distintas, em que na primeira dimensão as proteínas são separadas de acordo com seus pontos isoelétricos ( $pI$ ) e na segunda dimensão estas são separadas de acordo com suas massas moleculares. Mesmo com as limitações inerentes da técnica, em estudos de proteômica comparativa em que o objetivo é identificar diferenças quantitativas e qualitativas entre amostras de proteínas, a 2-DE é normalmente o método de escolha, e gera dados em um formato que possibilita uma fácil avaliação visual e fornece comparação físico-químicos e quantitativos (Cánovas et al., 2004).

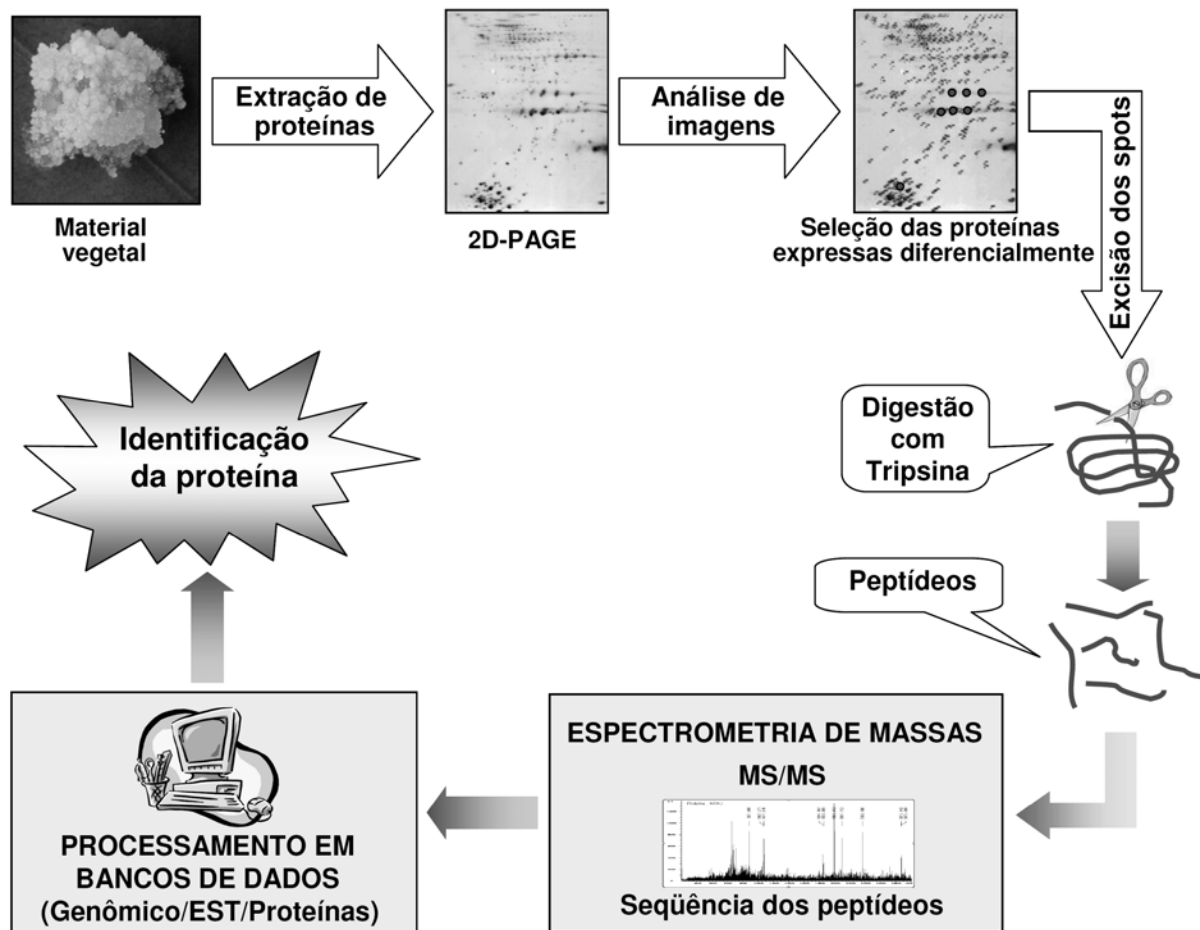


Figura 4. Etapas da análise proteômica em plantas, usando a interface eletroforese bidimensional (2D-PAGE) e espectrometria de massas MS/MS.

Atualmente a 2-DE tem sido amplamente utilizada em resultado de inúmeros avanços nas metodologias. O uso de gradientes imobilizados de pH (IPG) na isofocalização e a otimização no processo de aplicação das amostras têm permitido a utilização de quantidades cada vez menores de proteínas (Cánovas et al., 2004).

Em plantas o preparo da amostra também merece preocupação e trata-se de uma etapa crítica e absolutamente essencial para a obtenção de bons resultados. Neste sentido, especial atenção deve ser destinada ao preparo inicial da amostra, em que diferentes métodos de extração podem ser testados e utilizados para isolar e fracionar as proteínas dos materiais vegetais (Carpentier et al., 2005; Natarajan et al., 2005)

Os tecidos vegetais possuem grande quantidade de água e baixa relação proteína/matéria fresca, além de possuir substâncias que interferem na análise protéica,

como compostos fenólicos, enzimas proteolíticas e oxidativas, terpenóides, pigmentos, ácidos orgânicos, íons inibitórios e carboidratos. Após a extração, geralmente as proteínas são precipitadas em soluções salinas, tamponantes e/ou solventes orgânicos, visando a eliminação da maioria dos interferentes (Carpentier et al., 2005).

A seleção da solução extratora ideal, aquela que solubiliza a maior quantidade de proteínas, depende de cada espécie, tecido e das proteínas de interesse. As diferentes soluções extratoras possuem afinidades com classes específicas de proteínas, o que permite uma extração diferencial de acordo com o método utilizado (Carpentier et al., 2005). Os métodos mais utilizados para extração de proteínas totais em células e tecidos vegetais utilizam soluções caotrópicas, geralmente a base de uréia e tiouréia ou diretamente com ácido tricloroacético (TCA)/Acetona (Carpentier et al., 2005; Natarajan et al., 2005; Saravanan & Rose, 2004) seguido de pelo menos um método de precipitação para a concentração das proteínas e a eliminação dos interferentes (Carpentier et al., 2005).

## PROTEÔMICA COMPARATIVA E CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS

O uso da biotecnologia em muitas espécies vegetais depende de protocolos de regeneração *in vitro* a partir da cultura de células e/ou de tecidos de plantas. No sentido de viabilizar a cultura de tecidos de plantas, a proteômica comparativa apresenta-se como uma importante ferramenta no estudo e controle dos processos morfogenéticos *in vitro*.

O uso de proteínas como marcadores para o monitoramento e compreensão de diferentes fases do desenvolvimento da planta *in vitro*, seja via organogênese ou embriogênese somática, apresenta-se como uma das principais alternativas para a otimização destes processos *in vitro*.

Na cultura de tecidos vegetais, os estudos proteômicos comparativos vem sendo utilizados principalmente no sistema de embriogênese somática. Neste contexto, padrões protéicos vêm sendo utilizados como marcadores da competência das culturas embriogênicas, onde são observadas diferenças significativas nos perfis protéicos de tecidos embriogênicos e não embriogênicos (Kormutak & Vookova, 1997; Moraes et al., 2006).

Na embriogênese somática uma melhor compreensão dos fatores associados a embriogênese em plantas também pode ser obtida na interface entre os modelos de embriogênese somática e embriogênese zigótica (Silveira et al., 2007). Durante o desenvolvimento embrionário, a deposição de substâncias de reserva é um processo chave, fornecendo os compostos que serão usados desde os estádios iniciais do desenvolvimento até a autotrofia, após a germinação (Merkle et al., 1995).

As proteínas estão entre as principais substâncias de reserva acumuladas durante o desenvolvimento embrionário (Bewley & Black, 1994). Na embriogênese zigótica, o aumento no conteúdo de proteína ocorre como resultado da síntese de proteínas de reserva e proteínas LEA ("late embryogenesis abundant"). As proteínas LEA têm grande afinidade com as moléculas de água, atuando na proteção à desidratação da semente (Bewley & Black, 1994). As proteínas de reserva são utilizadas como fonte de nitrogênio no desenvolvimento e germinação do embrião, sendo divididas em quatro classes de acordo com a sua solubilidade: (a) albuminas, solúveis em água ou em tampão de pH neutro, (b) globulinas, solúveis em soluções salinas e insolúveis em água, (c) glutelinas, solúveis em ácido diluído ou em soluções alcalinas e (d) prolaminas, solúveis em álcoois (Shewry *et al.*, 1995).

Em *Helianthus annuus*, as deidrinas e outros dois grupos de LEA, além de outras proteínas de baixo peso molecular, foram identificadas durante a dormência dos embriões (Garello et al., 2000). Campalans et al. (2000) estudando os eventos moleculares envolvidos na aquisição de tolerância à desidratação, observou a indução de novos polipeptídeos durante a desidratação de embriões de *Prunus amygdalus*. Como resposta à ação do ABA e do estresse osmótico que ocorre no embrião maduro, foram identificadas as proteínas tipo

deidrinas, LEA e outras (Campalans et al., 2000), que têm sido utilizadas como marcadores das diferentes fases desses processos (Garello *et al.*, 2000).

Finalmente, a proteômica comparativa aplicada a cultura de tecidos de plantas apresenta um grande potencial de aplicação para controle, viabilização e otimização dos processos morfogênicos *in vitro*. A identificação de proteínas diferencialmente expressas durante o desenvolvimento vegetal configura-se como um potente marcador molecular do metabolismo em plantas, podendo fornecer informações importantes sobre a competência e grau de evolução da morfogênese *in vitro*. Estudos em proteômica comparativa são essenciais e complementares aos estudos de Bioquímica e Biologia Celular, Morfologia e Fisiologia Vegetal que tradicionalmente são realizados para monitoramento e otimização dos protocolos de cultura de tecidos de plantas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**, 2. ed. New York:Plenum Press, 1994.p. 445.

CAMPALANS, A.; PAGÈS, M.; MESSEGUER, R. Protein analysis during almond embryo development. Identification and characterization of a late embryogenesis abundant protein. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 449-457, 2000.

CÁNOVAS, F.M.; DUMAS-GAUDOT, E.; RECORBET, G.; JORRIN, J.; MOCK, H.P.; ROSSIGNOL, M. Plant proteome analysis. **Proteomics**, v. 4, p. 285-298, 2004.

CARPENTIER, S.C.; WITTERS, E.; LAUKENS, K.; DECKERS, P.; SWENNEN, R.; PANIS, B. Preparation of protein extracts from recalcitrant plant tissues: An evaluation of different methods for two-dimensional gel electrophoresis analysis. **Proteomics**, v. 5, p. 2497-2507, 2005.

CHEN, S.; HARMON, A.C. Advances in plant proteomics. **Proteomics**, v. 6, p. 5504-5516, 2006.

DIAS, L.L.C.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; BALBUENA, T.S.; FLOH, E.I.S. Comparative analysis of the two-dimensional gel electrophoresis patterns during seed development in *Ocotea catharinensis*. **Proteomics**, (submetido). 2007.

GARELLO, G.; BARTHE, P.; BONELLI, M.; BIANCO-TRINCHANT, J.; BIANCO, J.; PAGE-DEGIVRY, M.L. Abscisic acid-regulated responses of dormant and non-dormant embryos of *Helianthus annuus*: role of ABA-inducible proteins. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 473-482, 2000.

HEAZLEWOOD, J.L.; MILLAR, A.H. Integrated plant proteomics – putting green genomes to work. **Functional Plant Biology**, v 30, p. 471-482, 2003.

KORMUTÁK, A.; SALAJ, T.; VOOKOVÁ, B. Storage protein dynamics in zygotic and somatic embryos of white fir. **Biologia Bratislava**, v. 61, p. 479-485, 2006.

KORMUTÁK, A.; VOOKOVÁ, B. Biochemical variation between non-embryogenic and embryogenic calli of silver fir. **Biologia Plantarum**, v. 39, p.125-130, 1997.

MERKLE, S.A.; PARROTT, W.A.; FLINN, B.S. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: THORPE, T.A. (Ed.) **In vitro embryogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 155-203.

MORAES, F. M. DE S.; SOUSA, M. V.; SANTA-CATARINA, C.; FLOH, E.I.S.; RICART, C. A. O. Two-dimensional electrophoresis analysis of *Ocotea catharinensis* during somatic embryogenesis and embryogenic competence acquisition. In: XXXV Reunião Anual da SBBq. Águas de Lindóia. **Anais da...** v. 1, p. W-19, 2006.

NATARAJAN, S.; XU, C.; CARPENA, T.J.; GARRETT, W.M. Comparison of protein solubilization methods suitable for proteomic analysis of soybean seed proteins. **Analytical Biochemistry**, v. 342, p. 214-220, 2005.

PARK, O.K. Proteomic Studies in Plants. **J. Bioch. Mol. Biol.**, v. 37, p. 133-138, 2004.

ROBERTS, J.K.M. Proteomics and a future generation of plant molecular biologists. **Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 143-154, 2002.

ROSE, J.K.C.; BASHIR, S.; GIOVANONI, J.J.; JAHN, M.M.; SARAVANAN, R.S. Tackling the plant proteome: practical approaches, hurdles and experimental tools. **The Plant Journal**, v. 39, p. 715-733, 2004.

ROSSIGNOL, M.; PELTIER, JB.; MOCK, H.P.; MATROS, A.; MALDONADO, A.M.; JORRIN, J. Plant proteome analysis: a 2004 – 2006 update. **Proteomics**, v. 6, p. 5529-5548, 2006.

SAHNOUN, I.; DÉHAIS, P.; MONTAGU, M.V.; ROSSIGNOL, M.; ROUZÉ, P. PPMdb: a plant plasma membrane database. **J. Biotechnology**, v. 78, p. 235-246, 2000.

SARAVANAN, R.; ROSE, J.K.C. A critical evaluation of sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of recalcitrant plant tissues. **Proteomics**, v. 4, p. 2522-2532, 2004.

SHEWRY, P.R.; NAPIER, J.A.; TATHAM, A.S. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, p. 945-956, 1995.

SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; BALBUENA, T.S.; MORAES, F.M.S.; RICART, C.A.O.; SOUSA, M.V.; GUERRA, M.P.; HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. Endogenous abscisic acid levels and comparative proteome during seed development of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Biologia Plantarum**, (no prelo), 2007.

TOUZET, P.; RICCARDI, F.; MORIN, C.; DAMERVAL, C.; HUET, J.C.; PERNOLLET, J.C.; ZIVY, D.; DEVIENNE, D. The maize two dimensional gel protein database: towards an integrated genome analysis program. **Theor. App. Genet.**, v. 93, p. 997-1005, 1996.

WASINGER, V.C.; CORDWELL, S.J.; CERPA-POLJAK, A.; YAN, J.X.; GOOLEY, A.A.; WILKINS, M.R.; DUNCAN, M.W.; HARRIS, R.; WILLIAMS, K.W.; HUMPHERY-SMITH, I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. **Electrophoresis**, v. 16, p. 1090-1094, 1995.

PALAVRAS CHAVES:

Proteômica, micropropagação, vegetal.



## **Pós-colheita de Flores e Folhagens: Manutenção da Qualidade.**

Dias-Tagliacozzo, Gláucia Moraes<sup>1</sup>; Mosca, José Luiz<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>IAC – Centro de Engenharia e Automação - Rod. Gabriel Paulino Bueno Couto, km 65 – 13021-970 – Jundiaí, SP - (11) 45828155 – e-mail: glaucia@iac.sp.gov.br; <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical- Rua Dr. Sara Mesquita 2270, Planalto PICI – CEP: 60.511- 110 -Fortaleza - Ce – (85) 3299 18 47 - e-mail:mosca@cnpat.embrapa.br

A expansão da floricultura no mundo pode ser observada, principalmente nos países desenvolvidos, onde o movimento anual no mercado internacional de flores atinge cerca de US\$ 100 bilhões. No Brasil, a floricultura movimenta aproximadamente 30 milhões de dólares por ano e, está em pleno crescimento (Junqueira & Peetz, 2007).

O sucesso da floricultura não depende só do preço, a qualidade, fluxo de produção e oferta do produto. Os padrões de qualidade das flores e plantas ornamentais estabelecidos pelos principais produtores e pelo mercado consumidor têm contribuído cada vez mais para que os revendedores / floristas, exijam produto com altíssimo padrão e qualidade e em perfeito estado de conservação, sem danos, isso quer dizer, sejam visualmente e esteticamente perfeitas e duráveis.

### **PERDAS PÓS-COLHEITA**

Perdas em qualidade e quantidade afetam os produtos hortícolas entre a colheita e o consumo. A magnitude das perdas pós-colheita em flores é estimada entre 5 e 25% para os países desenvolvidos, e de 20 a 50% nos países em desenvolvimento, dependendo do produto. Produtores e manipuladores precisam compreender os fatores biológicos e ambientais envolvidos na deterioração sabendo empregar técnicas pós-colheita adequadas para retardar a senescência e manter a qualidade necessária. A redução das perdas, sem dúvida, é mais viável economicamente, do que aumentar a produção.

### **CONDIÇÕES DE PRÉ-COLHEITA**

Para cada cultivar existe uma qualidade mínima que tem de ser alcançada, a qual é determinada geneticamente. No entanto as práticas de cultivo podem aumentar esse mínimo e conseqüentemente o que ocorre na pré-colheita vai influenciar na pós-colheita.

Durante o cultivo a nutrição mineral balanceada é importante, não devendo ocorrer nem o excesso, nem a deficiência dos principais nutrientes. No cultivo de crisântemo, por exemplo, a falta de nitrogênio nos estágios iniciais inibe o desenvolvimento e ocorre a produção de plantas muito baixas, já o excesso promove a abscisão das gemas florais (Hell & Hendriks, 1995).

A irrigação adequada também é necessária, existem plantas que não podem passar por déficit hídrico em nenhuma fase do desenvolvimento, outras têm seu suprimento de água reduzido um pouco antes da colheita, com a finalidade de pré-condicionar as hastes florais às condições da fase pós-colheita.

Fatores ambientais como temperatura e luz também influenciam na qualidade final do produto. Principalmente em cultivo protegido, as diferenças entre as temperaturas do dia e da noite devem ser observadas e afetam o crescimento das plantas, sendo necessário que o diferencial de temperatura dia noite esteja sincronizado com o ciclo luz-escuro (Wachowicz, 1992)

Hastes florais mais firmes, maior número de botões florais e menor abortamento de flores são observados em rosas, quando cultivadas em condições de alta intensidade luminosa. No entanto, o fornecimento de 24 horas de luz a plantas de rosa promoveu alteração no mecanismo estomático e as taxas de transpiração aumentaram, tornando-as muito mais sensíveis às condições de estresse hídrico na fase após a colheita (Slootweg & Meeter, 1991).

## FATORES DE COLHEITA

Colheita é o ato de separar o produto (flor e folhagem) do seu meio de cultivo. As flores devem ser colhidas preferencialmente nas primeiras horas da manhã, a temperatura é mais baixa e as plantas apresentam maior teor de água e o resto do dia fica reservado para o manuseio das mesmas. A colheita é feita manualmente usando-se instrumento afiado (faca, tesoura).

### Ponto de colheita

A definição do ponto de colheita é fundamental para a máxima manutenção da qualidade e é dependente da espécie em estudo. Colheitas precoces condicionam perdas e colheitas tardias também comprometem a manutenção da qualidade do produto por longo período e, em ambos os casos a durabilidade é reduzida. Na maioria das vezes, quando o ponto de colheita não é o ideal, o produto comercializado apresenta vida curta, gerando insatisfação no consumidor. Portanto o ponto de colheita ideal é quando as flores são cortadas antes do seu pleno desenvolvimento, mas se têm assegurado total abertura da flor e manutenção da qualidade.

Dias-Tagliacozzo et al. (2003a) estudando pós-colheita de hastes florais de agapanto colhidas em três estádios de desenvolvimento verificaram que hastes colhidas com dois ou três botões abertos (estádio 3) apresentam maior número de botões abertos e longevidade superior quando comparado ao das hastes colhidas com botões totalmente fechados. Entretanto, hastes florais de *Strelitzia reginae* apresentam maior longevidade quando são colhidas com os botões totalmente fechados, em comparação com as colhidas com o primeiro florete começando a abrir (Dias-Tagliacozzo et al., 2003b).

É importante salientar que cada cultivar possui características próprias que devem ser analisadas e consideradas separadamente para se obter produtos com alta qualidade e longevidade na pós-colheita.

No Brasil o antúrio é colhido quando metade ou três quartos da espádice apresenta alteração de coloração (Dias-Tagliacozzo, 2004). Em alguns países os produtores colhem os antúrios com 4/5 da espádice com flores maduras, já os produtores do Havaí colhem a haste quando 3/4 das flores sobre a espádice estão abertas (Reid & Dodge, 2001), no entanto para exportação esses mesmos produtores utilizam hastes florais com 1/3 da espádice com flores abertas (Paull, 1982). Mostrando que o ponto de colheita também é influenciado pela distância do mercado e preferência do consumidor.

## FATORES PÓS- COLHEITA

### Relações hídricas

A turgescência nas plantas intactas e flores colhidas é dependente de um balanço entre a utilização ou perda e o fornecimento de água. Se a flor colhida não abrir ou murchar rapidamente significa o fim da vida útil do produto comercial.

O balanço hídrico envolve processos fisiológicos de absorção, transporte, perda de água e capacidade dos tecidos de retê-la, aliado a isto, todos estes processos estão inter-relacionados e afetam diretamente a turgescência da flor ou folhagem de corte.

Fitormônios que promovem a senescência das hastes cortadas

Senescência é a fase final do desenvolvimento da flor ou folhagem e está relacionada com processos que conduzem à desorganização celular. Esta fase pode ser espontânea, processo natural do desenvolvimento das plantas, ou desencadeada por agentes externos como o corte da haste ou substâncias como o etileno.

O etileno, hidrocarboneto gasoso, tem efeitos marcantes sobre a indução da senescência, abscisão e murchamento das flores, em especial sobre flores que possuem alguma sensibilidade a ação deste hormônio. Visto que, as flores podem ser agrupadas em muito sensíveis (p.ex. cravo, orquídeas, lírio), pouco sensíveis (p.ex. antúrio, gérbera, tulipas) e insensíveis ao etileno (p.ex. rosas, gladiolos, ave do paraíso) (Dias-Tagliacozzo et al., 2005a).

A produção de etileno por tecidos vegetais abrange três fases distintas: a fase inicial, onde se verifica uma baixa e fixa taxa de produção, a fase intermediária quando ocorre elevação acelerada na produção com máxima liberação e a fase final onde se constata um declínio na produção (Halevy & Mayak, 1981).

A maioria dos efeitos causados por etileno é devido ao aumento de enzimas de degradação, o tipo de enzima é dependente do tecido alvo. Por exemplo, quando o etileno estimula abscisão foliar, celulase e outras enzimas que degradam a parede celular são produzidas, do mesmo modo quando ocorre senescência da flor, várias enzimas são ativadas ou sintetizadas (Salisbury & Ross, 1992).

Sabe-se que o próprio etileno estimula sua síntese, no entanto essa estimulação funciona melhor nos tecidos mais velhos. Isso ocorre porque, a síntese, além da presença do etileno, é dependente de outros fatores. Por exemplo, nos tecidos mais jovens as enzimas de síntese desse hormônio são deficientes. Aliado a isso, a metionina, precursora da síntese de etileno, pode ser correlacionada com a idade da planta; ou seja, plantas mais velhas possuem quantidades maiores desta substância (Halevy & Mayak, 1981)

Fitormônios que retardam a senescência das hastes cortadas

A maioria dos produtos utilizados para prolongar a vida das flores possui fitormônios. O mais utilizado e estudado é o ácido giberélico, este além de ter importante papel no controle do crescimento e desenvolvimento de plantas, contribui para retardar o amarelecimento das folhas de hastes florais cortadas (Jordi, 1995; Song et al., 1996). Estudos realizados com *Alstroemeria* revelaram que aplicações de giberelina efetivamente retardam a senescência foliar (Kapppers et al., 1997). Trabalhos recentes corroboram com esta hipótese e a adição de 50 ppm de GA à solução de pulsing retardou a senescência foliar em lírio e áster (Dias-Tagliacozzo et al., 2003c; Dias-Tagliacozzo & Castro, 2001).

Outro fitormônio com crescente utilização é a citocinina. As aplicações de citocinina não inibem totalmente o processo de senescência, mas consegue retardá-lo através da inibição da expressão de determinados genes envolvidos no referido processo (Taiz, 2002b). Paull & Chantrachit (2001), verificaram que o efeito da citocinina em hastes florais apresenta variações de resposta e essa é dependente da espécie, da época do ano em que ocorre a colheita e do cultivar em estudo. Dias-Tagliacozzo et al. (2003 d) estudando flores de alpinia também verificaram o efeito desse fitormônio, pulverização de 200 ppm de citocininas prolongou a vida de vaso dessa flor, e o uso de citocinina

associado à sacarose teve efeito sinérgico, aumentando a longevidade das hastes florais quando comparado com o tratamento que utilizou somente citocinina.

Segundo Castro (1984a), em 1973 os pesquisadores Frenkel & DicK sugeriram que as auxinas poderiam atuar como fator de resistência à senescência de flores cortadas. Sabe-se que o nível de auxina é baixo em folhas em processo de senescência e que o uso de auxina previne a abscisão foliar (Taiz, 2002c). No entanto o envolvimento das auxinas no controle da senescência floral não está totalmente esclarecido.

O ácido abscísico (ABA) tem um papel importante na regulação das relações hídricas da planta, pois este tem efeito direto no processo de abertura estomática. Plantas de crisântemo envasadas tratadas com ABA reduzem drasticamente a abertura estomática e conseqüentemente a perda de água e tem sua longevidade aumentada quando comparadas com plantas tratadas somente com água; similar resultado do efeito do ABA na abertura estomática foi obtido com rosas cortadas, no entanto neste caso o ABA acelerou a senescência da flor (Serek & Reid, 1997).

### Pragas e moléstias

A qualidade da flor pode ser afetada pela presença de fungos, bactérias e insetos

O fungo mais comum na pós-colheita é o *Botrytis spp.* O número de esporos presentes no ar e na casa de vegetação é depende da umidade do ar e da quantidade de material senescendo no local; existe uma relação direta entre a densidade de esporos na casa de vegetação e a infecção durante a fase de pós-colheita (Kerssien, 1994 apud Noordegraf, 1999)

Para evitar os danos causados por *Botrytis spp.* Noordegraf (1999) sugere: a) remoção das plantas e tecidos mortos, visando reduzir o número de esporos, b) utilização de culturas resistentes, c) no estágio de pós-colheita evitar a condensação, d) utilização de controle químico ou biológico.

A presença de bactérias pode causar oclusões em hastes florais cortadas (Durkin & Prut, 1995). Recomenda-se limpezas regulares com detergentes que contenham germicidas, nas prateleiras, recipientes e câmaras de armazenamento, visando o controle de microrganismos. Esse procedimento simples pode evitar murchas prematuras e contribuir para a manutenção da qualidade da flor.

Os insetos que podem ser encontrados em flores cortadas são ácaros e afídeos. O material contaminado deve ser descartado, pois as lesões nos tecidos, causadas pelos insetos, facilitam a entrada de outros patógenos.

### TÉCNICAS UTILIZADAS EM PÓS-COLHEITA DE ORNAMENTAIS

Todo o esforço despendido no cultivo das plantas pode ser perdido quando não damos à devida atenção às etapas de colheita, manejo e armazenamento do produto.

Em ornamentais o produto pode ser as diferentes partes da planta. A mais conhecida e utilizada é a **flor** (p.ex. rosas, cravos, gladiolos), muitas vezes se chama de flor o conjunto de **brácteas** onde se localizam as inflorescências e são estas as mais utilizadas nos arranjos tropicais (p.ex helicônias, alpinias, gengibre ornamental). São muito utilizados também em arranjos as **folhas** (p.ex. palmeiras, dracenas, marantas), os **frutos** (p.ex. abacaxi ornamental, urucum, jambo) e até **caules**, como é o caso do *Costus stenophyllus* (*Costus cobra*). Portanto, todas as operações pós-colheita podem ser modificadas de acordo com o produto utilizado.

#### *Manuseio, seleção e embalagem*

As espécies ornamentais devem ser cuidadosamente manuseadas, evitando danos mecânicos e mantendo deste modo a qualidade inicial, principalmente as flores cortadas se constituem em produto altamente perecível. O manuseio incorreto pode danificar, amassar e causar manchas escuras no produto comercial.

Os cuidados higiene devem começar com a tesoura de poda e seguir em todas as etapas da pós-colheita, recomenda-se limpezas regulares com detergentes que contenham germicidas, nas prateleiras, recipientes e câmaras de armazenamento, visando o controle de microrganismos. Esse procedimento pode evitar murchas prematuras e contribuir para a manutenção da qualidade da flor.

Todo material danificado ou com problemas fitossanitários devem ser descartado durante a fase de seleção (Silveira, 1998), pois flores, frutos e folhagens infectadas podem contaminar seus pares que serão armazenadas. Somente produtos com alta qualidade devem ser armazenados.

O processo de embalar as flores de corte deve ocorrer antes do armazenamento. As embalagens têm a função de minimizar os danos mecânicos e/ou perda de água pelas flores durante o armazenamento e transporte.

As hastes florais devem ser amarradas, mas não de modo excessivo para não favorecer crescimento de microrganismos e retardar o resfriamento. O tamanho do feixe é determinado pelos hábitos de consumo e não variam muito entre os diferentes mercados. Quando estocadas muito apertadas em prateleiras, as rosas apresentam abertura dos botões mais rapidamente, comprometendo o tempo de vida no vaso (Pinto, 1996).

A embalagem a ser utilizada depende do tipo de estocagem, do meio de transporte e principalmente da espécie que está sendo acondicionada, sendo que a maioria dos produtores utilizam papel, papel impermeável ou polietileno (Castro, 1984a). No entanto a tendência mundial é acondicionar as flores de cortes mais vulneráveis em caixas. Segundo Reid (1992), as caixas são projetadas para minimizar os danos durante o transporte e normalmente são longas, planas e rasas. As hastes florais são colocadas em camadas e separadas por folhas de papel ou jornal, para evitar que o contato danifique uma à outra; o movimento longitudinal das hastes também deve ser evitado.

O filme micro-perfurado é uma alternativa de embalagem que está sendo estudada para se encontrar um grau limite de troca de gás; através de pequenas perfurações existentes nos mesmos cria-se uma atmosfera modificada (Pinto, 1997).

O que provoca a depreciação do produto são os sinais de senescência que surgem após o corte, evidenciados pela murcha, perda de brilho e mudança de coloração principalmente das flores e folhagens. Portanto muitas vezes antes do produto ser embalado, principalmente flores de corte, é necessário o uso de soluções conservantes para retardar ao máximo o aparecimento destes sinais.

#### *Soluções conservantes para a manutenção da qualidade*

O uso de soluções conservantes para manter a qualidade e prolongar a vida das flores cortadas evoluiu muito nos últimos anos. Essas soluções são mundialmente conhecidas e usadas, suas formulas são constituídas de açúcares, germicidas e em casos específicos ocorrem à adição de outras substâncias químicas.

Os açúcares são muito importantes para a longevidade da haste floral e seu uso em soluções conservantes é uma prática largamente utilizada. De um modo geral a concentração ótima de açúcar varia com o tratamento a ser utilizado e com a espécie a ser conservada; concentrações excessivas podem danificar folhagem e pétalas. Altas concentrações normalmente são utilizadas em soluções de condicionamento, concentrações intermediárias em tratamentos para induzir a abertura floral e baixa concentrações em soluções de manutenção (Castro, 1984a).

A turgescência é necessária para o desenvolvimento de botões florais, até que a completa maturação seja atingida. Também é necessária para a continuidade da atividade metabólica da flor cortada; sobre esse aspecto, a sacarose tem marcante influência, pois favorece o balanço hídrico de flores cortadas.

Dias-Tagliacozzo et al. (2005b) estudando plantas de lírio verificaram que a porcentagem de perda de massa fresca dos tecidos ao longo do tempo é inversamente proporcional a concentração de sacarose. Esses autores observaram que o uso de solução de condicionamento contendo concentração de 4% de sacarose manteve a turgescência dos tecidos de hastes florais de lírio por 10 dias (Dias-Tagliacozzo et al., 2005b).

As soluções nomeadas de 'pulsing' de condicionamento refere-se a diferentes tratamentos pós-colheita de saturação dos tecidos, onde são aplicadas soluções de açúcares, ácidos orgânicos, inibidores da síntese ou ação do etileno e/ou bactericidas, imediatamente após a colheita ou após o armazenamento refrigerado de flores ou folhagens de corte. O tratamento de condicionamento é de curta duração atingindo o máximo de 48 horas. Estas mesmas substâncias também são utilizadas nas soluções de manutenção, que muitas vezes são chamadas de solução de vaso. No entanto nesta última, as substâncias são utilizadas em baixas concentrações, comparadas à de condicionamento. A utilização de preservativos florais em solução de vaso é problemática uma vez que muitos deles possuem substâncias altamente tóxicas, como por exemplo, o íon  $Ag^+$  (Dias-Tagliacozzo et al., 2005a). A tendência mundial é o uso de soluções atóxicas.

Existem ainda, as soluções de abertura e as de recuperação de turgor. A solução de abertura tem a finalidade de manter a absorção da água de modo constante. Contém açúcares, normalmente a sacarose ou a glicose, e quando necessário outras substâncias que impeçam o bloqueio vascular das hastes são adicionadas. As soluções químicas e as condições ambientais recomendadas para a abertura floral são, em muitos casos, semelhantes àquelas usadas para o 'pulsing'. As soluções de recuperação do turgor tem como objetivo a restauração de turgescência floral, os principais componentes são água limpa e germicidas, nesta solução não ocorre a inclusão de açúcares. Em algumas flores a murcha pode ser revertida com a imersão da flor em água pelo período de uma hora (Halevy & Mayak, 1981).

A inclusão de ácidos nas soluções conservantes tem o fundamental papel de abaixar o pH das soluções, soluções conservantes com pH ácido resultam em um aumento da durabilidade de flores cortadas; uma condição fortemente ácida pode inibir a ação de enzimas endógenas, essenciais para o bloqueio das hastes, ou impedir o desenvolvimento de microrganismos em situações onde a flora microbiana não tenha sido excluída (Castro, 1993).

Os danos fisiológicos causados pelo etileno também podem ser reduzidos com o uso de soluções conservantes que contenham compostos que bloqueiam sua síntese ou ação. Existem substâncias como a rizobitoxina e análogos, que inibem a síntese de etileno a partir da metionina; já o íon prata tem sido descrito como inibidor da ação do etileno (Halevy & Mayak, 1981; Reid, 1992). Finger et al. (2001) observaram que o tratamento de flores de *Consolida ajacis*, em solução de 'pulsing', com 1,0 mM de tiosulfato de prata (STS) aplicado isoladamente por 30 min, seguido ou não de tratamento com 5% de sacarose por seis horas, elevou a longevidade das flores em 22 vezes quando comparado com as flores não tratadas.

Além do STS, outras substâncias com habilidade de bloquear a ação do etileno estão sendo utilizadas na preservação de flores. Os inibidores da ação do etileno, 1-metilciclopropeno (1-MCP) e norbordiene (NBD), estendem a vida de vaso de diversas flores de corte. Estas substâncias são candidatas a substituir o STS no tratamento de flores de corte por serem menos tóxicas às plantas e ao ambiente, porém como somente

são efetivas na forma gasosa, há necessidade de se implementar câmaras de acondicionamento especiais para o uso adequado (Dias-Tagliacozzo et al., 2005a)

É importante entender que para as diferentes espécies florais, formulações específicas devem ser desenvolvidas com a finalidade de se manter ao máximo a qualidade das flores após a colheita.

### *Condições de Armazenamento*

O armazenamento é considerado uma das etapas mais importantes para a manutenção do equilíbrio entre o mercado distribuidor e consumidor de flores de corte e este pode ser efetuado a baixas temperaturas e em atmosfera controlada ou modificada (Castro, 1984b).

Existem diferentes tipos de armazenamento, os quais se baseiam na alteração do ambiente. Em geral são manipulados temperatura, umidade, a composição de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e a pressão, isoladamente ou em conjunto.

A temperatura está entre os principais fatores que influenciam a qualidade pós-colheita de flores de corte. A refrigeração é o método mais econômico para o armazenamento por longo período, e os demais métodos, tornam-se mais eficientes quando suplementados com tratamentos de baixas temperaturas (Castro, 1984b). O armazenamento refrigerado proporciona aumento da longevidade pós-colheita, pois reduz a degradação de certas enzimas, taxa de respiração, produção de etileno e a perda de água, além de inibir o crescimento de microorganismos como fungos e bactérias (Novak & Rudnioncki, 1990).

O metabolismo das plantas, o qual está diretamente correlacionado com as taxas de senescência, aumenta logaritmicamente com o aumento da temperatura; generalizando, os processos metabólicos, como a respiração, aumentam duas vezes para cada elevação de temperatura de 10°C (Reid, 1991). Portanto o recomendável é o armazenamento na menor temperatura possível. Plantas de clima temperado podem ser armazenadas a 0-2°C por longos períodos sem causar perda significativa da qualidade; já as tropicais são mais sensíveis ao frio e, portanto devem ser armazenadas em temperaturas acima de 13°C (Reid, 2001). Em flores de estrelízia, plantas de origem subtropical, o armazenamento a 10°C por 7, 14 21 e 28 dias prolongou a conservação das flores armazenadas a seco, porém redução da vida de vaso pós frigorificação com o aumento do período de armazenamento, sendo que nas flores com 28 dias de armazenamento houve manifestação de sintomas de injúria por frio (Moraes et al., 1999).

Flores cortadas, às quais se recomendam temperaturas de 7,5 a 12,5 °C, via de regra não mantém qualidade quando armazenadas em temperaturas mais baixas ou não se desenvolvem satisfatoriamente após a remoção do armazenamento. De modo semelhante flores nas quais a temperatura de armazenamento indicada é -1 a 0 °C, embora se desenvolvam normalmente, deterioram rapidamente se armazenadas a temperaturas mais elevadas iguais ou maiores que 7,5 °C; flutuações de temperatura no interior de câmaras frigoríficas devem ser reduzidas a um mínimo, para evitar prejuízos às flores armazenadas (Castro, 1984b).

Reid (2001) descreve que o uso de temperaturas inadequadas, durante o transporte e armazenamento de flores, é o grande responsável pela perda de qualidade e redução da vida de vaso das flores de corte. No processo de armazenamento a refrigeração é essencial para manter a qualidade final do produto; no entanto, como descrito anteriormente, a temperatura ideal de refrigeração varia de uma espécie para outra.

O armazenamento pode ser úmido ou a seco; normalmente, no úmido as flores são mantidas durante o armazenamento com a porção basal na água e é utilizado para

curtos períodos, enquanto o método a seco é usado para longos períodos (Novak et al., 1991). No armazenamento a seco, as flores são colhidas precocemente no período matutino, quando totalmente túrgidas, manuseadas a seco e colocadas em sacos plásticos ou caixas. O resfriamento de flores em caixa fechada é muito lento, as flores necessitam ser resfriadas antes de serem embaladas e armazenadas (Castro 1984b). Independente do tipo de armazenamento a umidade relativa na câmara fria deve ser alta, Handerburg et al. (1990) recomenda 90 a 95 % de umidade relativa em câmaras de armazenamento refrigeradas, pois o produto não deve perder água para o ambiente onde estiver sendo estocado.

Outro importante fator que pode afetar a qualidade do produto armazenado é o etileno, cujo acúmulo pode acelerar a taxa de desenvolvimento e senescência de muitas flores. Para evitar o acúmulo de etileno nas câmaras de armazenamento, deve-se providenciar trocas de ar rotineiramente, evitar os armazenamentos mistos, remover prontamente os tecidos danificados e doentes e utilizar removedores de etileno, como por exemplo permanganato de potássio (Halevy & Mayak, 1981).

A manutenção das plantas à baixa temperatura e elevada umidade, as vezes não é suficiente para um armazenamento prolongado. Nestes casos torna-se necessário a manipulação de outros fatores ambientais, como a concentração de gases no ar.

A atmosfera é composta por nitrogênio (78%), oxigênio (21%), gás carbônico (0,03%) e outros gases. O equilíbrio entre o oxigênio e o gás carbônico é fundamental para a respiração e conseqüentemente para a manutenção da qualidade. No armazenamento com atmosfera controlada a concentração dos gases é conhecida e regulada por equipamentos específicos capazes de promoverem um ambiente com baixos teores de O<sub>2</sub> e/ou altos teores de CO<sub>2</sub>, quando comparados à composição normal do ar.

Entre os efeitos benéficos do armazenamento em atmosfera controlada, inclui-se o retardamento da maturação com conseqüente prolongamento da longevidade, visto que baixos teores de O<sub>2</sub> reduzem a produção do etileno autocatalítico e o CO<sub>2</sub> impede a ação do etileno, minimizando os distúrbios fisiológicos e retardando a deteriorização do produto armazenado (Castro, 1984b).

A técnica para armazenamento em atmosfera modificada tem principio semelhante ao da atmosfera controlada, com a diferença que neste tipo de armazenamento a concentração de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> não é controlada. O armazenamento em atmosfera modificada baseia-se na manutenção de uma barreira que promova aumento no nível de CO<sub>2</sub> e uma diminuição do nível de O<sub>2</sub> ao redor das hastes florais.

A barreira para a difusão de gases pode ser realizada por meio de filmes de polietileno de baixa densidade ou de cloreto de polivinila (PVC), os quais são mais permeáveis que o polietileno. Os filmes utilizados podem variar de volume e espessura, determinando diferentes respostas a esse tratamento, em função da espécie armazenada e temperatura de armazenamento empregada (Carvalho, 2002).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, R.I.N. Pós-colheita de espécies frutíferas. In: WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, R.I.N. (Org) - **Fisiologia Vegetal: Produção e Pós-colheita**, Curitiba: Champagnat, 2002, p. 273-314.

CASTRO, C.E.F. **Tratamentos químicos pós-colheita e critérios de 4 avaliação da qualidade de cravos (*Dianthus caryophyllus* L.) cv. Scania Red Sim.** 1984. 139 f. (Tese de Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 1984a.



CASTRO, C.E.F. Armazenamento de flores de corte. **O Agrônomo**, Campinas, v.36, n.2, p. 193-211, 1984b.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; CASTRO, C.E.F. Tratamento pós-colheita de áster. In: 13º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. São Paulo. **Resumos**. Campinas, 2001, p.29.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; GONÇALVES, C.; CASTRO, C.E.F. Postharvest handling methods for *Agapanthus africanus* Hoffm. (Liliaceae). In: V International Symposium on New Floricultural Crops. Foz Iguaçu. **Resumos**. Campinas, 2003a, p.25.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; REIS, S.F.; CASTRO, C.E.F.; GONÇALVES, C. Manutenção da qualidade pós-colheita de *Strelitzia reginae* Art. In: 14. Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. Lavras. **Resumos**. Lavras, 2003b, p.30.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; GONÇALVES, C. ; CASTRO, C.E.F. Manutenção da qualidade pós-colheita de lírio In: IX Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Atibaia. Resumos. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v.15 (suplemento), p.254, 2003c.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; ZULLO, M.A.; CASTRO, C.E.F. Caracterização física e conservação pós-colheita de alpínia( *Alpínia purpurata*. Vieill Schum.) **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 27-31, 2003d.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M. Pós-colheita de antúrio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v. 10, n. 1/2, p. 45-47, 2004.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; FINGER,F.L.; BARBOSA, J.G. Fisiologia pós-colheita de flores de corte. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v. 11, n. 2, p. 88-99, 2005a.

DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; GONÇALVES, C.; CASTRO, C.E.F. Manutenção da qualidade pós-colheita de lírio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v. 11, n. 1, p. 29-34, 2005b.

DURKIN, D.J.; PUT, H.M.C. Scanning electron microscope observations of the cut surface of Rosa 'Kardinal' influenced by vase water composition. **Acta Horticulturae**, Leiden, Netherlands, v. 405, p. 97-100, 1995.

FINGER, F.L., SANTOS, V.R., MORAES, P.J., BARBOSA, J.G. Pulsing with sucrose and silver thiosulfate extended the vase life of *Consolida ajacis*. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 543, p.63-67, 2001.

HEEL,B.;HENDRIKS, L. The influence of N nutrition on keeping quality of pot plants. **Acta Horticulturae**, v.405, p.138-141, 1995.

HALEVY, A.H.; MAYAK, S. Senescence and postharvest physiology of cut flowers- part 2. In: JANICK, J. (Ed.). **Horticultural Reviews**, AVI Publishing, Westport, v. 3, p. 59-143, 1981.

JORDI, W.; STOOPEN, G.M.; KELOPOURIS, K., VAN DER KRIEKEN, V.M. Gibberellin-induced delay of leaf senescence of *Alstroemeria* cut flowering stems is not caused by an increase in the endogenous cytokin content. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v.14, p.121-127, 1995.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Lãs exportaciones brasilenas de flor y plantas crescem mas del 124% entre 2001 y 2006. **Horticultura Internacional**, v. 56, p. 76-79 2007.

KAPPERS, I.F.; JORDI, W.; MAAS, F.M.; VAN DER PLAS, L.H. Gibberelins in leaves of *Alstroemeria hybrida*: identification and quantification in relation to leaf age. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v.16, p.219-225, 1997.

MORAES, P.J.; CECON, P.R.; FINGER, F.L., BARBOSA, J.G.; ALVARES, V.S. Efeito da refrigeraçãõ e do condicionamento em sacarose sobre a longevidade de inflorescências de *Strelitzia reginae* Ait. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.5, n.2. p. 151-156, 1999.

NOORDEGRAAF, C.V. Problems of postharvest management in cut flowers. **Acta Horticulturae**, Aas, Sweden, v. 482, p. 53-58, 1999.

NOWAK, J., RUDNICKI, R.M. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens, and potted plants**. Portland: Timber Press, 1990. 210 p.

PAULL, R.E. Anthurium (*Anthurium andraeanum*) vase life evaluation criteria. **HortScience**, v.17, n. 4, p. 606-607, 1982.

PAULL, R.E.; CHANTRACHIT, T. Benziladenine and the vase life of tropical ornamentals. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, p.303-310, 2001.

REID, M.S. Effects of low temperatures on ornamental plants. **Acta Horticulturae**, Aas, Sweden, v. 298, p.214-223, 1991.

REID, M.S.; DODGE, L. **Anthurium**: Recommendations for maintaining postharvest quality. Department of Environmental Horticulture, University of California, Davis. Disponível em: <<http://rics.ucdavis.edu/postharvest2/Produce/ProduceFacts/Orn/anthu.shtml>>. Acesso em: 25 maio 2001.

SALISBURY, F.R.; ROSS, C.W. Hormones and Growth Regulators: Cytokinis, Ethylene, Abscisic Acid, and Other Compounds. In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Plant Physiology**, Wadsworth Publishing Company Belmont, California, 1992a. p. 382-407.

SALISBURY, F.R.; ROSS, C.W. Hormones and Growth Regulators: Auxins and Gibberellins In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Plant Physiology**, Wadsworth Publishing Company Belmont, California , 1992b. p. 357-381.

SEREK, M.; REID, M.S. **Use of Growth Regulators for Improving the Postharvest Quality of Ornamentals**. Perishables Handling Quarterly Issue, California, n. 92, p.7-9, 1997.

SILVEIRA, R.B.A. **Avaliação da qualidade de crisântemos (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) produzidos em diferentes regiões do Estado de São Paulo.** 1998, 114 f. (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 1998.

SLOOTWEG, G.; MEETERN, U. van. Transpiration and stomatal conductance of roses cv. Sonia grown with supplemental lighting. **Acta Horticulturae**, v.298, p.119-121, 1991.

SONG, C.Y.; BANG, C.S.; CHUNG, S.K.; KIM, Y.J., LEE, J.S.; LEE, D.C. Effects of postharvest pretreatments and preservative solutions on vase life and flower quality of asiatic hybrid lily. **Acta Horticulturae**, Leiden, v. 414, p. 277-285, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Water and Plant Cells, In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Plant Physiology**, Sinauer Associates, Inc, Sunderland, third edition, p. 33-46, 2002a.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Cytokinins: Regulators of cell division. In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Plant Physiology**, Sinauer Associates, Inc, Sunderland, third edition, p. 493-517, 2002b.

WACHOWICZ, C. M. Fisiologia de produção de espécies ornamentais. In: WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, R.I.N. (Orgs.). **Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Champagnat, p. 205-224, 2002.

VAN DOORN, W.G. Water relations of cut flowers. II. Some species of tropical provenance. **Acta Horticulturae**, Aas, v. 482, p. 65-69, 1999.b

**PALAVRAS CHAVES:**

Pós-colheita, flores, folhagens.

## Relações hídricas e fisiologia pós-colheita de flores de corte.

Finger, Fernando Luiz<sup>1</sup>; Barbosa, José Geraldo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Professores do Departamento de Fitotecnia/UFV, CEP: 36571-000, Viçosa, MG, e-mail: [ffinger@ufv.br](mailto:ffinger@ufv.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A comercialização de flores tropicais para corte representa uma importante atividade do setor agrícola nacional e mundial. Segundo Goletti (2003) a importância de práticas adequadas de conservação pós-colheita aumentou de importância nos países em desenvolvimento, visto que a participação da mão-de-obra no setor agrícola vem declinando rapidamente nas últimas décadas.

Flores são órgãos de natureza essencialmente efêmera têm a longevidade afetada por diversos fatores endógenos e exógenos na pré e pós-colheita. As condições de cultivo pré-colheita ou de pré-produção das plantas, o estágio de desenvolvimento da flor na colheita, polinização e tratamentos pós-colheita, determinam em grande parte, a extensão da vida útil das flores de corte ou mesmo quando comercializadas como planta em vaso.

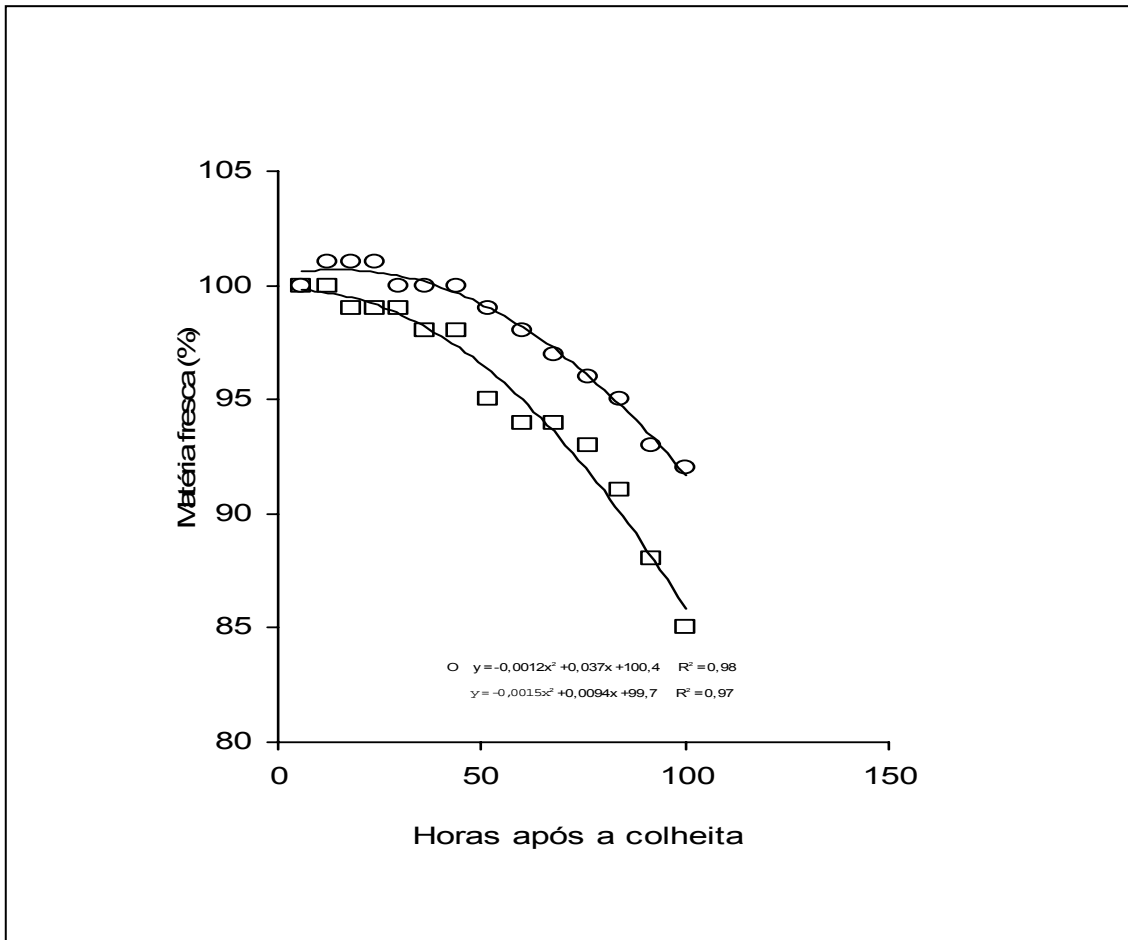
O objetivo desta revisão é avaliar os fatores fisiológicos que afetam a qualidade, conservação e a longevidade das flores de corte durante o transporte, armazenamento, comercialização e utilização final do produto.

### 2. RELAÇÕES HÍDRICAS

Nas flores de corte, o murchamento e a senescência das pétalas podem estar associados à deficiência na absorção de água pelas hastes. A obstrução física dos vasos xilemáticos pode ser por microrganismos, pela deposição de pectina e fenóis ou por embolismo, reduzindo a condutância hidráulica na haste (Van Doorn, 1997; De Pescale & Viggiani, 1998).

O corte periódico da base das hastes de flores de zínia e de ave-do-paráiso, a cada 12 horas ou dois dias, respectivamente, melhora significativamente a manutenção e a absorção de água pelas flores (Figuras 1 e 2). As flores de zínia que foram cortadas tiveram menor queda na matéria fresca durante o armazenamento, o que indica que essas flores mantiveram melhor equilíbrio entre absorção e transpiração (Figura 1). Nas flores de ave-do-paráiso, o melhor suprimento de água é evidenciado pelo melhor equilíbrio no teor relativo de água das sépalas ao longo da pós-colheita (Figura 2). Neste mesmo experimento com ave-do-paráiso observou-se, também, que o corte periódico da base das hastes prolongou a longevidade das flores e elevou o número de floretes abertos em 1,5 e 1,7 vezes, respectivamente, em relação ao tratamento controle. Embora em menor escala que as flores de ave-do-paráiso, em zínia também houve efeito positivo do corte da base da haste sobre a longevidade das flores.

O pH da água exerce influência sobre a capacidade de absorção de água pelas flores cortadas, visto que a água é mais rapidamente absorvida em pHs ácidos do que alcalino. Sun et al. (2001) observaram que o tratamento de flores cortadas de *Eucalyptus ficifolia* mantidas continuamente em solução de vaso contendo 2% de sacarose, 200 mg L<sup>-1</sup> de citrato de hidroxiquinolina (HQC) e pH da água ajustado para 4 pela adição de ácido cítrico, foi eficiente em manter a absorção de água e massa fresca das flores pelo período de cinco dias após a colheita. Neste mesmo trabalho, observou-se que a utilização de pH 4 na solução de vaso foi o que promoveu maior elevação da massa fresca das flores, ou seja, maior absorção pós-colheita de água pelas hastes.



Fonte: Carneiro et al. (2002).

Figura 1. Porcentagem de matéria fresca em hastes de zínias (*Zinnia elegans*) cortadas (○) e não-cortadas (□) a cada 12 horas na base das hastes.

### 3. FISIOLÓGIA DA SENESCÊNCIA

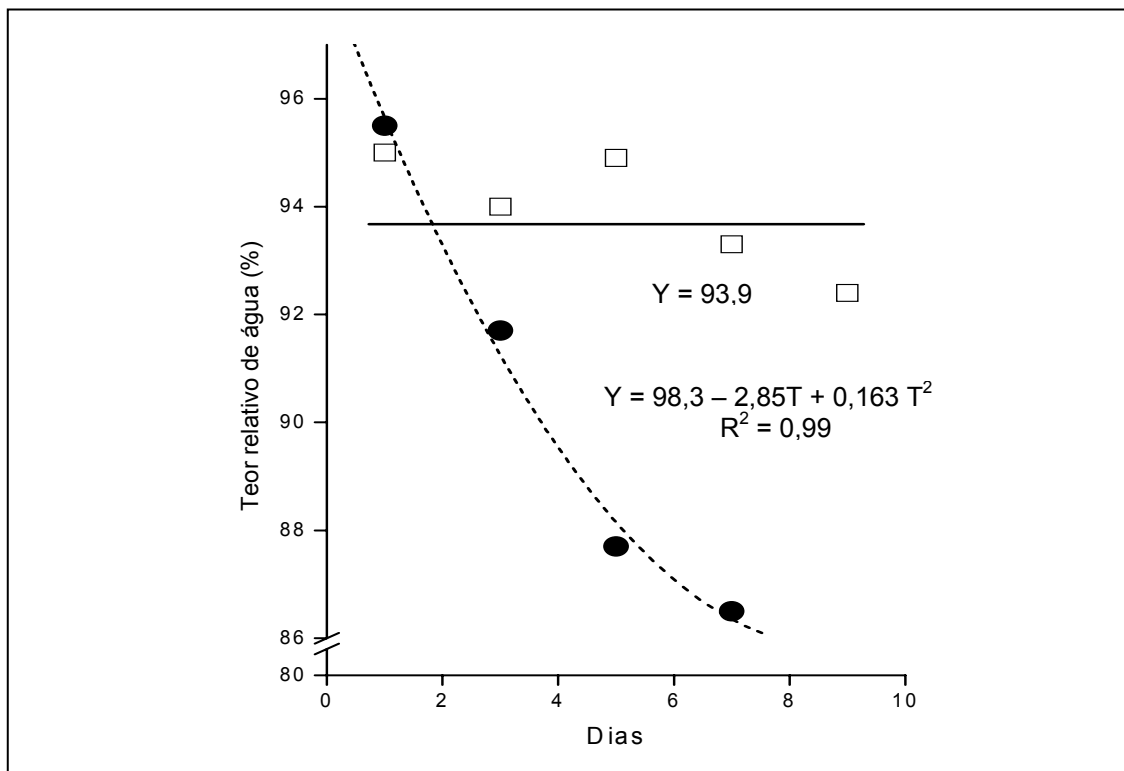
#### 3.1. Etileno

A senescência das pétalas e flores é mediada por um conjunto de processos fisiológicos que culminam com a morte e a abscisão. Dentre as mudanças bioquímicas que ocorrem nas flores destacam-se a elevação da atividade de enzimas hidrolíticas, degradação do amido e da clorofila, perda da compartimentalização celular, produção climatérica de etileno e da respiração nas flores climatéricas, presente em cravos e orquídeas (Van Altvorst & Bovy, 1995; Woltering et al., 1994).

O etileno é o regulador de crescimento que induz a expressão de diversos genes durante a senescência das pétalas e flores. Em flores tropicais sensíveis à ação do etileno, o regulador de crescimento induz o murchamento e o secamento das pétalas, seguido geralmente da abscisão. As orquídeas dos gêneros *Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium* e *Phalaenopsis* são altamente sensíveis ao etileno, e pequenas quantidades do gás presente na atmosfera de armazenamento (0,1 a 1,0 µL/L) são suficientes para induzir respostas fisiológicas, caso o tempo de exposição seja suficientemente grande.

Dois sistemas de regulação da produção de etileno atuam sobre a mesma rota biossintética; o sistema I é responsável pela produção de níveis baixos de etileno, e está presente em frutos e flores com comportamento climatérico e não-climatérico da

respiração e nos tecidos vegetativos das plantas. O sistema I é responsável pelo etileno presente na fase que antecede o início do climatério das flores climatéricas. O sistema II, por sua vez, é responsável pela produção massiva de etileno que acompanha a senescência das flores e frutos climatéricos. Este sistema de produção é também denominado de autocatalítico, visto que o etileno é responsável pela indução da sua própria síntese (Abeles et al., 1992). A elevação da atividade da sintase do ACC e da oxidase do ACC pelo sistema II de produção se deve ao aumento da taxa de transcrição dos respectivos RNA mensageiros, estimulado pela ação do etileno.



Fonte: Campanha et al. (1997).

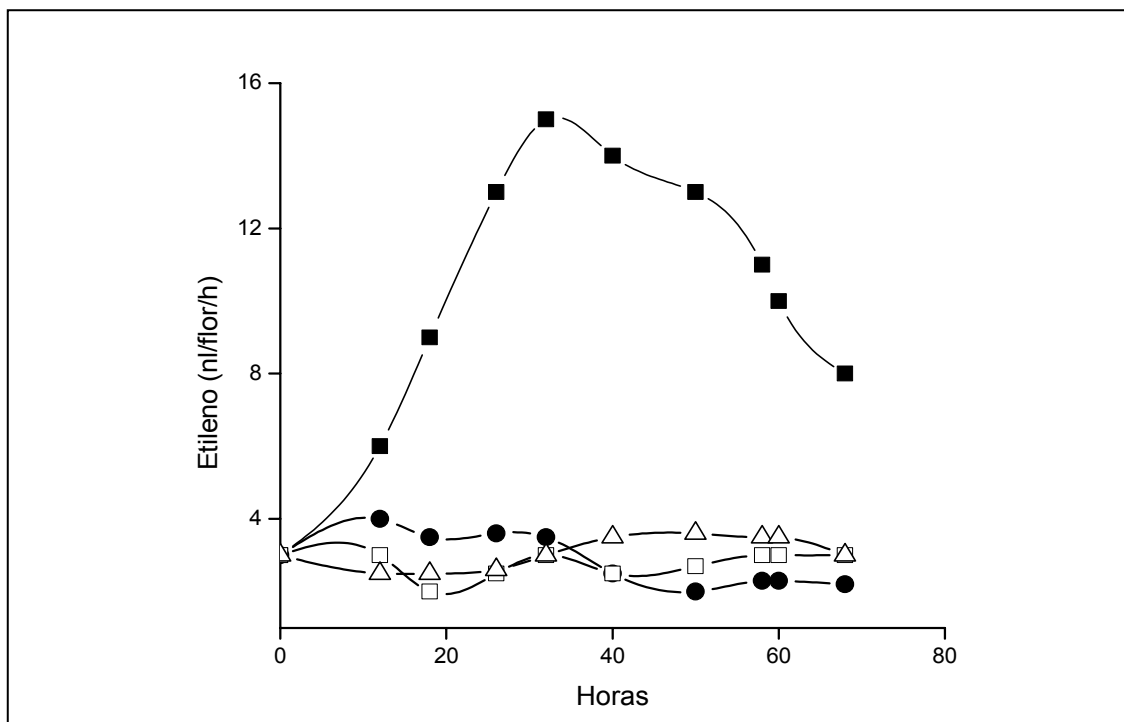
Figura 2. Mudanças no teor relativo de água em sépalos de ave-do-paraíso, nas hastes cortadas a cada 2 dias (□) e no controle (●) em vaso a 25 °C e 60% de umidade relativa.

Em flores de orquídeas e cravos, a polinização das flores estimula a síntese de ACC e de etileno, via aumento da expressão da sintase do ACC e oxidase do ACC. A polinização estimula a produção de etileno nas flores de *Dendrobium* após 12 horas da polinização, atingindo máximo de evolução após 30 horas (Figura 3). A manutenção das flores em solução contendo 0,5 mM de AOA inibe a produção de etileno nas flores polinizadas e não polinizadas, semelhante a produção de etileno observada para as flores controle não polinizadas (Figura 3).

Auxina induz a produção de ACC e de etileno em plantas superiores via estímulo da expressão da sintase do ACC. Em orquídeas *Phalaenopsis* a síndrome de pós-polinização da produção de ACC é induzida, primeiramente, pela ação da auxina presente no pólen, sendo responsável pelo estímulo inicial da produção de etileno das flores (Nadeau et al., 1993).

A enzima sintase do ACC é dependente de piridoxal fosfato como cofator, sendo, portanto, inibida por ácido aminooxiacético (AOA), aminoetoxivinilglicina (AVG) ou rizobiotoxinas análogas (Van Altvorst & Bovy, 1995). Geralmente os tratamentos com inibidores da síntese de etileno têm-se demonstrado menos efetivos e de custo

mais elevado que os tratamentos com inibidores da ação no prolongamento da vida de vaso das flores. A maior efetividade dos inibidores da ação é decorrente do bloqueio da ação do etileno proveniente do próprio tecido e também daquele de origem exógena, como o etileno produzido por outras plantas ou presente na atmosfera oriunda da combustão de hidrocarbonetos.



Fonte: Porat et al. (1994b).

Figura 3. Produção de etileno em flores de *Dendrobium* não polinizadas (△), polinizadas (■), não polinizadas e tratadas com 0,5 mM de AOA (□) e flores polinizadas e tratadas com 0,5 mM de AOA (●).

A inibição da ação do etileno dá-se pelo bloqueio da interação do etileno com o receptor do hormônio. Diversas substâncias têm ação anti-etileno, sendo o íon  $Ag^+$ , 2,5-norbarnadiene, 1-metilciclopropeno (1-MCP) e dióxido de carbono os mais efetivos. Estas substâncias podem ser utilizadas comercialmente para impedir a ação do etileno em flores de corte ou em plantas cultivadas em vaso visando prolongar a vida de vaso ou de pós-produção.

Flores de ave-do-paráiso e gladiolo são insensíveis ao etileno, portanto outros fatores afetam a longevidade, em especial o suprimento de sacarose, relações hídricas e doenças.

### 3.2. Respiração

A respiração, para a maioria dos produtos hortícolas é o fator mais importante da deterioração dos órgãos destacados e a intensidade da atividade respiratória reflete a velocidade de deterioração dos produtos.

A respiração afeta diretamente diversos aspectos do metabolismo dos produtos hortícolas:

- a. Responsável pela redução, e em alguns casos extremos como em flores, a depleção das reservas de carbono (amido, açúcares solúveis e ácidos orgânicos). Em frutos e hortaliças, o consumo das reservas orgânicas reduz o sabor do produto.

- b. O calor produzido pela respiração ou também chamado de calor vital, é importante para estabelecer a capacidade de refrigeração das câmaras frigoríficas durante o armazenamento.
- c. A dissipação do calor produzido pela respiração dá-se via transpiração, reduzindo assim a vida útil de prateleira dos produtos hortícolas.

Todos os produtos hortícolas continuam respirando após a colheita, havendo constante troca de elementos entre o tecido vivo e o ambiente, conforme pode ser definida pela equação geral da respiração:



Portanto, a oxidação completa de uma molécula de glicose consome 6O<sub>2</sub> e libera para o ambiente 6CO<sub>2</sub> e 6H<sub>2</sub>O, possibilitando à geração de 686 kcal, cuja parte é liberada na forma de calor a parte armazenada como ATP. A respiração é um processo pouco eficiente de conservação de energia, apenas 42 % do potencial da energia produzida pela oxidação completa da glicose é armazenada na forma de ATP (Kader, 1987). O restante da energia será liberada na forma de calor para ambiente circundante, isto determina em parte o método de resfriamento, o tipo de embalagem e a altura das pilhas no armazenamento dos produtos hortícolas.

A respiração obedece ao fator Q<sub>10</sub>, ou seja, para cada 10°C de elevação da temperatura de armazenamento ocorre duplicação da respiração, de acordo com a lei de Van't Hoff:

$$Q_{10} = (R_2/R_1)^{10/(t_2 - t_1)}$$

Onde: R<sub>2</sub> e R<sub>1</sub> correspondem à taxa respiratória na temperatura mais elevada e inferior, respectivamente e t<sub>2</sub> e t<sub>1</sub> as respectivas temperaturas nas quais as taxas respiratórias foram determinadas. Há grande variação no fator Q<sub>10</sub> dos produtos hortícolas em função da espécie, cultivar e temperatura de armazenamento, porém de maneira geral eles se aproximam do valor 2 dentro do limite de 0 e 40°C.

A respiração em esporinha apresenta com fatores Q<sub>10</sub> que variam de 1,11 a 2,89 (Tabela 1), semelhante aos encontrados em hortaliças e frutos. Porém as taxas respiratórias nesta flor são extremamente elevadas comparadas a maioria das hortaliças e frutos, atingindo valores de 1854 ml CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> a 30°C (Tabela 1). Respirações desta magnitude são responsáveis pelo elevado grau de depleção das reservas de carboidratos armazenados nas estruturas florais.

Tabela 1. Evolução da taxa respiratória e do fator Q<sub>10</sub> da respiração em inflorescências de esporinha (*Consolida ajacis*) armazenadas entre 5 e 40 °C.

Temperatura (°C)	Taxa respiratória (ml CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Fator Q <sub>10</sub>
5	403	-
10	488	1,47
15	830	2,89
20	875	1,11
25	1103	1,57
30	1854	2,82
35	1038	-
40	1073	1,07

Fonte: Finger et al. (2006).



Neste mesmo trabalho, Finger et al. (2006) observaram que houve uma correlação inversa entre a elevação da temperatura e a longevidade da esporinha em vaso, com redução estimada de 11,9 dias a 5°C para 4,06 dias a 30°C, onde foi detectada a maior taxa respiratória da flor (Tabela 1).

#### 4. TRATAMENTOS PÓS-COLHEITA

##### 4.1. Soluções de 'pulsing', vaso e pulverização com preservativos florais

A expressão 'pulsing' refere-se ao tratamento pós-colheita de condicionamento de curta duração, máximo de 24 a 48 horas, onde são aplicadas soluções de açúcares, ácidos orgânicos, inibidores da síntese ou ação do etileno e/ou bactericidas, realizado imediatamente após a colheita ou após o armazenamento refrigerado das flores e folhagens de corte. Estas mesmas substâncias poderiam ser utilizadas na solução de vaso, porém deve-se reduzir a concentração dos componentes para ser efetiva. A utilização de preservativos florais em solução de vaso é problemática uma vez que muitas substâncias são altamente tóxicas, como AgNO<sub>3</sub> ou tiosulfato de prata (STS), ou substâncias que são utilizadas como substratos para o crescimento de microrganismos, a exemplo da sacarose e glicose. O manuseio dos preservativos florais exige cuidados adicionais com a segurança ambiental tanto por parte de produtores, comerciantes e consumidores.

Para a maioria das flores cortadas, o nível de açúcares nas pétalas é relativamente elevado por ocasião do murchamento e senescência das flores, logo não há aparente escassez de carboidratos por parte dos órgãos florais para manter a respiração vital das pétalas. Porém, a aplicação exógena de açúcar, após a colheita, eleva a longevidade de muitas destas flores, contradizendo desta forma a afirmativa de que os carboidratos estão presentes em quantidade suficientes. Por outro lado, deve-se levar em consideração que embora aparentemente haja elevado conteúdo de carboidratos nas pétalas, por ocasião do murchamento, estes açúcares podem estar compartimentalizados na célula e, portanto, não disponíveis ao mitocôndrio (Van Door, 2001).

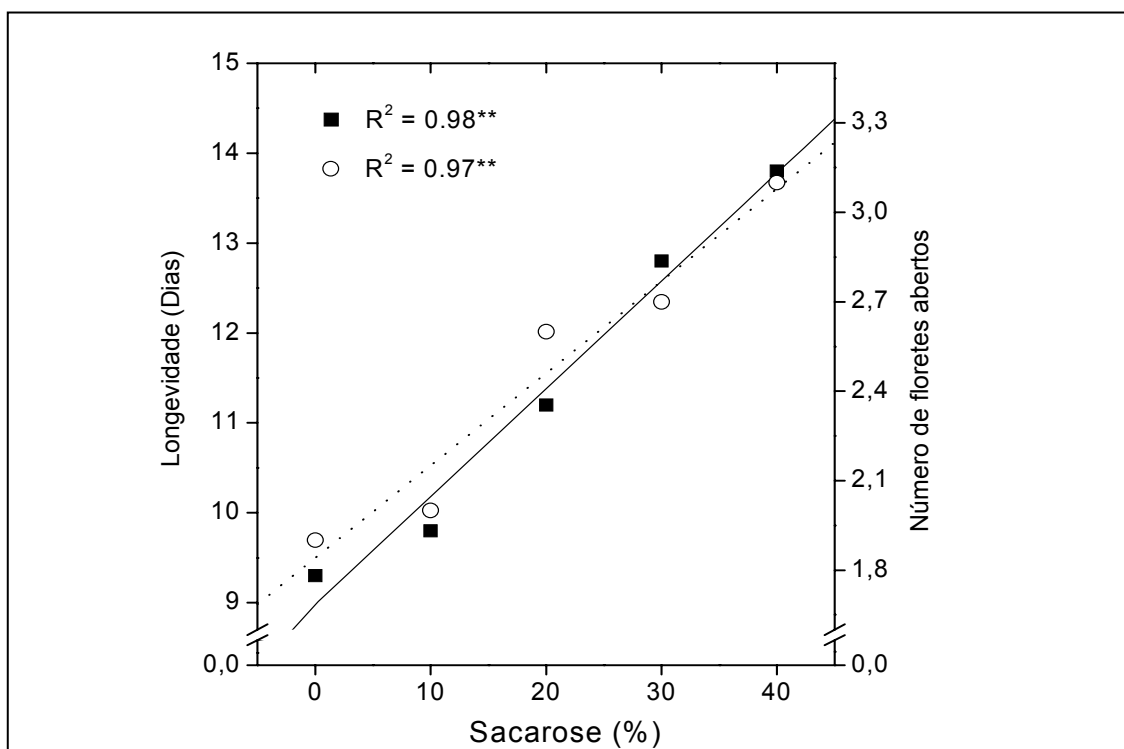
Em flores de ave-do-paraíso, o 'pulsing' com sacarose nas concentrações entre 10 e 40% aplicados por 24 horas elevaram a longevidade e o número de floretes abertos (Figura 4). O condicionamento das flores com solução de 40% de sacarose elevou a longevidade em 55% e aumentou em 1,7 vezes o número final de floretes abertos, quando comparado às flores não pulsadas com sacarose.

##### 4.2. Tratamento com 1-MCP

O 1-MCP é um ciclopropeno que desponta como uma substância revolucionária no tratamento de dos produtos hortícolas visando bloquear os efeitos danosos da ação do etileno. Este inibidor competitivo da ação do etileno tem elevada afinidade pelo receptor do etileno, cerca de 10 vezes maior que a observada para o etileno (Blankship & Dole, 2003). Desta forma, o 1-MCP é efetivo em bloquear a ação do etileno mesmo quando utilizado em concentrações extremamente baixas, porém a dose ótima varia com a fisiologia e genética da flor, concentração, temperatura, tempo e momento de aplicação.

Porat et al. (1995) avaliaram a influência da polinização sobre o aumento da sensibilidade ao etileno e a influência do tratamento com 1-MCP e do STS sobre a senescência da orquídea *Phalaenopsis*. As flores tiveram a sensibilidade ao etileno aumentada após quatro horas da polinização, e houve estímulo da produção autocatalítica de etileno entre nove e dez horas após a polinização (Figura 5). O aumento da produção de etileno, em *Phalaenopsis*, é disparado pela maior sensibilidade das pétalas ao etileno, produzido pela polinização da flor. O pré-tratamento das flores com 250 nL/L de 1-MCP por seis horas ou pela manutenção

destas em solução de vaso contendo 0,5 mM de STS inibiu a produção autocatalítica de etileno das flores polinizadas (Figura 5), bloqueando efetivamente a ação do hormônio. Nesta flor, a polinização acelerou a senescência das flores, reduzindo a longevidade de 13 para 2 dias e o pré-tratamento das flores polinizadas com 1-MCP ou a manutenção das flores em vaso com 0,5 mM de STS elevou o número de dias necessários para o murchamento de 50% das pétalas, comparado com as flores polinizadas. Nos tratamentos testados, o 1-MCP foi mais eficiente que o STS em prolongar a longevidade das flores de *Phalaenopsis*, embora o efeito do 1-MCP e do STS em inibir a produção climatérica de etileno foi semelhante (Figura 5).



Fonte: Finger et al. (1999).

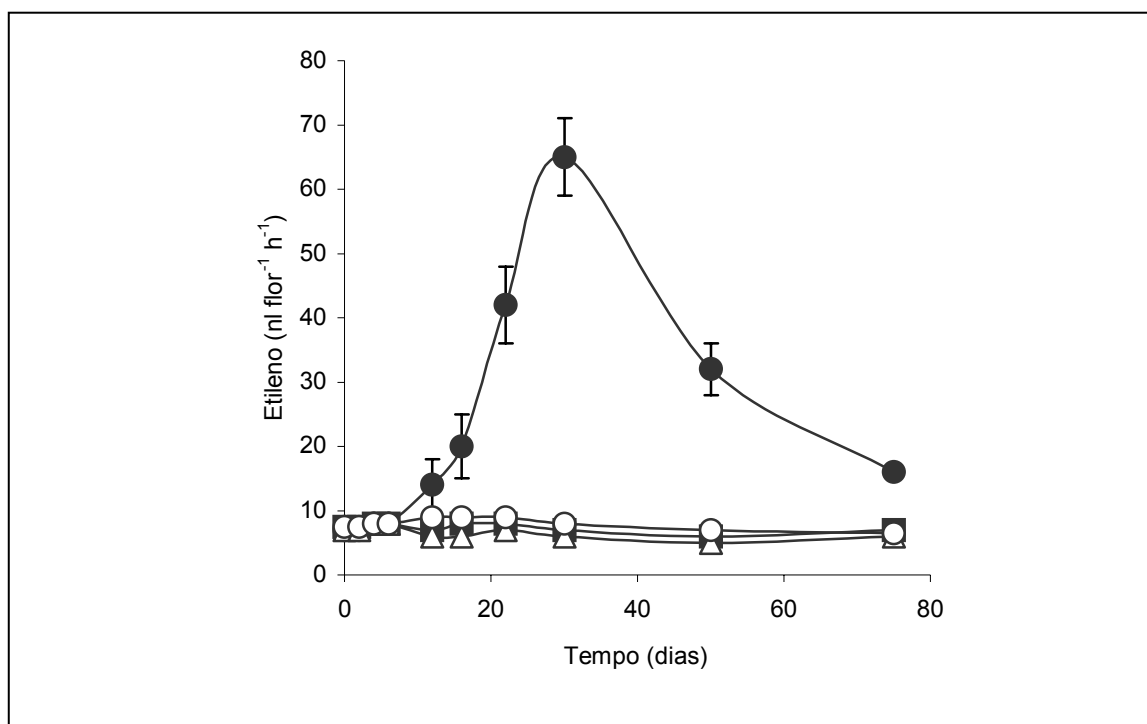
Figura 4. Efeito do 'pulsing' com sacarose (0, 10, 20, 30 e 40%) por 24 horas sobre a longevidade (■) e número de floretes abertos (○) em flores de ave-do-paráíso. Equações de regressão, longevidade:  $Y = 8,90 + 0,12X$ ; número de floretes abertos:  $Y = 1,84X + 0,031X$  (\*\* Significante  $P \leq 0,01$ ).

## 5. Carboidratos

Em diversas espécies de flores de corte a vida de vaso é aumentada quando açúcares exógenos são supridos às hastes, aplicados tanto na forma de 'pulsing' ou continuamente como componente das soluções de vaso. Geralmente, os açúcares são fornecidos na forma de sacarose ou glicose, cujas concentrações variam em função da espécie, do modo e do tempo de aplicação.

Para a maioria das flores cortadas, o nível de açúcares nas pétalas é relativamente elevado por ocasião do murchamento e senescência das flores, logo não há aparente escassez de carboidratos por parte dos órgãos florais para manter a respiração vital das pétalas. Porém, a aplicação exógena de açúcar, após a colheita, eleva a longevidade de muitas destas flores, contradizendo desta forma a afirmativa de que os carboidratos estão presentes em quantidade suficientes. Por outro lado,

deve-se levar em consideração que embora aparentemente haja elevado conteúdo de carboidratos nas pétalas, por ocasião do murchamento, estes açúcares podem estar compartimentalizados na célula e, portanto, não disponíveis ao mitocôndrio (Van Doorn, 2001).



Fonte: Porat et al. (1995).

Figura 5. Efeito dos inibidores da ação do etileno STS e 1-MCP sobre a produção de etileno após a polinização de flores de *Phalaenopsis*. Flores não-polinizadas (○), polinizadas (●), flores pré-tratadas com 250 nL/L de 1-MCP por 6 horas e polinizadas (△) ou polinizadas e mantidas em vaso com 0,5 mM de STS (■). Valores médios de quatro repetições  $\pm$  erro padrão da média.

## 6. CONCLUSÕES

As flores podem ter comportamento climatérico ou não climatérico da respiração e produção de etileno durante a senescência das flores. Além disso, as flores têm elevada sensibilidade ao etileno, cuja síntese pelo tecido é estimulada por estresses, como o causado pela polinização, dano mecânico e possivelmente hídrico. Este comportamento da orquídea requer pré-tratamentos com inibidores da síntese e ação do etileno antes do transporte e comercialização das flores de corte. O 1-MCP e o STS são considerados os inibidores da ação do etileno mais efetivos no controle da senescência de orquídeas, porém, a influência das citocininas e giberelinas, e possíveis interações, destes hormônios, com inibidores da ação do etileno não foram avaliados na maioria das flores tropicais de corte. A respiração da maioria das espécies de flores é extremamente elevada, e apresenta uma correlação inversa com a longevidade das flores de corte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in plant biology**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. 414p.

CARNEIRO, T.F.; FINGER, F.L.; DOS SANTOS V.R., NEVES, L.L.M.; BARBOSA, J.G. Influência da sacarose e do corte da base da haste na longevidade de inflorescências de *Zinnia elegans*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 1065-1070, 2002.

BLANKENSHIP, S.M.; DOLE, J.M. 1-Methylcyclopropeno: a review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p.1-25, 2003.

CAMPANHA, M.M.; FINGER, F.L.; CECON, P.R.; BARBOSA, J.G. Water relations of cut bird-of-paradise (*Strelitzia reginae* Ait.) inflorescences. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 3, p. 27-31, 1997.

DE PASCALE, S.; VIGGIANI, S., Water relations and gas exchanges of cut *Godetia* flowers during vase life. **Advances in Horticultural Science**, v. 12, p. 153-157, 1998.

FINGER, F.L.; CAMPANHA, M.M.; BARBOSA J.G.; FONTES, P.C.R., Influence of ethephon, silver thiosulfate and sucrose pulsing on bird-of-paradise vase life. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 119-122, 1999.

FINGER, F.L.; SANTOS, V.R.; MORAES, P.J.; BARBOSA, J.G. Pulsing with sucrose and silver thiosulfate extended the vase life of *Consolida ajacis*. **Acta Horticulturae**, v. 543, p. 63-67, 2001.

FINGER, F.L.; SANTOS, V.R.; BARBOSA, J.G.; BARROS, R.S. Influência da temperatura na respiração, produção de etileno e longevidade de inflorescências de esporinha. **Bragantia**, v. 65, p. 363-368, 2006.

GOLETTI, F. Current status and future challenges for the postharvest sector in developing countries. **Acta Horticulturae**, v. 628, p.41-48, 2003.

KADER, A.A. Respiration and gas exchange of vegetables. In: WEICHMANN, J. (Ed.). **Postharvest physiology of vegetables**. New York: Marcel Dekker, Inc. 1987. p. 25-43.

NADEAU, J.A.; BUI, A.Q.; ZHANG, X.; O'NEILL, S.D. Interorgan regulation of post-pollination events in orchid flowers. In: PECH, J.C., LATCHÉ, A., BALAGUÉ, C. (Eds.). **Cellular and molecular aspects of the plant hormone ethylene**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 304-309.

PORAT, R.; BOROCHOV, A.; HALEVY, A.H.; O'NEIL, S.D., Pollination-induced senescence of *Phalaenopsis* petals. **Plant Growth Regulation**, v. 15, p. 129-136, 1994a.

PORAT, R.; BOROCHOV, A.; HALEVY, A.H. 1994b. Pollination-induced in ethylene production and sensitivity to ethylene in cut dendrobium orchid flowers. **Scientia Horticulturae**, v. 58, p. 215-221, 1994b.

PORAT, R., HALEVY, A.H., SEREK, M.; BOROCHOV, A., An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of *Phalaenopsis* orchid flowers. **Physiologia Plantarum**, v. 93, p. 778-784, 1995.

SUN, J.; JAMESON, P.E.; CLEMENS, J. Water relations and stamen abscission in cut flowers of selected *Myrtaceae*. **Acta Horticulturae**, v. 543, p. 185-189, 2001.

VAN ALTVORST, A.C.; BOVY, A.G. The role of ethylene in the senescence of carnation flowers, a review. **Plant Growth Regulation**, v. 16, p. 43-53, 1995.

VAN DOORN, W.G. Water relations of cut flowers. **Horticultural Reviews**, v. 18, p. 1-85, 1997.

VAN DOORN, W.G. Role of soluble carbohydrates in flowers senescence: a survey. **Acta Horticulturae**, v. 543, p. 179-183, 2001.

WOLTERING, E.J.; TEN HAVE, A.; LARSEN, P.B.; WOODSON, W.R. Ethylene biosynthetic genes and inter-organ signaling during flower senescence. In: SCOTT, R.J., STEAD, A.D. (Eds.). **Molecular and cellular aspects of plant reproduction**. London: Cambridge University Press, 1994. p.285-307.

PALAVRAS CHAVES:

Flor de corte, pós colheita, fisiologia.

## Avances en transgénesis de cultivos ornamentales. El uso de la tecnología de *Agrobacterium rhizogenes* como herramienta en el mejoramiento.

Gennarelli, María Cristina<sup>1,2</sup>; Álvarez, María Alejandra<sup>3</sup>; Escandón, Alejandro Salvio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Floricultura. INTA-Castelar, de los reseros y Nicolás Reppetto s/n. Pcia. de Buenos Aires, Argentina, email: [aescandon@cni.inta.gov.ar](mailto:aescandon@cni.inta.gov.ar); <sup>2</sup>Estudiante de la Maestría en Biotecnología (UBA);

<sup>3</sup>Fundación Pablo Cassará. Saladillo 2454. Buenos Aires, Argentina.

En el mejoramiento de los cultivos ornamentales la Ingeniería Genética y la transformación genética de plantas son herramientas de gran utilidad para incrementar, artificialmente, la variabilidad genética. Una de sus más importantes ventajas es que permiten la incorporación de un gen determinado sobre un fondo genético selecto, evitando la dilución de las características genotípicas del organismo. Asimismo, estas estrategias permiten incorporar los genes deseados independientemente del origen de los mismos (Cubero, 2003).

A las demandas clásicas de genes de resistencia a herbicidas, a estreses, a insectos y plagas, etc., que hacen los diferentes cultivos a la Biotecnología, los cultivos ornamentales le suman genes que modifican otras características de la planta, como su arquitectura, colores, vida en florero, capacidad de generar perfumes, manejo de los tiempos de floración, etc (Tanaka et al., 2005).

En la naturaleza se dispone de una muy importante variedad de genes que tienen, o pueden tener, una gran relevancia en el mejoramiento de ornamentales. A manera de ejemplo, genes que modifiquen la arquitectura de las plantas es posible hallarlos tanto en *Agrobacterium tumefaciens*, los genes *iaaM*, *iaaH* e *ipt*, así como los genes *rol* y *aux 1* y *aux 2* de *A. rhizogenes* (Casanova et al., 2005). Otro gen de gran utilidad en la modificación de la arquitectura de las plantas es el inhibidor de la síntesis de giberelinas, *gai* de *A. thaliana*. Alguno de ellos fueron probadas en plantas modelos como tabaco y otros en cultivos como el crisantemo, el clavel, rosa, entre otros (Wang & Li, 2006).

*Agrobacterium rhizogenes* es una bacteria del suelo causante de la enfermedad denominada raíces en cabellera. Algunos de los síntomas de esta enfermedad, entre otros, enanismo, mayor compacidad, menor dominancia apical, variabilidad en hojas y flores Tepfer (1984), son interesantes en el contexto de un programa de mejoramiento de plantas ornamentales. Otra ventaja de esta estrategia es que, siendo una transformación natural, su liberación está fuera, al menos en la Argentina, de los procesos regulatorios (Burachick, com. per.)

En el Instituto de Floricultura, en el marco de un programa de mejoramiento en el género *Calibrachoa*, La LLave y Lexarza (Solanaceae), y con el objeto de obtener variedades más compactas del género, se propuso la puesta a punto de la técnica de transformación genética, vía *A. rhizogenes*, de *Calibrachoa excellens*, que es una semi arbustiva, nativa de la Argentina, cuyas flores de intenso color fucsia le confieren un interesante potencial ornamental. Segmentos nodales de la especie de interés fueron desinfectados con el método estándar de etanol/hipoclorito sódico y cultivados en un medio MS libre de hormonas. Estas *in vitro plantas* se utilizaron como fuente de explantos (hojas y segmentos nodales) para estudiar la respuesta de *C. excellens* frente a la infección de diferentes cepas de *A. rhizogenes*. Se obtuvieron raíces en cabellera a partir de hojas infectadas con la cepa LBA 15834. Las raíces se subcultivaron a un medio Murashige-Skoog 0,5X agarizado, libre de hormonas y suplementado con Cefotaxime®, cuya concentración inicial de 500 µg/ml se disminuyó gradualmente hasta su total eliminación cuando no se verificó crecimiento bacteriano. Posteriormente fueron transferidas a igual medio pero líquido, donde crecieron vigorosamente. La presencia del transgén en las raíces fue confirmada por PCR. De estas raíces regeneraron yemas en forma espontánea. Una vez desarrolladas, las plántulas fueron transferidas a un medio MS sólido y mantenidas bajo condiciones *in vitro* durante 2 subcultivos (cada 30 días). Alcanzados los 3-4 cm. de largo,

las plántulas fueron transferidas a macetas de 8 cm de diámetro conteniendo sustrato artificial y mantenidas bajo condiciones de cámara húmeda para su aclimatación. Finalmente, las plantas aclimatadas se cultivaron bajo condiciones de invernáculo estándar.

Se obtuvieron dos eventos de transformación independientes, las plantas regeneradas mostraron los típicos síntomas de la enfermedad de raíces en cabellera: entrenudos cortos, hojas arrugadas, hojas y flores de menor tamaño y un vigoroso crecimiento de raíces y la presencia de los genes *rol A*, *rol B* y *rol C* fue verificada por PCR. Así como también se descartó la presencia de *Agrobacterium* remanente en las plantas regeneradas a través de la PCR para el gen *vir D*.

Ambos eventos no sólo mostraron diferencias anatómicas entre ellos, sino que también se observaron diferencias fenológicas, ya que si bien ambos florecieron en primavera/verano, bajo situación de día largo (artificial) uno de ellos ha florecido, independientemente de la temperatura, y el otro no. El polen de ambos eventos mostró ser viable y el obtenido a partir de uno de ellos fue utilizado para efectuar un cruzamiento con otra especie de *Calibrachoa*. Esta sería una experiencia pionera en la región de la aplicación de esta tecnología con fines de mejora en plantas ornamentales nativas.

## BIBLIOGRAFÍA

CASANOVA, E.; TRILLASA, M.I.; MOYSSETA, L.L.; VAINSTEIN, A. Influence of *rol* genes in floriculture. **Biotechnology Advances**, n. 23, p. 3–39, 2005.

CUBERO, J.I. Los poliploides en la mejora vegetal. En: **Introducción a la mejora genética vegetal**. Cap. 15. Ediciones Mundi-prensa. Madrid. España, 2003. p. 325-351.

TEPFER, D. Transformation of several species of higher plants by *Agrobacterium rhizogenes*: Sexual transmission of the transformed genotype and phenotype. **Cell**. n.37, p. 959– 67, 1984.

WANG, Y; LI, J. Genes controlling plant architecture. **Current opinion on Biotech**, n. 17, p. 123-129, 2006.

TANAKA, Y.; KATSUMOTO, Y.; BRUGLIERA, F.; MASON, J. Genetic engineering in floriculture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, n. 80, p. 1–24, 2005.

## PALAVRAS CHAVES:

*Agrobacterium rhizogenes*, transgénesis, melhoramento.

## **Implantação de biofábrica de cana-de-açúcar: riscos e sucessos.**

Lee, Tseng Ssheng Gerald<sup>1</sup>; Bressan, E.A.<sup>1</sup>; Corrêa Da Silva, A.D.<sup>2</sup>; Lee, L.L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>DBV/CCA/UFSCar; <sup>2</sup>CanaVialis; <sup>3</sup>Agro Lab Plants, E-mail: [leetseng@cca.ufscar.br](mailto:leetseng@cca.ufscar.br)

### **INTRODUÇÃO**

A produção industrial de cana-de-açúcar *in vitro* é uma prática bastante utilizada no Brasil, Cuba e China. É um método biotecnológico já consagrado pelos resultados alcançados com a sua produção de mudas mais saudáveis, mais uniformes e a uma velocidade muito mais rápida do que qualquer método convencional de multiplicação de cana-de-açúcar.

No Brasil, o conceito de biofábrica de cana-de-açúcar começou a ser definido em 1983, pela equipe de LEE, no laboratório de Fisiologia do antigo Planalsucar (IAA/PLANALSUCAR, 1983). Já em 1984, as primeiras plantas produzidas por este laboratório foram plantadas na Fazenda Nova Aliança, região de Ribeirão Preto, interior de São Paulo. Desde então, o processo foi aperfeiçoado e várias usinas resolveram adotá-lo, iniciando assim, a fabricação de suas próprias mudas.

A primeira biofábrica comercial de cana-de-açúcar do Brasil foi instalada em 1987 pela Usina Ester, localizada em Cosmópolis, SP (GUIA RURAL, 1990; INFORMATIVO COOPERCITRUS, 1991). No seu pico de produção, durante os anos 90, esta usina produziu 80.000 plântulas/mês para atender à sua própria demanda, estando também capacitada para vender mudas para outros produtores. Desde então, muitas outras usinas e institutos de pesquisa de cana-de-açúcar têm montado este tipo de biofábrica. Recentemente, a Votorantim Novos Negócios instalou uma biofábrica de cana-de-açúcar em Campinas, a CanaVialis, com área construída de 560 m<sup>2</sup> e capacidade para produzir 220.000 plântulas por mês.

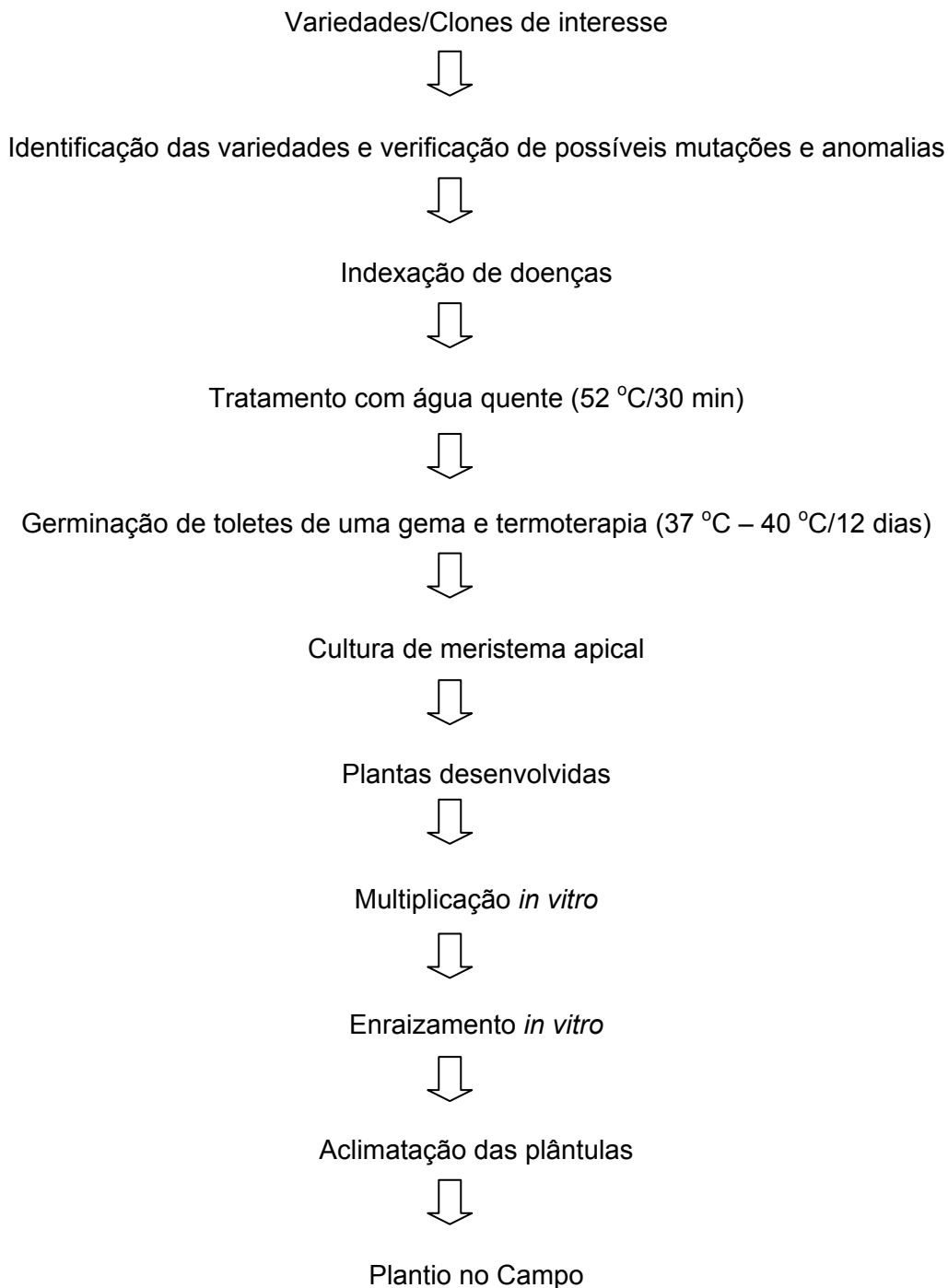
Em Cuba e na China, as biofábricas de plantas são bastante comuns. Hoje, existem pelo menos 3 biofábricas de cana-de-açúcar em Cuba. São laboratórios que possuem entre 1000 a 2000 m<sup>2</sup> e capacidade de produção entre 3 a 5 milhões de plântulas/ano. No sul da China há várias biofábricas de cana-de-açúcar. Dentre estas, a maior está localizada no Instituto de cana-de-açúcar (GSRI) que possui em torno de 1000 m<sup>2</sup> de área construída com produção anual de 1 milhão de plântulas.

### **IMPLANTAÇÃO DA BIOFÁBRICA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

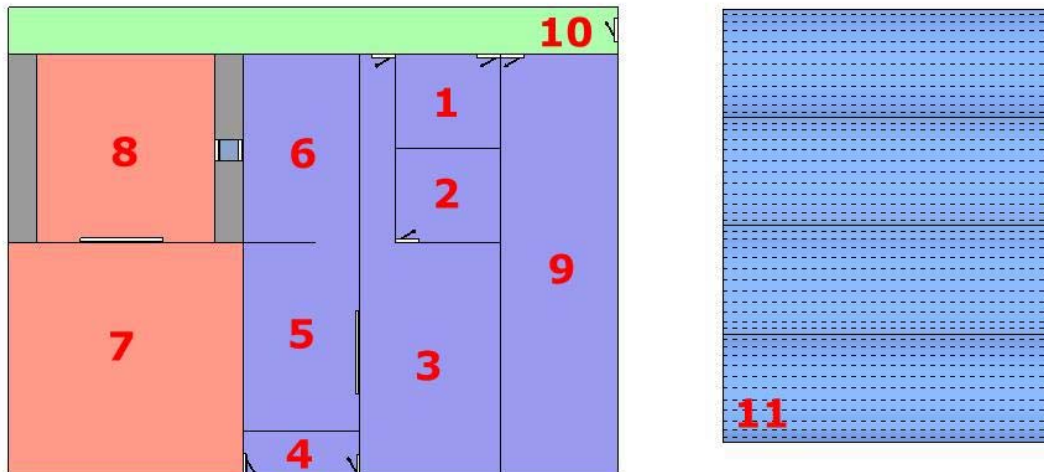
Biofábrica é um novo conceito de produção de mudas. Conforme o próprio nome indica, ela é uma fábrica que utiliza métodos biotecnológicos para a produção de plantas. Sendo uma fábrica, a produção deve ser em grande escala e todos os processos bem definidos. No caso da cana-de-açúcar, o método utilizado é a da cultura de tecidos de plantas sendo que todas as etapas da cadeia de produção já estão muito bem definidas, permitindo que a produção chegue facilmente a milhões de plantas por ano. Desta forma, a denominação de uma unidade de produção deste tipo como uma biofábrica de cana-de-açúcar é bastante adequada.

A implantação de uma biofábrica é bastante semelhante à de qualquer laboratório de micropropagação de mudas. A grande diferença está na escala e no fluxo de trabalho que deve ser rigorosamente seguido. No caso da cana-de-açúcar, o fluxograma da sua produção é o seguinte:





Portanto, o fluxo de trabalho deve seguir este fluxograma rigorosamente. Normalmente, uma estrutura de único nível é recomendado para que o acesso a todas as áreas da biofábrica seja facilitado. Caso a estrutura possua dois níveis, o andar superior deve ser utilizado para atividades que não estejam diretamente ligadas ao processo de produção técnico em si como por exemplo, escritório, centro de funcionários e outros. A seguir encontra-se uma planta baixa de uma estrutura que obedece ao fluxo de trabalho de uma biofábrica de cana-de-açúcar (Figura 1).



- 1 – Sala da gerência
- 2 – Sala de tratamento térmico e germinação
- 3 – Sala de controle de saída e entrada de plantas
- 4 – Sala para troca de roupas e sapatos
- 5 – Sala de autoclavagem e lavagem
- 6 – Sala de preparo de meio de cultura
- 7 – Sala de cultura
- 8 – Sala de inoculação
- 9 – Laboratório de apoio (confirmações de variedades e indexação de doenças)
- 10 – Corredor
- 11 – Estufas para aclimação de plântulas

Figura 1. Planta baixa de uma estrutura de único nível para uma biofábrica de cana-de-açúcar. As salas consideradas “Áreas Limpas” onde deve haver filtragem e pressão positiva do ar são: 1 – Sala de Inoculação e 2 – Sala de cultura.

## MÉTODO DE CULTURA DE TECIDOS PARA BIOFÁBRICA DE CANA-DE-AÇÚCAR

O método de cultura de tecidos para a produção massal de plântulas de cana-de-açúcar já foi descrito por LEE (1984, 1986, 1987, 1988), LEE & BACCHI (1984) e HENDRE et al. (1983) há vários anos. No ano de 1984 este método foi adotado pelo antigo PLANALSUCAR para a produção de mudas de cana-de-açúcar da variedade NA56-79. Os detalhes das operações técnicas podem ser encontrados em trabalhos publicados por LEE (1984, 1987, 1988, 1991). Desde então, o método foi bastante simplificado para conseguir aceitação popular. Uma única solução (MP II) pode ser utilizada no processo todo, embora tenha-se verificado que, quando não se conta com uma boa estrutura de estufa para climatização, a segunda solução (MR) pode ser de grande ajuda para a sobrevivência das plântulas antes de entrarem na aclimatização (Tabela 1).

As etapas do processo são as seguintes:

1. Obtenção de fonte de explantes: envolve o plantio do tolete individual do clone ou variedade desejada, do qual o meristema é extraído. Poucos toletes são necessários para a realização desta etapa. O tolete deve ser lavado e esterilizado em uma solução de hipoclorito comercial a 20% (Cloro ativo: 2 a 5%) por 40 minutos e posto para germinar em incubadora de 37°C a 40°C. São necessários de 12 a 15 dias até que a planta recém-germinada esteja pronta para a etapa seguinte;

Tabela 1. Meio de cultura utilizado para micropropagação de cana-de-açúcar.

	<b>INGREDIENTES</b>	<b>MP II (mg/L)</b>	<b>MR (mg/L)</b>
<b>1.</b>	<b>MACRONUTRIENTES</b>		
	KNO <sub>3</sub>	1900	950
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	825
	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440	220
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	185
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	85
<b>2.</b>	<b>MICRONUTRIENTES</b>		
	Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	37,3	18,6
	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8	13,9
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6,2
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3	22,3
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	8,6
	KI	0,83	0,83
	NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
<b>3.</b>	<b>VITAMINAS, HORMÔNIOS E OUTROS COMPONENTES ORGÂNICOS</b>		
	Tiamina	1	-
	Inositol	100	-
	Cinetina	0,1	-
	BAP	0,2	-
	Sacarose	20000	20000
<b>4.</b>	<b>pH</b>	5,8	4,0

2. Desenvolvimento de plântulas de meristema: os meristemas podem ser obtidos das fontes (etapa 1), com o auxílio de um microscópio estereoscópico. O tamanho dos meristemas deve ser de 2-3 mm, utilizando-se a solução MP II para seu desenvolvimento. Esta etapa leva 30-45 dias. No preparo da solução MP II deve-se utilizar a solução estoque concentrada (multiplicando-se por 50-100 vezes as quantidades mostradas na Tabela 1). Tubos de ensaios devem ser utilizados nesta etapa;
3. Multiplicação *in vitro*: as plântulas de meristema desenvolvidas passam, então, pela fase de multiplicação. Elas devem ser transferidas para frascos comerciais de 6 x 10 cm, contendo solução MP II. Como esta solução contém reguladores de crescimento, as plântulas apresentam rápido perfilhamento. Em 15 dias, o resultado obtido é cerca de 10 vezes superior ao originalmente transferido para os frascos. Esta etapa pode ser repetida diversas vezes, até que se obtenha a quantidade de plântulas desejada. Geralmente, 3 a 4 meses são suficientes para a obtenção de material suficiente para o plantio de vários hectares;
4. Enraizamento das plântulas: as plântulas da etapa 3 devem ser transferidas para a solução MR (Tabela 1) para o crescimento e enraizamento, o que se completa em 15 a 20 dias. Caso o laboratório disponha de uma estufa com maiores recursos aclimatização, na qual possa controlar a temperatura durante o inverno e a umidade relativa, esta etapa poderá ser omitida. Plântulas tratadas com MR crescem facilmente em qualquer estufa mais simples.

## ACLIAMATIZAÇÃO E PLANTIO EM CAMPO DAS MUDAS PRODUZIDAS PELA BIOFÁBRICA DE CANA-DE-AÇÚCAR

1. Aclimatização em estufa: após a etapa 4 do laboratório, resultam frascos com aproximadamente 10-20 plântulas. Estas plântulas são então removidas, lavadas e levadas à estufa ou vendidas a terceiros. Praticamente qualquer tipo de estufa com um microaspersor simples serve a este propósito, desde que a temperatura exterior não esteja muito baixa. O sistema plug utilizado em estufa é o mesmo que normalmente se emprega em horticultura para a formação de mudas de hortaliças ou de plantas ornamentais (LEE, 1989). Esta etapa requer de 40 a 60 dias para se completar. As plântulas, agora bem enraizadas e aclimatizadas, estão prontas para o transplântio no campo;
2. Plantio no campo: as plântulas resultantes da aclimatização apresentam uma altura de 25 a 30 cm. Elas podem ser podadas antes de serem retiradas das bandejas do sistema plug, colocadas em caixas plásticas (geralmente utilizadas na coleta de laranja) e transportadas para as áreas de plantio. Cada plântula, a esta altura, pesa cerca de 20 g e cada caixa plástica pode acondicionar de 300 a 400 unidades. A cada viagem, um caminhão comum pode transportar de 200.000 a 300.000 plântulas, quantidade suficiente para o plantio de cerca de 15 a 20 hectares. Uma descrição mais detalhada das vantagens de se utilizar este sistema pode ser encontrada em trabalho de STOLF & LEE (1990). O plantio no campo pode ser realizado tanto por transplantador mecânico como também manualmente. As plântulas devem ser irrigadas abundantemente logo após o plantio.

## CUSTO E BENEFÍCIO DE UMA BIOFÁBRICA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Os custos da montagem de uma biofábrica de cana-de-açúcar dependem, principalmente, do seu objetivo de produção mensal. Uma biofábrica com produção mensal de 40.000 plântulas/mês projetado recentemente pelo autor para uma usina de cana-de-açúcar teve seu custo estimado em US\$ 200.000,00. O custo de cada plântula pode sofrer uma drástica redução em caso de escalonamento da produção. Por exemplo: um custo de US\$ 0,14/plântula numa produção de 200.000 unidades/ano, poderá ser reduzida para US\$ 0,08 a US\$ 0,04 a unidade se a produção aumentar para 400.000 e 1.000.000 unidades/ano, respectivamente (LEE, 1991 com valores atualizados). Empresas de cultura de tecidos que produzem mais de um milhão de unidades por ano são muito comuns nos Estados Unidos e Europa (LEE et al., 1995). Como o mercado de plântulas de cana-de-açúcar no Brasil é enorme, não deve haver dificuldade na comercialização desta quantidade de mudas.

Com a utilização de mudas sadias de cana-de-açúcar, é possível aumentar a produtividade da cultura de 10 a 30% e a longevidade dos canaviais em 30%. Estas estimativas são variáveis, pois os efeitos benéficos da cura das mudas dependem das variedades, organismos patogênicos e tratamentos culturais envolvidos (TOKESHI, comunicação pessoal).

O investimento para a instalação de uma biofábrica como a mencionada por LEE (1991), é bem justificável economicamente, considerando-se que sua implantação não visará somente o atendimento das necessidades da usina (o que deverá ocorrer no início), mas também a venda de mudas sadias a outros produtores, futuros compradores em potencial. Esta afirmação baseia-se nos seguintes pontos (TOKESHI, comunicação pessoal):

- a. a área cultivada com cana-de-açúcar no país está acima de 6.000.000 ha;
- b. estima-se que, anualmente, 20% da área cultivada seja replantada, o que equivaleria a 1.200.000 ha;

- c. para o plantio de 1.200.000 ha, é necessária uma área de viveiro de mudas equivalente a, pelo menos, 10% da área a ser plantada, ou seja, 120.000 ha de viveiros comerciais;
- d. estimando-se que o potencial de mercado de muda certificada represente somente 1% do total acima (podendo ser bem maior), isto corresponderia a uma área de 1.200 ha de viveiros de mudas, que seriam adquiridas pelos viveiristas;
- e. uma área de 1.200 ha de viveiros certificados necessita de, pelo menos, 18.000.000 de plântulas saudáveis, produzidas em biofábrica (LEE, 1991);
- f. o custo médio de plantas produzidas pelo método tradicional de tratamento térmico está em torno de US\$ 0,10 por unidade, enquanto que as plantas provenientes de cultura de tecidos, poderão chegar a US\$ 0,04. Isso significa que é plenamente viável a comercialização de plântulas de cultura de tecidos a preço igual às de tratamento térmico, ou seja, US\$ 0,10. Convém ressaltar que, uma muda de cana-de-açúcar biofabricada possui hoje, no mercado, preço entre US\$ 0,20 a US\$ 0,50.
- g. Como a área estimada é replantada anualmente, este montante representa a estimativa do valor bruto a ser, possivelmente, comercializado por ano.

O custo de transporte da muda deixa de ser um fator limitante, mesmo quando se consideram grandes distâncias, uma vez que, com a mesma capacidade de carga se transportam 15 vezes mais mudas provenientes deste processo do que do processo convencional (STOLF & LEE, 1990).

É importante ressaltar que os cálculos foram efetuados pressupondo-se que a comercialização de mudas saudáveis produzidas em uma biofábrica de cana-de-açúcar seja equivalente ao de mudas de tratamento térmico, e sendo a meta proposta de somente 1% da área de viveiros dos canaviais comerciais do país.

## SUCESSO E RISCO

O risco está presente em qualquer negócio e operação de qualquer natureza. A montagem de uma biofábrica de cana-de-açúcar possui um investimento inicial relativamente alto. Para se ter certeza de que um projeto desta natureza terá sucesso, é fundamental ter uma equipe competente e bem gerenciada, sob orientação bem fundamentada e por pessoas que possuam bons conhecimentos do processo de biofabricação de cana-de-açúcar.

A biofábrica de cana-de-açúcar possui riscos semelhantes a qualquer outro tipo de laboratório comercial. Este riscos são os seguintes:

### 1. Contaminação

Devido ao grande volume de frascos com plântulas envolvido na biofábrica, um surto de contaminação pode causar uma grande perda em pouco tempo.

A contaminação pode ocorrer em qualquer fase do processo, desde o início dos explantes (ex. Desenvolvimento de meristemas) até a última fase de enraizamento. A utilização de plantas o mais limpas possíveis para iniciar a cultura normalmente diminui bastante a contaminação inicial dos explantes. Contaminações por fungos indicam, normalmente, a má manipulação durante o processo enquanto que contaminações por bactérias podem ser decorrentes tanto da manipulação como também de manifestações de bactérias latentes. É muito comum ocorrer durante a fase de multiplicação, repentinamente, uma contaminação generalizada, ou seja, todos os frascos ficam contaminados. Em cana-de-açúcar, isto geralmente acontece na 3ª ou 4ª repicagem, enquanto que durante a fase de meristema apical, na 1ª e 2ª repicagem, pouca bactéria é notada.

Este fenômeno acontece com mais facilidade em meio com pH 5,8 sendo reduzido em meio com pH 4,0. O meio de multiplicação (MP II) apresenta menos contaminação que o

meio de enraizamento (MR). Isto é fácil de se notar também quando as plantas que estão dentro do frasco envelhecem. Plantas contaminadas desta forma não se multiplicam nem enraizam bem e a sua sobrevivência na estufa é muito baixa, causando uma enorme perda.

A causa deste problema pode ser alguns contaminantes bacterianos como o *Bacillus subtilis*, *Erwinia* e *Pseudomonas*, que, às vezes, estão presentes dentro das plântulas mas não conseguem se desenvolver em meio de cultura, talvez por limitação causada pelo pH do meio ou pela citocinina utilizada na manipulação. Após algumas multiplicações, essas bactérias tendem a se adaptar ao meio, o que desencadeia o seu crescimento, aparecendo, assim, o surto de contaminação quase total.

## 2. Envelhecimento das plantas em frasco

Este é um risco que pode ocorrer com mais probabilidade na biofábrica de cana-de-açúcar devido ao seu desenvolvimento rápido no meio de cultura.

O problema normalmente ocorre na fase de multiplicação das culturas com ciclo de repicagem muito curto. É, basicamente, um problema de mau planejamento da produção que causa atraso na repicagem. Em cana-de-açúcar, é preciso fazer uma repicagem a cada 15 dias. Quando o número de frascos começa a ficar muito grande, os atrasos começam a acontecer e o problema começa a aparecer. O envelhecimento das plantas aumenta a possibilidade de contaminação e diminui bastante o rendimento das novas repicagens. Este problema pode ser resolvido com o melhor planejamento de trabalho e alteração das condições de cultura para que as plantas cresçam em menor velocidade.

## 3. Desordens fisiológicas

A má formação de plantas pode ocorrer dentro dos frascos durante a fase de multiplicação e pode ser causada pelas próprias condições (alta umidade, trocas de ar deficientes, alta concentração de fitorreguladores utilizados no meio de cultura, etc.). A vitrificação é a anomalia de maior ocorrência. Em cana-de-açúcar, uma massa verde pode ocorrer em qualquer estágio. A massa verde é uma touceira de brotinhos muito pequenos que se formam a partir da base da touceira normal. Essa massa verde normalmente é também vitrificada, mas pode voltar ao seu aspecto normal se for passada várias vezes em MR (meio de enraizamento). Este problema pode ser evitado com a diminuição na dosagem de BAP no meio de multiplicação.

## 4. Variabilidade das plantas

Existe sempre um risco de que possa ocorrer variabilidade de plantas e unidades atípicas nos produtos das biofábricas. O problema está geralmente relacionado ao genótipo e a má utilização da metodologia e de seus processos. No caso da cana-de-açúcar, praticamente 100% das variações observadas ocorrem na variedade RB835486 devido à instabilidade genética da própria variedade. O BAP é o principal fator causador de variação nesta cultura que, juntamente com a repicagem excessiva, podem propiciar a ocorrência de maior variação. Para evitar o risco de perdas aos produtores, recomendamos muito cuidado na concentração do BAP utilizado no meio de cultura e controle nas repicagens que não devem ultrapassar 7 vezes.

Conforme mencionado, o sucesso de uma biofábrica de cana-de-açúcar depende de muitos fatores, principalmente da liderança no processo todo. A forma como a pessoa líder gerenciará esta biofábrica poderá decidir o sucesso do negócio. O treinamento do pessoal e uma rigorosa exigência do controle da qualidade do trabalho e dos produtos são componentes indispensáveis ao sucesso da produção em larga escala e devem ser uma constante responsabilidade do seu gerenciamento.

Outros itens como a melhoria do ambiente de trabalho, desenvolvimento de alternativas para redução de contaminações e mesmo a automatização de alguns procedimentos também devem ser considerados e praticados. O constante treinamento e

motivação do pessoal do laboratório é fundamental para a redução final dos custos, uma vez que uma equipe altamente motivada pode fazer com que uma instalação mais simples ou pequena renda bons resultados, fazendo com que o rendimento de um local com boa infraestrutura produza ainda mais.

## CONCLUSÃO

A produção industrial de mudas sadias de cana-de-açúcar através de uma biofábrica deixou de ser teórica. São muitas as vantagens como por exemplo:

- a) Taxa de multiplicação muito alta;
- b) Velocidade de multiplicação muito rápida;
- c) Produção de plântulas de alta qualidade;
- d) Produção anual constante;
- e) Facilidade de manuseio e transporte das plântulas resultando em custos menores;
- f) Plantio facilitado no campo.

O sucesso da biofábrica de cana-de-açúcar da Usina Ester instalada no ano de 1987 e da CanaVialis instalada no ano de 2004 são ótimos exemplos do seu potencial.

Acreditamos que, com o aperfeiçoamento e maior automação da tecnologia, a biofabricação da cana-de-açúcar será o único processo eficaz e economicamente viável para a rápida produção de mudas sadias e de alta qualidade de cana-de-açúcar.

## BIBLIOGRAFIA

COOPERCITRUS, Usina Ester. Tecnologia avançada e respeito pelo meio ambiente. **Informativo Coopercitrus**, n. 54, p. 8-12, 1991.

GUIA RURAL. Plantando cana de proveta. **Guia Rural**, v. 4, n. 6, p. 32-33, 1990.

HENDRE, R.R. et.al. Rapid multiplication of sugarcane by tissue culture. **Sugarcane**, v. 1, p. 5-9, 1983.

HENDRE, R.R.; IYER, R.S.; KOTWAL, M.; KHUSPE, S.S.; MASCARENHAS, A.F. Rapid multiplication of sugar cane by tissue culture. **Sugar Cane**, High Wycombe, n. 1, p. 5-8, 1983.

IAA/PLANALSUCAR. COSUL. Seção de Fisiologia. **Micropropagação de mudas sadias de cana-de-açúcar através da técnica de cultura de meristema apical**. In: Relatório Anual, 1983. Araras.

LEE, T.S.G. Micropropagação da cana-de-açúcar através de meristema apical. **Saccharum APC**, v. 7, p. 36-9, 1984.

LEE, T.S.G. & BACCHI, O.O.S. Improved rooting of differentiated shoots from sugarcane callus tissue. **Turrialba**, v. 34, p. 481-4, 1984a.

LEE, T.S.G. Multiplication of sugarcane by apex culture. **Turrialba**, v. 36, p. 231-5, 1986.

LEE, T.S.G. Micropropagation of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 10, p.47-55, 1987.

LEE, T.S.G. Produção de mudas sadias de cana-de-açúcar através da técnica de cultura de tecidos. **Álcool & Açúcar**, v. 45, p. 20-9, 1988.

LEE, T.S.G. Produção industrial de mudas de cana-de-açúcar: uma nova abordagem. **Álcool & Açúcar**, v. 59, p. 12-6, 1991.

LEE, T.S.G. Biofábrica de cana-de-açúcar. **Álcool & Açúcar**, v. 63, p. 26-32, 1992.

LEE, T.S.G.; PICOLLO, L.T.; MENEGHIN, S.P.; ARAÚJO, S.M.S.S. Biofábrica: Produção industrial de plantas *in vitro*. In: LEE, T.S.G. (Coord.). **Biofábrica** - Produção industrial de plantas *in vitro*. São Carlos: UFSCar, 1995. p.9-17,

LEE, T.S.G.; BRESSAN, E.A. Clean cane with Nitrogen Fixing Bacteria. **Sugar Tech**, v. 7, n. 1, p. 11-16, 2005.

STOLF, R. & LEE, T.S.G. Sistema comercial de plantio de plântulas de cultura de tecidos e gemas isoladas: plantio de estaca. **Álcool & Açúcar**, v. 53, p. 20-9, 1990.

UCHÔA, P.E.A.; NOGUEIRA Jr., P.; NETO, J.A.P.; LEE, T.S.G. Biofactory of Sugarcane at Ester Sugarmill: Achievements and Problems. **STAB**, v. 13, n. 6, p. 33-34, 1995.

PALAVRAS-CHAVE:

Biofábrica, cana-de-açúcar, micropropagação.



## Sementes Sintéticas e Unidades Encapsuláveis.

Guerra, Miguel Pedro<sup>1</sup>; Dal Vesco, Lírio Luiz<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Prof. Titular, Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG/RGV), Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV), Depto. Fitotecnia/CCA/UFSC – Florianópolis, SC, CEP 88034-001, Fone (48) 3721-5331, email: [mpguerra@cca.ufsc.br](mailto:mpguerra@cca.ufsc.br). <sup>2</sup>Doutorando do PPG/RGV/CCA/UFSC – Florianópolis, SC, 88034-001, Fone (48) 3721-5336, email: [lirio@cca.ufsc.br](mailto:lirio@cca.ufsc.br);

### INTRODUÇÃO

Sistemas avançados de cultivos e regeneração de plantas *in vitro* são alvos atuais de atenção por pesquisadores de todo o mundo. O fato é que os estudos e as aplicações da morfogênese *in vitro* de plantas oferecem oportunidades e inúmeras aplicações na biologia, botânica, bioquímica, propagação e melhoramento de plantas (Phillips, 2004). Os resultados buscados relacionam-se, principalmente, a identificação das rotas de controle da morfogênese *in vitro* e a otimização de protocolos regenerativos para cada espécie-alvo. O domínio e controle das rotas da morfogênese para cada recurso genético vegetal micropropagado é requisito fundamental para superar as dificuldades referentes à melhoria dos protocolos regenerativos *in vitro*.

Entre os avanços recentes nesta área citam-se o desenvolvimento das tecnologias de sementes sintéticas (SS) e de unidades encapsuláveis (UE). O emprego destes sistemas baseados na geleificação ionotrópica do alginato de sódio por sais de cálcio, ou encapsulamento em matriz de geleificação, em plantas é considerado como um dos avanços significativos para as técnicas de micropropagação. Estas técnicas são importantes também para a conservação *in vitro* de germoplasma.

Inicialmente, as pesquisas nesta área se concentravam no emprego de embriões somáticos (ES) para o desenvolvimento da técnica de semente sintética. Posteriormente passou-se a empregar propágulos não embriogênicos tais como ápices caulinares, segmentos nodais e outros (Pattnaik & Chand, 2000). Independentemente da técnica empregada um de seus objetivos é a superação dos problemas relacionados com a fragilidade dos propágulos, permitindo a semeadura ou transplante mecanizado (Mamiya & Sakamoto, 2001).

A tecnologia de sementes sintéticas foi empregada pioneiramente no Brasil no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal do Departamento de Fitotecnia do CCA/UFSC com o encapsulamento de embriões somáticos de *Feijoa sellowiana* (Guerra et al., 2001; Dal Vesco et al., 2005 e Cangahuala-Inocente et al., 2007). A tecnologia de unidades encapsuláveis foi inicialmente empregada em microbrotos da bananeira cv Grand Naine (Sandoval-Yugar, 2002) e de bromélias (Rech Filho, 2004). Estas técnicas são de uso restrito e recente no Brasil, principalmente, quando associadas semeaduras diretamente em substratos em condições *ex vitro*.

### Sementes Sintéticas

No início da década de 70 T. Murashige já havia formulado o conceito de semente sintética, mas somente o apresentou formalmente em 1977 num simpósio sobre cultura de tecidos, realizado na Bélgica. Em 1986, foi organizado o primeiro simpósio sobre sementes sintéticas, em Davis na Califórnia, EUA, para esta tecnologia envolvendo discussões sobre o controle da maturação dos embriões zigóticos e embriões somáticos, produção em sistemas de biorreatores, encapsulamento e desidratação dos ES (Redenbaugh et al., 1988).

Dentre os métodos para a produção de sementes sintéticas, o mais empregado é a geleificação ionotrópica do alginato com íons cálcio, a qual se baseia no princípio de que o alginato de sódio complexado com um cátion bivalente forma alginato de cálcio, pela ligação iônica do cálcio ao grupo carboxílico do ácido gulurônico do alginato (Gray et al., 1987). A

tecnologia de aplicação da cápsula de hidrogel foi desenvolvida inicialmente por Redenbaugh et al. (1984) onde se descobriu que o alginato de sódio podia ser usado como matriz de geleificação para a produção de sementes sintéticas. Estes autores identificaram que os hidrogéis formados pelo alginato de sódio ou de potássio e complexados em  $\text{CaCl}_2$  podiam ser empregados para a confecção das cápsulas.

O alginato de sódio é um produto extraído de algas marinhas marrons da classe Phaeophyceae. Atualmente, este composto tornou-se o principal gel para o encapsulamento devido a suas propriedades geleificantes, baixo custo, facilidade de uso, geleifica em temperatura ambiente e ausência de toxicidade. A partir disto, surgiram inúmeros estudos com esta tecnologia, incluindo o controle da maturação dos embriões zigóticos e somáticos, a produções de embriões em biorreatores, o encapsulamento e a desidratação dos embriões somáticos (Gray et al., 1987).

Semente sintética ou artificial é definida como um embrião somático, dessecado ou não, e encapsulado com ou sem um endosperma sintético, contendo nutrientes e, eventualmente, reguladores de crescimento e compostos antimicrobianos (Nieves et al., 1998). Assim, uma semente sintética apresenta estruturas análogas à semente verdadeira ou botânica, e consiste de um embrião somático envolto por uma ou mais camadas de compostos artificiais. Esta cápsula tem como finalidade a proteção do embrião somático contra danos mecânicos durante a armazenagem, transporte e semeadura diretamente em substratos (Gray & Purohit, 1991; Onishi et al., 1994). O alginato de sódio é um composto que apresenta boas características para o encapsulamento uma vez que possui boas propriedades geleificantes, é de baixo custo e apresenta facilidade de uso e ausência de toxicidade (Guerra et al., 1998). A definição original de semente sintética, dada por T. Murashige, foi a partir de um único embrião somático encapsulado, o qual poderia ser manipulado como uma semente verdadeira, permitindo desta forma o transporte, o armazenamento e a semeadura em ambiente *in vivo* ou, *ex vitro* e finalmente, desenvolver converte estas cápsulas em plantas completas. No entanto, esta definição limitou-se ao emprego de ES, que são propágulos bipolares regenerados a partir da embriogênese somática e contidos em uma cápsula que permitiria a manipulação e a semeadura direta (Standardi & Piccioni, 1998).

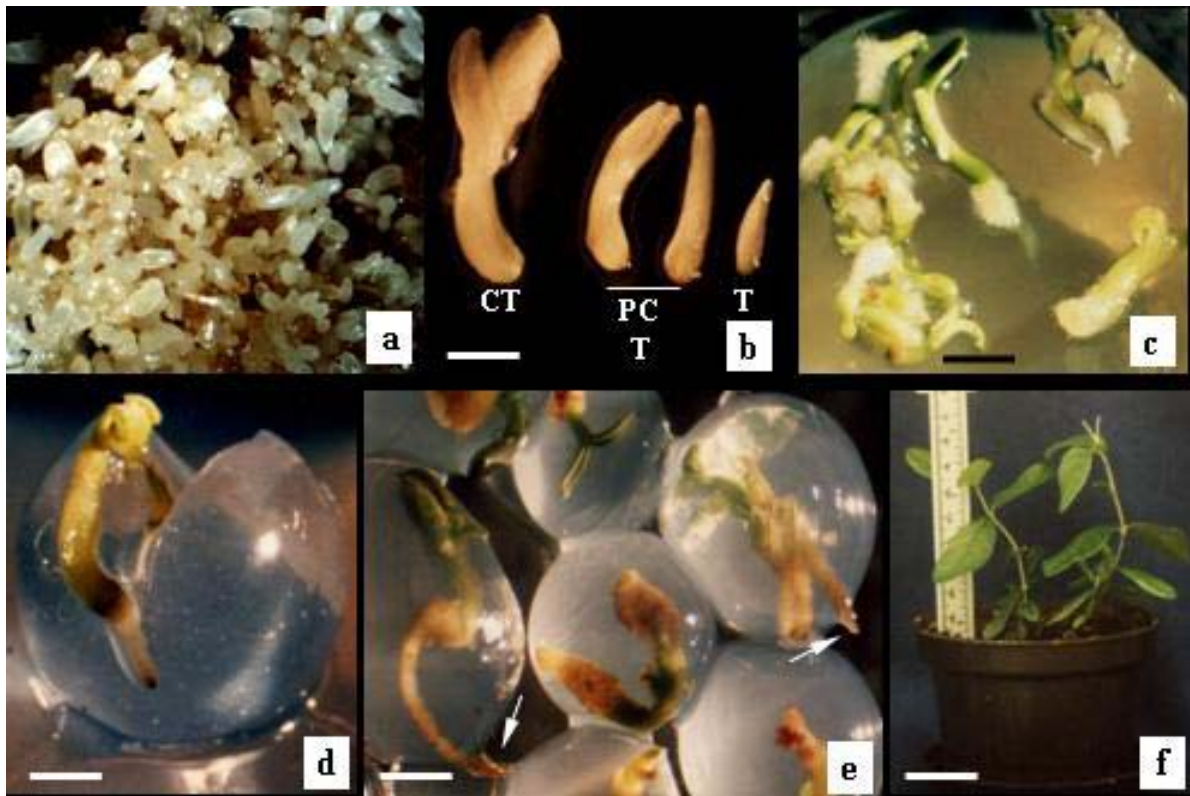
A tecnologia de sementes sintéticas surgiu como uma ferramenta promissora no micropropagação de plantas, tendo em vista sua eficácia e potencial de redução de custos (Pattnaik & Chand, 2000). A consolidação de protocolos onde os fatores de economia e tempo estão diretamente ligados ao sucesso da produção em escala de propágulos tem sido alvo de vários estudos (Redenbaugh et al., 1984, 1988, Gray et al., 1987; Onishi et al., 1992; Onishi et al., 1994; Sakamoto et al., 1995; Guerra et al., 2001, Dal Vesco et al., 2005, Singh et al., 2006, Cangahuala-Inocente et al., 2007 e Mallón et al., 2007). Os mais bem sucedidos casos de produção de semente sintética e regeneração de plantas já foram documentados para as mais diversas espécies de cereais, hortaliças, frutíferas, ornamentais, aromáticas e coníferas (Pattnaik & Chand, 2000).

A produção de sementes sintéticas apresenta uma série de atributos favoráveis: a) baixo custo em produções de grandes volumes associado ao uso de biorreatores em pequenas áreas e em curto espaço de tempo; b) mantém a fidelidade clonal; c) permite o armazenamento; d) permite a semeadura direta a campo, sem aclimatização; e) reduz o custo baixo custo por planta uma vez que podem ser eliminadas as etapas de sementeira e viveiros (Redenbaugh et al., 1988; Gray et al., 1995; Guerra et al., 1998).

A indução de culturas embriogênicas de alta frequência (Figura 1) é rotineiramente obtida na fruteira nativa goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*, syn. *Feijoa sellowiana*, Myrtaceae) no LFDGV/FIT/CCA/UFSC (Dal Vesco et al., 2005, Cangahuala-Inocente et al., 2007). O uso de uma solução de alginato de sódio (1-3%) complexado em  $\text{CaCl}_2$  (50-100 mM) resulta na formação de cápsulas consistentes e um tratamento posterior com  $\text{KNO}_3$  (100-200 mM) permite a abertura da cápsula e a sua conversão em plântula completa (Figura 1d-f). A utilização de um endosperma artificial pode melhorar a taxa de conversão em plântulas (Cangahuala-Inocente et al., 2007)

## Unidades encapsuláveis

O estabelecimento do conceito de unidade encapsulável foi inicialmente relatado por Onishi et al. (1992) abrangendo o sistema de produção de semente sintética a partir de embriões de aipo encapsulados e a habilidade de conversão em condições não estéreis. Posteriormente, Sakamoto *et al.* (1995) definiu esta técnica relacionada ao emprego de qualquer propágulo capaz de ser convertido em plântulas normais. Uma característica importante no conceito de UE é de que os propágulos devem apresentar tamanho no limite do encapsulamento (até 8 mm), possuir vigorosa habilidade de conversão em condições ambientais normais e apresentar tolerância contra o estresse na manipulação dos propágulos (Onishi et al., 1992; Sakamoto et al., 1995).



Fonte: Dal Vesco et al. (2005).

Figura 1. Embriogênese somática e produção de sementes sintéticas (SS) de *F. sellowiana*: a) indução em alta frequência (barra 1.1mm), b) Embriões somáticos (ES) nos estádios torpeda (T) e pré-cotiledonar (PCT) revelam maiores taxas de conversão quando comparados com os ES encapsulados no estágio cotiledonar (CT) (barra 1.1mm); c) Embriões somáticos pré-germinados em meio de cultura LPm + BAP (0,5  $\mu$ M) e GA<sub>3</sub> (0,1  $\mu$ M) (barra 2.6mm) encapsulados em solução de alginato de sódio (1%) com CaCl<sub>2</sub> (100mM), suplementado com endosperma sintético constituído por sais da formulação LPm (meia-força) + GA<sub>3</sub> (0.05  $\mu$ M) + Kin (0.5  $\mu$ M) + Caseína hidrolisada (500 mg/l) + Vitaminas de Morel (Morel & Vetmore, 1951) e; d) A imersão da cápsula em solução de KNO<sub>3</sub> (200 mM) resulta na descomplexação, abertura da cápsula e conversão dos ES em plântulas (barra 1.3mm); e) Cápsulas imersas em água mantêm consistência firme, sendo necessário a emissão da radícula (ver detalhe - setas) para o rompimento da cápsula (barra 2.6mm); f) Mudanças aclimatizadas transferidas para vasos e mantidas em fitotron mostrando excelente vigor (barra 3.1cm).

Um dos primeiros trabalhos publicados e que apontou com sucesso o uso da técnica de encapsulamento de gemas axilares foi relatado por Bapat et al. (1987) a partir de segmentos de brotos de amora (*Morus indica*) cultivados *in vitro*. Com esta mesma espécie

Bapat & Rao (1990) incorporaram na matriz de alginato diferentes fungicidas e trabalharam sob condições não assépticas. O uso de protetores na matriz da cápsula é fundamental para aumentar a taxa de conversão das gemas em brotos.

A unidade encapsulável (UE) é uma derivação do tema semente sintética, cujo princípio fundamental é ter alta capacidade conversão ou de retomada do crescimento, o que significa romper a cápsula e formar uma planta completa (Mamiya & Sakamoto, 2001). O uso desta técnica apresenta vantagens porque permite o estabelecimento de pequenos propágulos diretamente em substratos, nas condições *ex vitro* em casa de vegetação, telados ou a campo, em estágios mais precoces do que nos outros sistemas de micropropagação (Piccioni & Standardi, 1995, Sakamoto et al., 1995). Desta forma é possível a aclimatização e o crescimento inicial diretamente em substratos ou com adaptações para suportar as condições de campo, bem como o armazenamento e transporte dos propágulos com alta viabilidade (Piccioni & Standardi, 1995; Standardi & Piccioni, 1998). Porém, uma das maiores dificuldades desta técnica, segundo vários autores, é o estabelecimento de protocolos que possibilitam encapsular brotos derivados de sistemas organogénicos *in vitro* e que apresentam capacidade de sobreviver em condições de ambiente não estéril. As fontes de explantes utilizadas com maior frequência são segmentos de brotos contendo o meristema apical, eixos caulinares unipolares ou segmentos nodais, geralmente obtidos a partir de culturas estabelecidas *in vitro* (Sarkar & Naik, 1998, Singh et al., 2006). As aplicações desta tecnologia permitem a consolidação protocolos em biofábricas onde os fatores economia e tempo está diretamente ligado ao sucesso da produção de mudas em escala comercial (Standardi & Piccioni, 1998, Singh et al., 2006). Esta tecnologia permite ainda a eliminação de etapas da cultura *in vitro* por possibilitar o enraizamento em condições *ex vitro* (Singh et al., 2006).

O uso de propágulos unipolares derivados das culturas *in vitro*, especialmente em espécies micropropagadas por outras rotas morfogénicas que não a embriogênese somática foi abordada por Standardi e Piccioni (1998). Para estes autores três tipos de propágulos podem ser utilizados: 1) Propágulo unipolar natural, que são os microbulbos, microtubérculos, microbrotos e rizomas; 2) Segmentos de brotos, ou micro-estacas, que são os segmentos nodais contendo a gema apical ou axilar e; 3) Propágulos diferenciais, que são os tecidos e órgãos imaturos, tais como os meristemóides, agregados de células e primórdios de gemas. Todas estas estruturas, também podem ser consideradas como UE quando apresenta tamanho adequado para manipulação, viabilidade de conservação e de conversão em planta completa.

Alguns trabalhos indicam que as condições de cultivo que antecedem ao encapsulamento ou a transferência para *in vivo* afetam a eficiência da técnica. Em UE de aipo, a percentagem de conversão foi de 25% em casa de vegetação e de 45% quando a atmosfera do biorreator foi enriquecida com 2% de CO<sub>2</sub> (Onishi et al., 1992). Já em sistemas automatizados, por meio do uso de um aparato encapsulador, Sakamoto et al. (1995) obtiveram 52% de conversão das UE contendo embriões somáticos de cenoura após a descomplexação das cápsulas com KNO<sub>3</sub> (200 mM), as quais foram posteriormente semeadas diretamente em substratos sob ambiente controlado. A percentagem de conversão das UE contendo embriões somáticos de aspargo foi de 72% em substrato não estéril (Mamiya & Sakamoto, 2001).

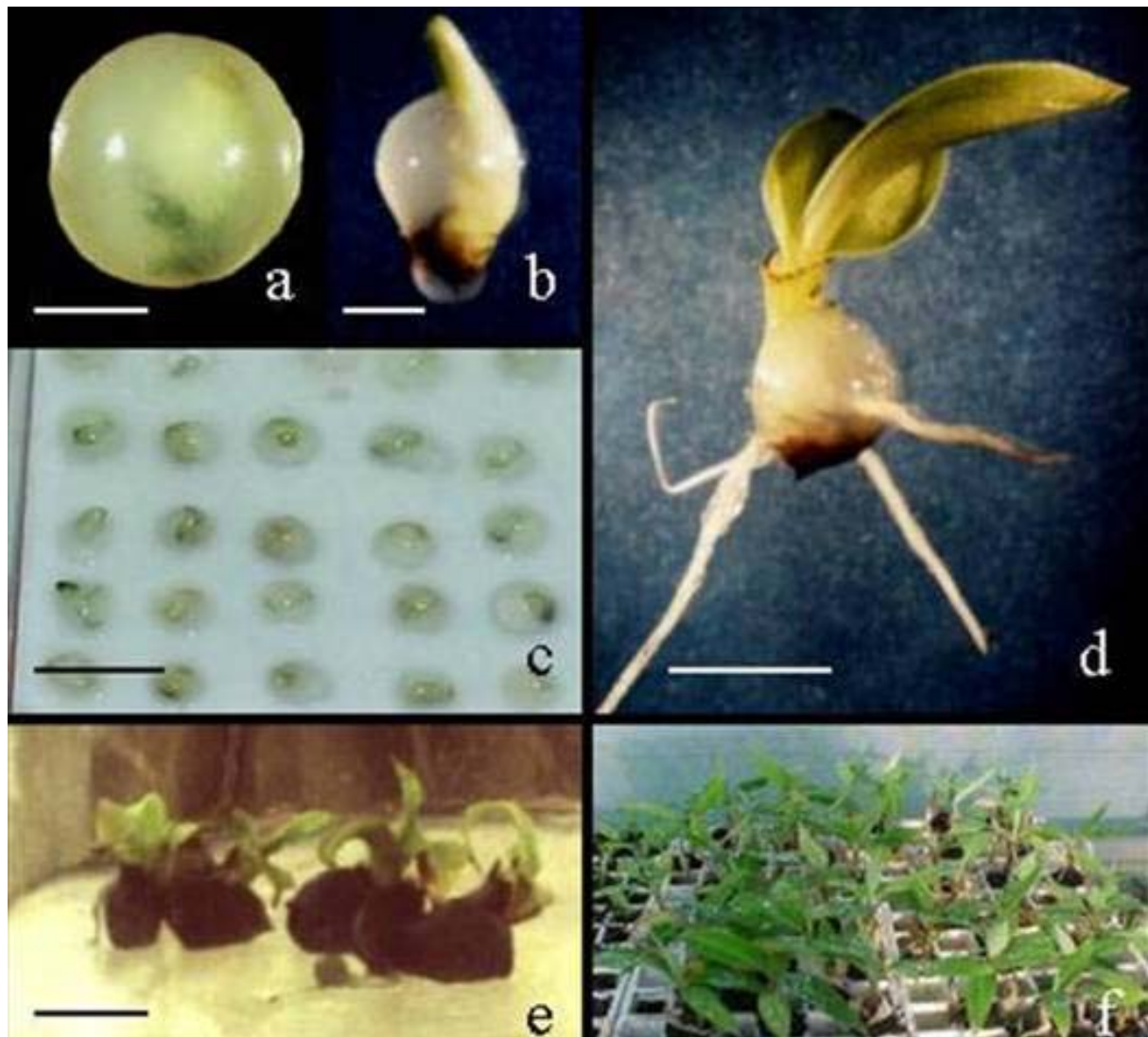
Estudos referentes ao encapsulamento de gemas micropropagadas de espécies lenhosas foram realizados com sucesso para seis espécies frutíferas perenes resultando em 100% de viabilidade, porém o rebrotamento dependeu do meio de cultivo (Piccioni & Standardi, 1995). Para o porta-enxerto de macieira M.26, alto potencial regenerativo foi observado com o encapsulamento de pequenos segmentos de brotos com gemas axilares e da região apical (Piccioni, 1997).

A possibilidade de se obter a conversão ou re-crescimento dos propágulos em condições *ex vitro* tem motivado a execução de estudos com a suplementação nutritiva na matriz de alginato de sódio. Neste aspecto, alguns trabalhos apontam que a matriz de alginato deve ser aperfeiçoada de acordo com o tipo de propágulo e espécie utilizada quanto às quantidades efetivas de macro e micro nutrientes a serem utilizados (Sakar &



Naik, 1998; Pattnaik & Chand, 2000; Nyende et al., 2003; Naik & Chand, 2006 e Singh et al., 2006).

Neste sentido, um melhoramento efetivo no estudo de formação da cápsula matriz de UE foi obtido em diversas espécies. O encapsulamento de brotações de bananeira resultou em uma taxa de conversão de 100% (Ganapathi et al., 1992). Técnicas desenvolvidas no LFDGV/FIT/CCA/UFSC mostraram que microbrotos de bananeira cv. Grand Naine, cuja cápsula matriz foi enriquecida com o meio de cultura MS tiveram o processo de conversão melhorado (Figura 2). Adicionalmente, a adição de carvão ativado e o uso de fungicida Benomyl à matriz de alginato diminuíram a oxidação e a contaminação dos microbrotos, respectivamente (Sandóval-Yugar, 2002).



Fonte: Sandóval-Yugar, (2002).

Figura 2. Processo de conversão de unidades encapsuláveis de *Musa sp* cv. Grand Naine. a) Microbroto encapsulado no sistema de dupla camada (Barra 5 mm); b) Microbroto encapsulado em conversão (Barra 3 mm); c) Microbrotos encapsulados em processo de conversão *ex vitro* em placas gerbox (Barra 3 cm); d) Detalhe de unidade encapsulável bipolar convertida *in vitro* ( Barra 1 cm); e) Unidades encapsuláveis convertidas *in vitro* (Barra 2 cm); f) Microbrotos encapsulados e pré-convertidos *in vitro* em processo de aclimação

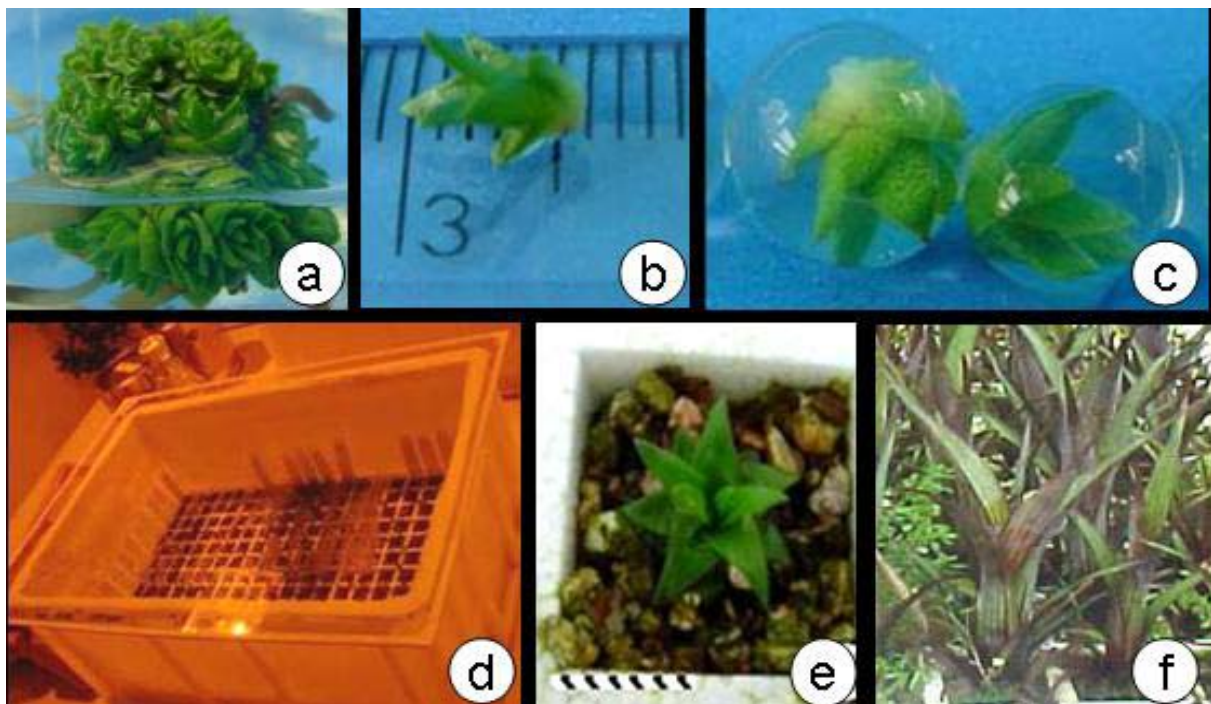
Microbrotos de abacaxizeiro encapsulados em matriz de alginato enriquecida com sais e vitaminas do meio MS, mio-inositol e sacarose, apresentaram 100% de conversão em

meio de cultura MS e quando transferidas a campo foram estabelecidas com sucesso (Soneji et al., 2002). Ainda em bromélias, uso do PBZ em meio de cultura foi eficaz na indução de microbrotos de *Vriesea gigantea* (Figura 3) e *V. fosteriana* (Figura 4). A formação de UE pelo encapsulamento em matriz de alginato permitiu, com sucesso, o estabelecimento *ex vitro* de bromélias em fitotron. Além disto, este procedimento promoveu um incremento no número de folhas nas plantas aclimatizadas (Figura 3, 4), quando são comparadas com o uso de microbrotos não encapsulados (Rech Filho, 2004).

#### Encapsulamento e Conservação de Germoplasma

Uma vantagem adicional do encapsulamento de propágulos vegetativos se relaciona com a conservação das plantas elites ou ameaçadas. A conservação de germoplasma *in vitro* tem como base o estabelecimento de condições que permitem minimizar a taxa de crescimento o que, geralmente é feito por meio da redução da temperatura no ambiente das culturas e/ou com o uso de retardantes de crescimento (Maruyama et al., 1997).

O método de encapsulamento associado ao armazenamento a frio apresenta vantagens na preservação de grande quantidade de material vegetal em condições controladas e em pequeno espaço físico (Figura 5). Além disto, a conservação de germoplasma *in vitro* minimiza a erosão genética (Maruyama et al., 1997, West et al., 2006) e permite a troca de materiais genéticos entre laboratórios de diferentes instituições (Pattnaik & Chand, 2000, Singh et al., 2006).



Fonte: Rech Filho (2004).

Figura 3. Unidades encapsuláveis de *V.gigantea*: a) microbrotos aos 100 dias em meio de cultura MS suplementado com ANA (2  $\mu$ M), BAP (4  $\mu$ M) e PBZ (4  $\mu$ M); b) Microbroto individualizado; c) Microbrotos encapsulados em matriz de alginato de sódio (2%) suplementado com  $\frac{1}{2}$  dos sais de MS; d) Transplante das UE para bandejas com substrato vermiculita e acondicionadas em caixas plásticas com tampa de vidro em fitotron; e) aclimatização e desenvolvimento das muda aos 12 dias e; f) mudas aclimatizadas aos 100 dias de cultivo em túnel com irrigação intermitente. Barra: 1cm.

Vários trabalhos são encontrados na literatura recente associando a técnica de UE com a conservação de germoplasma por meio da criopreservação (West et al., 2006). A alta

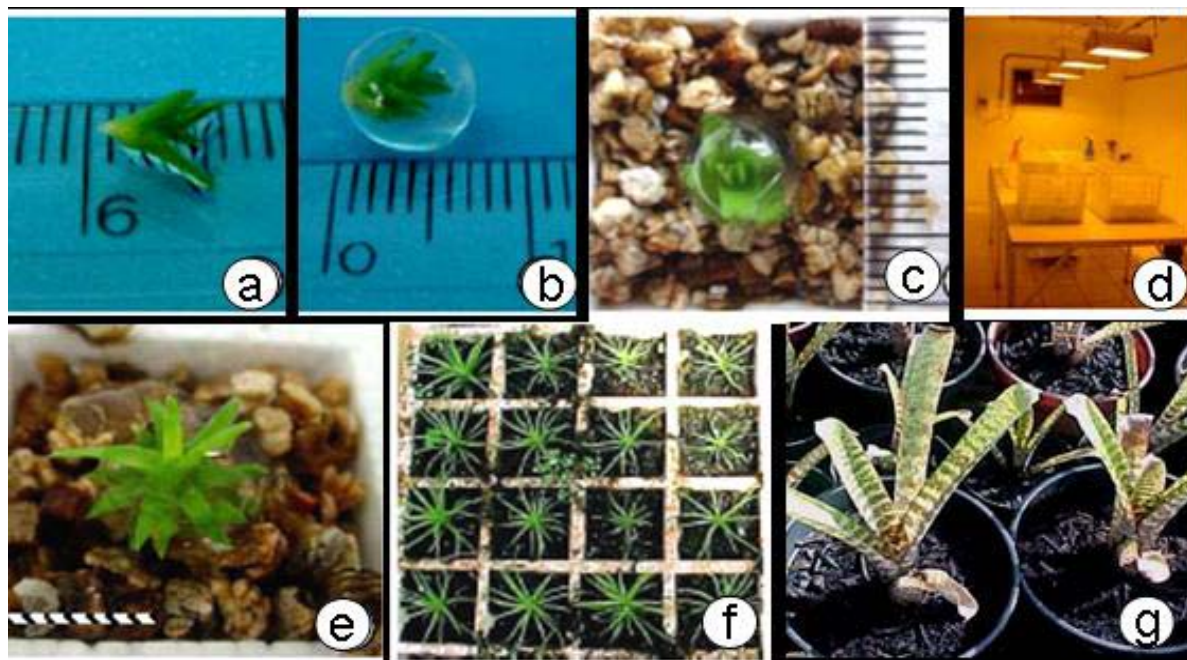


freqüência de regeneração ou de re-crescimento a partir de brotações apicais justifica o emprego desta técnica como um novo sistema de plantio, de troca de germoplasma e armazenamento superando assim os problemas decorrentes da exposição prolongada destas brotações a condições desfavoráveis de sobrevivência (Narula et al., 2007).

A criopreservação tem sido foco de muitos trabalhos e uma das pressuposições da manutenção em baixas temperaturas é a não ocorrência de alterações fenotípicas e genéticas no material vegetal (Hirai & Sakai, 2003). Os avanços desta técnica incluem o emprego de metodologias desidratação e encapsulamento, os quais são considerados como pré-tratamentos fundamentais para o sucesso da criopreservação (Steinmacher et al., 2007).

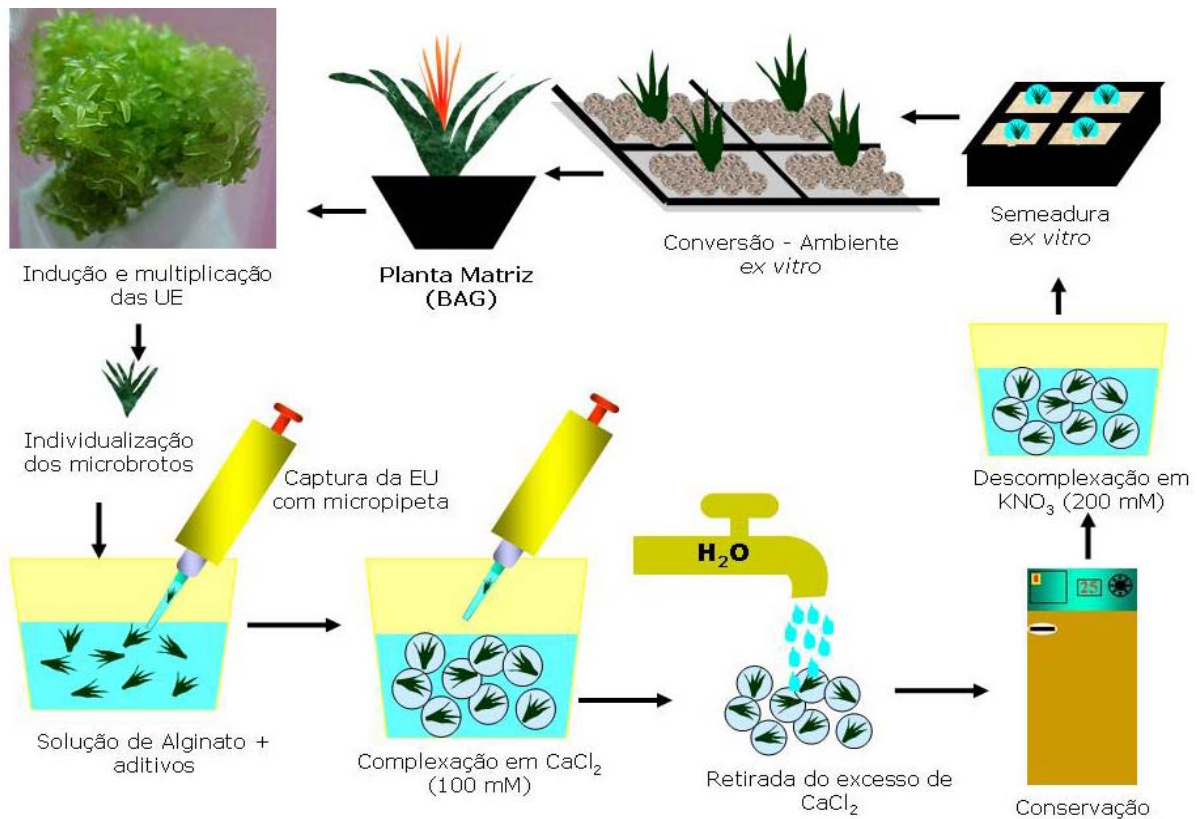
Estas técnicas utilizam o princípio do encapsulamento incorporando estruturas vegetativas em uma matriz de alginato e possibilitando, assim, a conservação da viabilidade por longos períodos de tempo (Maruyama *et al.*, 1997). A técnica do hidrogel de alginato possibilita imobilizar e manter a viabilidade dos propágulos, proporcionando um ambiente atóxico e permitindo mudanças abruptas de temperatura e de pH sem afetar material biológico (Mallón et al., 2007).

O uso de adjuvantes na cápsula matriz pode permitir tanto a conservação da viabilidade do propágulo quanto à redução gradativa dos processos metabólicos, permitindo um aumento da resistência às baixas temperaturas. É recomendado também, um pré-tratamento com ABA ou a adição de manitol ou paclobutrazol (PBZ) na cápsula matriz, para aumentar a tolerância à desidratação e às baixas temperaturas. A desidratação é considerada um passo crítico para a manutenção da viabilidade e integridade das células e por evitar a formação de cristais de gelo (Engelmann, 2004). Uma das condições ótimas para recuperação dos embriões zigóticos de pupunha criopreservados incluem o encapsulamento e desidratação para 20% conteúdo de água (Steinmacher et al., 2007).



(Rech Filho, 2004).

Figura 4. Unidades encapsuláveis de *V. fosteriana*: a) Microbrotos individualizados e induzidos em meio de cultura MS suplementado com PBZ (4  $\mu$ M); b) Microbroto encapsulado em matriz de alginato de sódio (2%) suplementado com  $\frac{1}{2}$  dos sais de MS; c) UE transplantada em substrato vermiculita; d) UE mantidas em fitotron; e) Conversão das UE após 25 dias; f) Mudras transplantadas e cultivadas em substrato composto por casca de arroz carbonizada (50%) e suplemento mineral Turfa Fértil (50%) e mantidas em túnel com irrigação intermitente e; g) Transplante para vasos e mantidas em casa de vegetação. Barra: 1cm.



Fonte: Adaptado de Rech Filho (2004).

Figura 5. Representação esquemática do protocolo de UE a partir de microbrotos de bromélias no LFDGV/UFSC.

Várias inovações têm sido aplicadas à técnica de encapsulamento (Figura 6) tais como o estabelecimento do sistema de encapsulamento em cápsulas farmacêuticas (Dupuis et al., 1994). Outras inovações como a cápsula em dupla camada (Figura 7) foi sugerida por Patel et al. (2000). Esta técnica consiste em suspender o material vegetal em solução de carboximetilcelulose e complexar em  $\text{CaCl}_2$  sobre uma solução de alginato de sódio em agitação, resultando na formação de uma cápsula com matriz interna líquida. Esta técnica foi testada com cenoura por estes autores e resultou em 100% de emissão de radícula das unidades encapsuladas.

O uso das técnicas de encapsulamento de estruturas vegetativas é considerado de baixo custo. Esta técnica tem demonstrado ser promissora para a conservação de germoplasma de espécies ameaçadas, especialmente aquelas que são intolerantes às baixas temperaturas como o musgo *Splachnum ampullaceum* (Mallón et al., 2007).



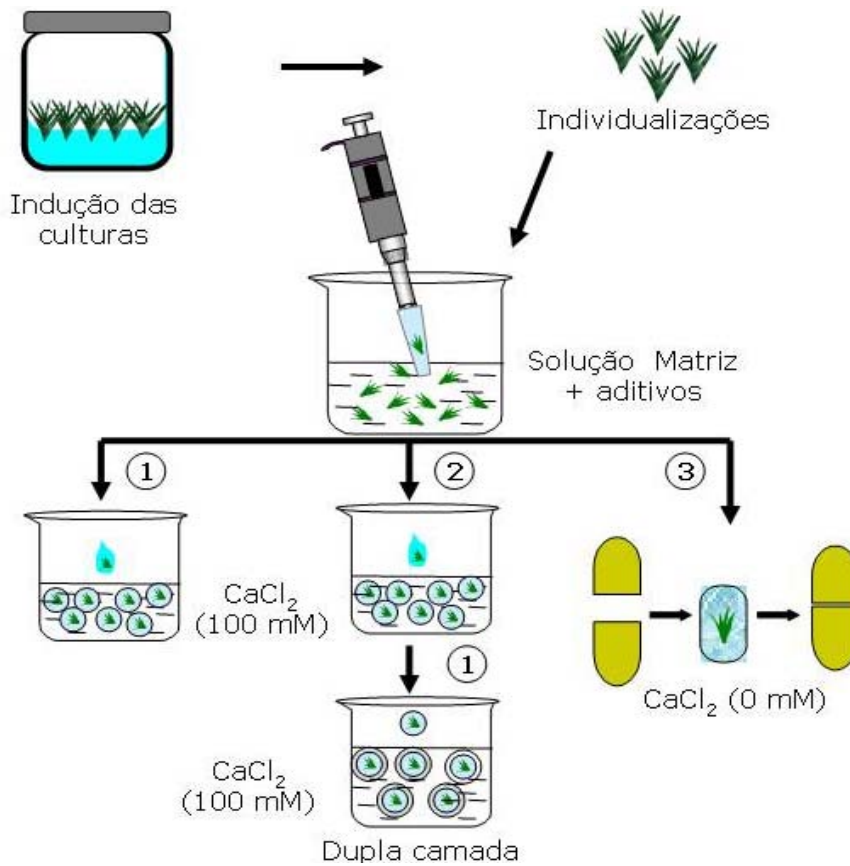
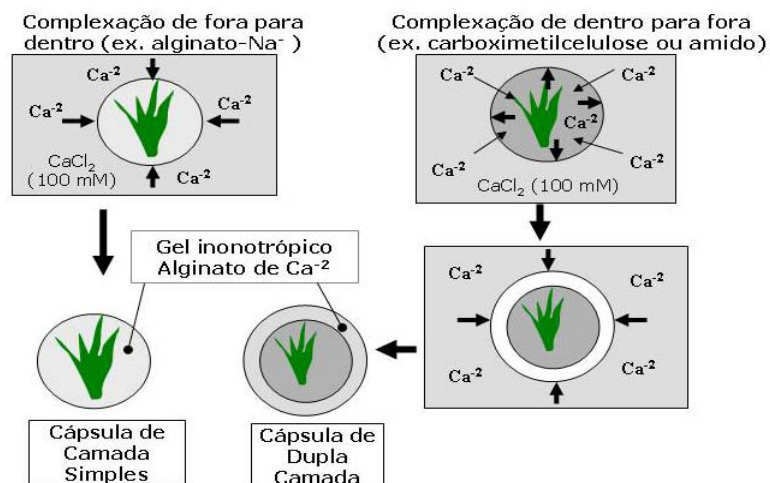


Figura 6. Representação esquemática para a confecção da matriz da cápsula por diferentes sistemas: (1) Alginato de sódio complexado em CaCl<sub>2</sub> (Onishi et al., 1994); (2) cápsula do tipo dupla camada: interna de carboximetilcelulose ou amido complexando de “dentro para fora” em CaCl<sub>2</sub> e camada externa de alginato de cálcio (Patel et al., 2000) e; (3) cápsulas farmacêuticas (Dupuis et al., 1994) com matriz de alginato ou amido.



Fonte: Adaptado de Patel et al. (2000).

Figura 7. Representação esquemática da formação de camada simples x dupla camada na formação do gel inotrópico de alginato de cálcio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAPAT, VA; MATHRE, M, RAO, PS. Propagation of *Morus indica* L. (Mulberry) by encapsulated shoot buds. **Plant Cell Rep.** v.6, p.393–395, 1987.
- BAPAT, V.A.; RAO, P.S. *In vivo* growth of encapsulated axillary buds of mulberry (*Morus indica* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 20, p.69–70, 1990.
- CANGAHUALA-INOCENTE, G. C.; DAL VESCO, L. L.; STEINMACHER, D.A., GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis in pineapple guava (*Feijoa sellowiana* Berg): Induction, Conversion and Artificial Seeds. **Scientia Horticulturae.** v.111, p. 228–234, 2007.
- DAL VESCO, L. L.; TORRES, A. C.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Regulation of somatic embryogenesis in *Feijoa sellowiana* Berg and the technology of synthetic seeds. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.1, n.1, p.37 - 46, 2005.
- DUPUIS, J-M.; ROFFAT, C.; Derose, R.T.; MOLLE, F. Pharmaceutical capsules as a coating system for artificial seeds. **Bio/Technology**, v.12, p.385-389, 1994.
- ENGELMANN, F. Plant cryopreservation: progress and prospects. **In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant**, v. 40, p.427–433, 2004.
- GANAPATHI, T. R.; SUPRASANNA, P.; BAPAT, V.A.; RAO, P.S. Propagation of banana through encapsulated shoot tips. **Plant Cell Reports**, v. 11, p.571-575, 1992.
- GRAY, DJ, COMPTON, ME; HARRELL, RC; CANTLIFFE, DJ. Somatic embryogenesis and the technology of synthetic seed. In: BAJAJ, YPS (Ed.) **Biotechnology in Agriculture and Forestry, Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed I.** Berlin, Heidelberg Springer, v. 30, p. 127–151, 1995.
- GRAY, D.J.; Stepan-Sarkissian; FOWLER, M.W. Biochemistry of forest tree species in culture In.: BONGA, J.M; DURZAN, D. J. **Cell and Tissue culture in Forestry.** v.2, Dordrecht: Martinus Nijhoff Pu. p.31-60, 1987.
- Gray, D.J.; Purohit, A. Somatic embryogenesis and development of synthetic seed technology. **Critical Reviews in Plant Sciences.** v.10, p.33–61, 1991.
- Guerra, M. P.; Dal Vesco, L.L.; Ducroquet, J.P.H.J.; Nodari, R.O.; Reis, M.S. Somatic embryogenesis in *Feijoa sellowiana*: Genotype Response, Auxinic shock and Synthetic Seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.2, p.117–128, 2001.
- Guerra, M. P.; Torres, A. C.; Teixeira, J. B. Embriogênese Somática e Sementes Sintéticas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A (Eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, Brasília: Embrapa, v.2, p.533–568, 1998.
- HIRAI, D.; SAKAI, A. Simplified cryopreservation of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by optimizing conditions for osmoprotection. **Plant Cell Rep**, v.21, p.961–966, 2003.
- MALLÓN, R.; BARROS, P.; LUZARDO, A.; GONZÁLEZ, M.L. Encapsulation of moss buds: an efficient method for the in vitro conservation and regeneration of the endangered moss *Splachnum ampullaceum*. **Plant Cell Tiss Organ Cult.** v. 88, p. 41–49, 2007.
- MAMIYA, K.; SAKAMOTO, Y. A method to produce encapsulatable units for synthetic seeds in *Asparagus officinalis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.64, p.27–32, 2001.

MARUYAMA, E.; KINOSHITA, I.; ISHII, K.; OHBA, K.; SAITO, A. Germoplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart., and *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don., by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25°C. **Plant Cell Reports**, v.16, p.393-396, 1997.

NAIK, S.K.; CHAND, P. K. Nutrient-alginate encapsulation of in vitro nodal segments of pomegranate (*Punica granatum* L.) for germplasm distribution and exchange **Scientia Horticulturae**, v.108, p. 247–252, 2006.

NARULA, A.; KUMAR, S.; SRIVASTAVA, P. S. Genetic fidelity of in vitro regenerants, encapsulation of shoot tips and high diosgenin content in *Dioscorea bulbifera* L., a potential alternative source of diosgenin. **Biotechnol. Letters**, v. 29, p.623–629, 2007.

NIEVES, N.; LORENZO, J.C.; BLANCO, M.A.; GONZÁLEZ, J.; PERALTA, H.; HERNÁNDEZ, M.; SANTOS, R.; CONCEPCIÓN, O.; BORROTO, C.G.; BORROTO, E.; TAPIA, R.; MARTINEZ, M.E.; FUNDORA, Z.; GONZÁLEZ, A. Artificial endosperm of Cleopatra tangerine zygotic embryos: a model for somatic embryo encapsulation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.54, p.77–83, 1998.

NYENDE, A.B.; SCHITTENHELM, S.; MIX-WAGNER, G.; GREEF, G-M. Production, storability, and regeneration of shoot tips of potato (*Solanum tuberosum* L.) encapsulated in calcium alginate hollow beads, **In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant**, v.39, p.540–544, 2003.

ONISHI, N.; MASHIKO, T.; OKAMOTO, A. Cultural system producing encapsulatable units of synthetic seeds in celery. **Acta Hort** v.319, p.113-118, 1992.

ONISHI, N.; SAKAMOTO, Y.; HIROSAWA, T. Synthetic seeds as an application of mass production of somatic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.39, p. 137–145, 1994.

PATEL, A.V.; PUSCH, I.; MIX-WAGNER, G.; VORLOP, K.D. A novel encapsulation technique for the production of artificial seeds. **Plant Cell Reports**. v. 19, p.868–874, 2000.

PATTNAIK, S.; CHAND, P.K. Morphogenic responses of the alginate-encapsulated axillary buds from *in vitro* shoot cultures of six mulberries. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.60, p.177-185, 2000.

PHILLIPS, G.C. Invited review: in vitro morphogenesis in plants – recent advances. **In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant**, v.40, p.342–345, 2004.

PICCIONI, E. Plantlets from encapsulated micropropagated buds of M.26 apple rootstock. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.47, p.225-260, 1997.

PICCIONI, E.; STANDARDI, A. Encapsulation of micropropagated buds of six wood species. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.42, p.221-226, 1995.

RECH FILHO, A. Biorreatores de imersão temporária e unidades encapsuláveis como ferramentas na consolidação de protocolos de micropropagação de bromélias. 2004, 74f. **Dissertação**. (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - CCA/UFSC, 2004.

REDENBAUGH, K.; FUJII, J. A.; SLADE, D. Encapsulated plant embryos. In: MIZRAHI, A. **Biotechnology in agriculture**, v. 9, p. 225-248, 1988.

REDENBAUGH, K.; NICHOL, J. KOSSLER, M.E.; PAASCH, B. Encapsulation of somatic embryos for artificial seed production. **In Vitro Cell Dev. Biol.**, v.20, p.256, 1984.

SAKAMOTO, Y.; ONISHI, N.; HIROSAWA, T. Delivery systems for tissue culture by encapsulation. In: FENNZ, A.; TOYOKI, C.; SCHMIT, M. A.; AITKEN-CHRISTIE, J.; KOZAI, T.; SMITH, M.L. (Eds). **Automation and environmental control in plant tissue culture**, Dordrecht Boston London: Kluwer Academics Publishers, 1995. p.215-243.

SANDÓVAL-YUGAR, E.W. **Elucidación dos pontos de controle da morfogênese e otimização de protocolos regenerativos *in vitro* de *Musa sp.* Cv. Grand Naine**. 2002, 115f. Dissertação. (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - CCA/UFSC, 2002.

SARKAR, D.; NAIK, P. S. Synseeds in potato: an investigation using nutrient-encapsulated in vitro nodal segments. **Scientia Horticulturae**, v. 73, p. 179–184, 1998.

SINGH, A.K.; SHARMA, M.; VARSHNEY, R.; AGARWAL, S.S.; BANSAL, K.C. Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn, a medicinally important plant species. **In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant**, v.42, p.109–113, 2006.

SONEJI, J.R.; RAO, P.S.; MHATRE, M. Germination of synthetic seeds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) **Plant Cell Reports**, v.20, p.891-894, 2002.

STANDARDI, A.; PICCIONI, E. Recent perspectives on synthetic seed technology using nonembryogenic in vitro-derived explants. **International Journal of Plant Sciences**. v.159, p.968-978, 1998.

STEINMACHER, D.A.; SALDANHA, C.W.; CLEMENT, C.R.; GUERRA, M.P. Cryopreservation of peach palm zygotic embryos. **CryoLetters**, v.28, n.1, p.13-22, 2007.

WEST, T.P.; RAVINDRA M. B.; PREECE, J.E. Encapsulation, cold storage, and growth of *Hibiscus moscheutos* nodal segments. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, v.87, p.223–231, 2006.

#### PALAVRAS CHAVE:

Semente sintética, Unidades Encapsuláveis, Micropropagação.

## Melhoramento de *Oncidium flexuosum* para flor de corte.

Ikuta, Hiroshi<sup>1</sup>; Yabase, Marta Kazue Kunieda<sup>2</sup>; Brandt, Maria Cecília Piola<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC) - Núcleo de Ciências Ambientais (NCA), Av. Dr. Candido Xavier de A. Souza, 200, Centro Cívico, CEP: 08780-911 Mogi das Cruzes, SP, fone (11) 4798-7094, e.mail: [hiroshi@umc.br](mailto:hiroshi@umc.br); <sup>2</sup>Engenheira Agrônoma - Associação dos Floricultores da Região da Via Dutra (AFLOLD) Av. PL do Brasil, Km 4,5, Arujá, SP, C.P. 172, CEP: 07.400-970, (11).4655-4227, e.mail: [martayabase@terra.com.br](mailto:martayabase@terra.com.br) <sup>1</sup>Professora da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC), fone (11) 4798-7094, e.mail: [brandt@umc.br](mailto:brandt@umc.br).

### INTRODUÇÃO

A vasta área hoje ocupada pela região da grande São Paulo e municípios vizinhos, já foi no passado o habitat natural de muitas espécies de orquídeas, entre estas se destacava as espécies pertencentes ao gênero *Oncidium* que são nativas da Mata Atlântica. Dentre estas áreas a região do Alto Tiete onde predomina o clima úmido e temperaturas noturnas amenas propiciou o desenvolvimento e o estabelecimento deste gênero gerando uma ampla diversidade genética.

Entretanto muitas espécies desapareceram com o desmatamento de espécies de árvores nativas que são suportes típicos de determinadas espécies deste gênero. No entanto ainda hoje podemos encontrar com freqüência plantas de *Oncidium flexuosum* Sims. conhecida popularmente como “chuva ou chuveiro de ouro”, como uma das plantas remanescentes e resistentes que desenvolvem-se vigorosamente até nas ramas das árvores frutíferas exóticas cultivadas tais como laranjeiras, nespereiras, e caquizeiros ou ainda notadamente em troncos de *Pinus* asiáticos (pinheiro japonês) encontrados frequentemente em quintais das pequenas chácaras da região no município de Mogi das Cruzes e seus arredores.

A região de Mogi das Cruzes é conhecida pela produção de várias espécies de orquídeas que são comercializadas em vasos e que apresentam épocas típicas de florescimento. Porém visando a busca de novas opções para o mercado de flores, alguns produtores, tiveram a idéia de lançar no mercado a espécie *O. flexuosum* como flor de corte, aproveitando-se da rusticidade e adaptabilidade para cultura em escala comercial. O uso desta flor de corte destaca-se pelos arranjos e decorações nobres, juntamente com outros gêneros de orquídeas, uma vez que apesar de pequenas, as flores graciosas de amarelo vivo, e em grande número sustentadas por uma haste floral longa e firme, servem perfeitamente como complemento nos arranjos florais e em *bouquet*.

Para tanto produtores locais, a mais de 20 anos, iniciaram a produção de *O. flexuosum* a partir de materiais coletados em áreas de ocorrência natural em Mogi das Cruzes e região. O processo de propagação das plantas por divisão de touceiras ao longo destes anos conduziu a uma seleção de plantas mais vigorosas para as condições de cultivo desenvolvido pelos produtores.

Entretanto apesar da importância comercial adquirida ao longo destes anos, os estudos específicos realizados sobre o melhoramento de *O. flexuosum* são restritos e as informações existentes no Brasil são voltadas para as classificações e descrições das plantas naturais. Dentro deste contexto a partir de 2002 estabeleceu-se uma parceria entre pesquisadores da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC) em colaboração com os técnicos da Associação dos Floricultores da Via Dutra (AFLOLD) e com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), para a realização de um programa de melhoramento genético do gênero *Oncidium* para o mercado de flor de corte.

Com o intuito de obter maiores informações sobre a fenologia e as condições de cultivo, foram iniciados os estudos a partir de visita aos principais produtores das regiões do Alto Tiete e Vale do Paraíba que conduziram os trabalhos de domesticação, seleção,

técnicas de cultivo, e até os cruzamentos entre as diferentes populações em condições mais avançadas e com a participação dos técnicos da AFLORD.

Segundo as informações obtidas, as populações das plantas cultivadas atualmente são procedentes de dois grupos principais que podem ser diferenciadas tanto do ponto de vista da procedência, como também em função do período de florescimento que são:

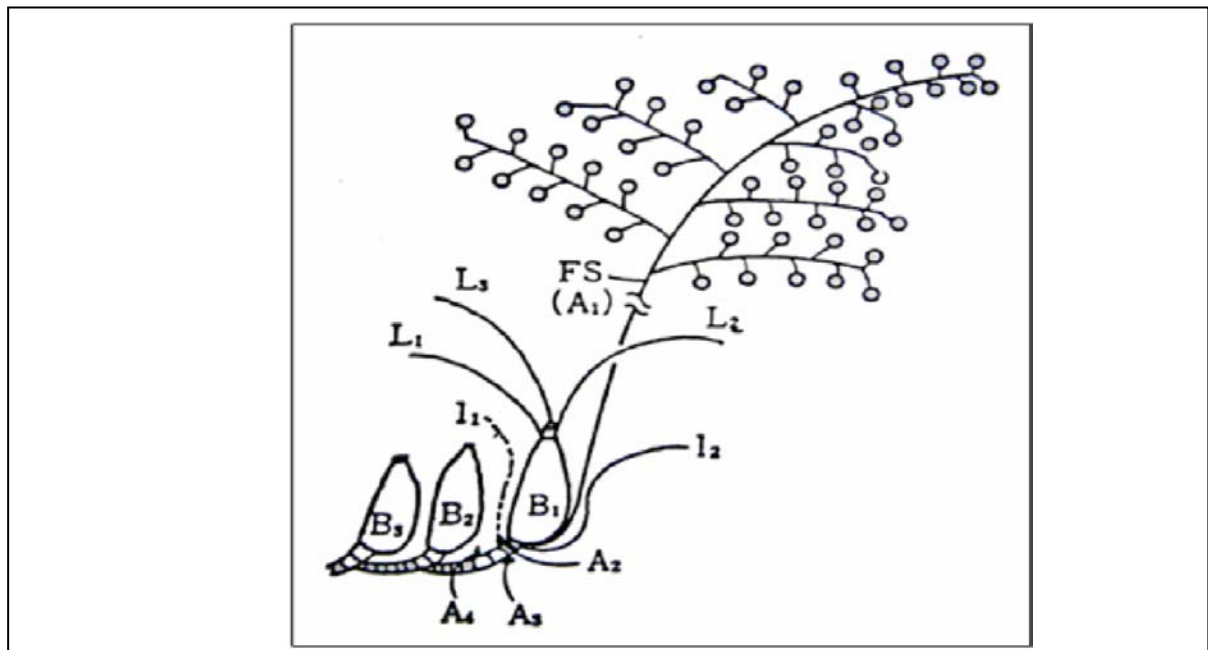
I.1 – Plantas do 1º. Grupo: são plantas que deram origem à cultura comercial e que foram coletadas na região serrana principalmente no município de Mogi das Cruzes e nos municípios vizinhos. Suas características podem ser definidas em: a) Época de florescimento: concentra-se nos meses de novembro e dezembro (o fim da primavera até o início de verão); b) A época de florescimento sofre os efeitos da temperatura: - quando as culturas se desenvolvem em regiões mais frias apresentam um atraso considerável na época de florescimento (atingindo até o meado de verão);

I.2 – Plantas do 2º. Grupo: plantas provenientes da região litorânea (norte a sul do Estado de São Paulo) que apresentam o período de florescimento entre o outono e o inverno, diferente das plantas nativas da região de Mogi das Cruzes. A propagação das mesmas foi realizada por sementeiras *in vitro* o que possibilitou a reconstituição de populações do 2º. Grupo e a distribuição das mudas iniciando uma produção da mesma espécie. As características das plantas do 2º. Grupo são: a) Época de florescimento: ocorreu uma ampla segregação entre as plantas, iniciando a partir de abril e prosseguindo gradativamente até o mês de setembro; b) Há uma oscilação considerável de produção de mês para mês em função da segregação do material.

Com estes materiais foi possível iniciar os estudos sobre os métodos de controle da época de florescimento de *O. flexuosum* e a seleção de plantas para a produção de híbridos entre plantas selecionadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

I) Para iniciar o estudo sobre a morfologia e fisiologia das gemas axiais das plantas e o desenvolvimento das gemas florais (Figura 1) de acordo com as condições ambientais foram utilizadas plantas dos Grupos (1 e 2) das áreas de produção dos produtores.



Fonte: Tanaka (1985).

Figura 1. Ilustração da planta *Oncidium boissiensense* referente às qualidades fenotípicas, que pode ser utilizada para as várias espécies de *Oncidium*: L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> (folhas verdadeiras), l<sub>1</sub> e l<sub>2</sub> (folhas desenvolvidas em nódulos anteriores a pseudobulbo); B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> (pseudobulbos); FS (haste floral) e A<sub>1</sub> à A<sub>4</sub> (gemas axiais).



Estabelecendo assim a forma de desenvolvimento das gemas axiais nos dois grupos que apresentam a fase inicial do desenvolvimento idêntica em relação às gemas axiais. Em geral a gemas A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> são gemas reprodutivas destinadas à formação de hastes florais, sendo a A<sub>2</sub> a gema de reserva que permanece em estado de dormência e entrará em atividade caso aconteça algum dano durante o desenvolvimento da gema A<sub>1</sub>. As gemas A<sub>3</sub> e A<sub>4</sub> são vegetativas destinadas à formação de novos caules.

#### II. Influencia do fotoperíodo e da temperatura sobre a época de florescimento.

Após o estabelecimento da forma de desenvolvimento passou-se a verificar a influencia de fotoperíodo e temperatura no desenvolvimento das gemas axiais. A partir do solstício de inverno com a aproximação da primavera tem início o fotoperíodo crescente, acompanhado também pelo aumento da temperatura do ar. No caso específico de *O. flexuosum*, o início do desenvolvimento dos primórdios das gemas florais é independente do desenvolvimento das hastes florais. A formação dos primórdios das gemas florais ocorre somente com o fotoperíodo crescente, já relativamente próximo ou logo após o equinócio de primavera ao passo que o desenvolvimento das hastes florais ocorre independentemente do fotoperíodo, podendo ocorrer com a temperatura relativamente mais baixa ao redor de 10°C

Dentro deste contexto foi realizado um ensaio com a intenção de atrasar o período de florescimento das plantas do Grupo 1 por meio do controle do fotoperíodo. Para tanto, as plantas de três populações diferentes foram cobertas com filme plástico preto diariamente a partir das 17:00 horas a 7:00 horas do dia seguinte a partir de 15 de agosto, época em que foi observado o início de desenvolvimento da gema reprodutiva A<sub>1</sub>, durante os períodos de 20, 30 e 40 dias. Os resultados do ensaio mostraram que é possível atrasar em parte o período de florescimento, mas não o tempo suficiente para cobrir totalmente o período de entressafra.

#### III. Cruzamentos entre populações de *O. flexuosum*.

As plantas de *O. flexuosum* possuem geralmente o desenvolvimento caracterizado pela dominância da gema apical. Consequentemente apesar de possuir gemas axilares em todos os nódulos quando ocorre a formação de uma haste floral na gema apical, há uma limitação formando uma só haste floral a partir do rizoma. No entanto durante 2002 recebemos da AFLORD uma população de *O. flexuosum* constituída de plantas irmãs, sendo muitas delas com a ausência da predominância apical, produzindo duas a mais hastes florais a partir do mesmo rizoma. A população recebeu o prefixo SDA (sem predominância apical) e despertou o interesse devido a sua alta produtividade

Os ensaios visando o melhoramento do padrão das plantas e a produção durante o período de entressafra, por meio de cruzamentos entre as populações de *O. flexuosum* selecionadas foram programados em 3 etapas, todas realizadas durante o ano de 2002:

- 1ª. Etapa: foram realizamos 158 cruzamentos dentre as plantas selecionadas do 1º. Grupo, dentre as áreas de produção de *O. flexuosum*. Todos os cruzamentos realizados foram altamente compatíveis. As sementeiras foram executadas *in vitro* no laboratório da AFLORD e 200 mudas de cada cruzamento foram produzidas para o teste das progênes. As mudas aclimatadas foram transplantadas em vasos individuais e somente 5 anos após os cruzamentos é que os pseudobulbos atingiram o seu ponto máximo de desenvolvimento para uma avaliação segura e efetiva de produção. Dos 158 cruzamentos realizados foram selecionados apenas 15 cruzamentos, que produziram boas progênes e dentre estas serão escolhidas 10 plantas para reconstituição de uma população selecionadas do 1º. Grupo.

- 2ª. Etapa: foram selecionadas 50 plantas do 2º. Grupo provenientes das áreas de produção comercial e também uma população de 30 plantas denominadas "sem dominância apical" (SDA), provenientes de um cruzamentos realizado na AFLORD cujas a plantas apresentavam tendências para a produção de duas hastes a partir do mesmo caule, graças a característica própria de algumas plantas. O fato foi atribuído à ausência de predominância apical da gema reprodutiva A<sub>1</sub> sobre A<sub>2</sub>, característica esta desejável para o aumento da produtividade. Foram realizados 185 cruzamentos dentre as plantas do 2º. Grupo sendo 150 cruzamentos entre as plantas coletadas dos campos de produção e 35 cruzamentos entre as plantas irmãs do grupo SDA. Dos 185 cruzamentos realizados foram

selecionados 15 cruzamentos que produziram melhores progênies das quais estão sendo escolhidas 15 plantas para reconstituição de uma nova população de 2º. Grupo.

- 3ª. Etapa: Os cruzamentos realizados entre as plantas do 1º. e 2º. Grupo: foram realizados 140 cruzamentos entre as plantas do 1º. e 2º. Grupo. Dos 140 cruzamentos realizados foram selecionados 15 cruzamentos dos quais serão escolhidas 15 plantas para constituição de uma nova população do 3º. Grupo.

#### IV) Autofecundação

Os cruzamentos entre as plantas irmãs do grupo SDA (sem dominância apical) não permitiram as interpretações sobre herança das plantas que produziram duas hastes florais a partir do mesmo pseudobulbo, uma vez que sendo originadas de polinização cruzada são extremamente heterozigotas.

Para melhor compreensão sobre o fato o método de autofecundação seria um processo imediato que expõe a vista do selecionador todos os genótipos recessivos. Assim sendo com o intuito de conhecer os genótipos interessantes para o programa de melhoramento, foram realizadas autofecundações em todas as plantas coletadas. No entanto, não se conseguiu sucesso em nenhuma planta.

A autofecundação em planta autoincompatível pode ser obtida aproveitando-se a pseudofertilidade que ocorre em condições especiais. Um dos métodos é a polinização em botão largamente utilizada em programas de melhoramento em crucíferas (IKUTA, 1966; IKUTA, 1988).

Para tanto fez-se uma tentativa de pseudofertilidade em plantas de *O. flexuosum* retirando-se as políneas das flores em condições de antese e colocamos na cavidade estigmática de 10 flores e 10 botões da mesma planta. O mesmo procedimento foi realizado em 100 plantas selecionadas. Novamente não foi constatado nenhum resultado autocompatível por meio de autofecundação em botões entre as plantas de *O. flexuosum*.

Como o assunto envolve interesse não só em relação à produtividade mas também com a produção durante a entressafra de janeiro a abril, optou-se em prosseguir o ensaio com as plantas do 2º. Grupo em busca de plantas mais precoces e mais produtivas. Plantas com florescimento precoce do 2º. Grupo foram selecionadas e propagadas por meio da cultura de tecidos por técnicos da AFLORD, que reconstituíram diversos grupos uniformes e designados cada população respectivamente de: F-6; F-10; F-13. As plantas do mesmo clone foram numeradas e cruzadas entre si, mantendo-se um pai comum e uma mãe comum.

#### V) Estudo da variabilidade genética.

Para estudo da variabilidade genética existente nos Grupos 1 e 2 de *O. flexuosum* foi utilizada a técnica marcadores moleculares RAPD (TSAI et al., 2002) Para isso, foi eleito um grupo de plantas que englobam os dois grupos, bem como plantas oriundas de cruzamentos já realizados entre as variedades. Plantas pertencentes a outras espécies de *Oncidium* também foram incluídas no estudo, para compor o agrupamento das plantas necessário para a análise da variabilidade genética segundo os princípios adotados em taxonomia numérica (ROHLF, 1988), e também que poderiam ser utilizadas em cruzamentos interespecíficos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os estudos com a morfologia e fisiologia das gemas axiais demonstraram a independência do desenvolvimento dos primórdios das gemas florais e o crescimento das hastes florais que puderam ser constatados analisando o desenvolvimento dos mesmos em plantas do 1º. e 2º. Grupo. Em plantas do 1º. Grupo, mesmo já durante o inverno a temperatura noturna ao redor de 10°C provoca o desenvolvimento da haste floral que já no mês de agosto pode atingir o desenvolvimento máximo ao redor de um metro. No entanto, as gemas reprodutivas que ainda não tiveram contacto com o fotoperíodo crescente exigido, espera a chegada do equinócio de primavera para iniciar a formação das gemas florais nas regiões axiais (das ramas secundárias) já desenvolvidas das hastes florais.



Em plantas do 2º. Grupo ocorre o desenvolvimento exatamente inverso entre hastes e as gemas florais. Logo após a brotação, o fotoperíodo já se encontra na fase crescente provocando a formação dos primórdios das gemas florais, no entanto, não ocorre o desenvolvimento da haste floral por que a temperatura ambiental é muita acima de 10º. C razão por que a planta espera a chegada da temperatura mais amena.

Outra característica de *O. flexuosum* é que a formação das gemas reprodutivas é prejudicada quando as temperaturas estão acima de 30 °C razão porque as plantas florescem durante novembro – dezembro na região de Mogi das Cruzes, onde a temperatura pode atingir facilmente 30º.C durante o mês de janeiro. Já na região litorânea já no início do mês de setembro pode atingir esse limite e estamos sugerindo que esta é a razão por que encerra o florescimento durante o mês de agosto. Apesar de não tolerar as temperaturas acima de 30º. C, as gemas reprodutivas também são suscetíveis a geadas razão porque na região serrana as plantas esperam a passagem do inverno para a formação das gemas florais ao passo que na região litorânea não há a necessidade dessa espera, devido à temperatura ambiente ser mais elevada que a região serrana.

Essas características próprias de desenvolvimento das gemas florais de *O. flexuosum* ocorreram naturalmente em função às adaptações as condições naturais por meio de muitas gerações (seleção natural).

O ensaio mostrou que tanto as populações do 1º. Grupo com também do 2º. Grupo são constituídas por plantas com uma capacidade ampla de adaptações as condições microclimáticas regionais, apresentando variações consideráveis no período de florescimento. As verificações da alta capacidade de adaptação das plantas tanto dentro do 1º. Grupo como também do 2º. Grupo às diferentes condições de microclima e considerando ainda o fato de que a reproduçãoes sexuadas na natureza sempre foram efetuadas aleatoriamente pelos insetos pode-se concluir que os cruzamentos entre as plantas devidamente selecionadas seriam mais eficiente não só para produção durante entressafra mas também e principalmente para obtenção de plantas com padrão de qualidade superior.

Os resultados obtidos a partir de teste das progênies de 483 cruzamentos realizados entre as plantas selecionadas de *Oncidium flexuosum* nas 3 etapas pode-se observar os seguintes pontos principais: a) Sobre as manifestações de heterose: de maneira geral os cruzamentos realizados entre as plantas selecionadas, mesmo entre as plantas do mesmo grupo produziram plantas mais vigorosas que as plantas paternas. Entretanto esse fato não é novidade uma vez que na natureza os cruzamentos são aleatórios por meio de insetos polinizadores que afetam os cruzamentos sem seleções entre as plantas que florescem durante o mesmo período. No entanto chama a atenção sobre a importância do programa de melhoramentos preliminares que precedem à reconstituição de uma população, por meio da cultura de tecidos meristemáticos. Outro fato interessante foi à manifestação da heterose mais acentuada nos cruzamentos entre os diferentes grupos que dentro dos mesmos. Esses resultados coincidem com os resultados obtidos durante o programa de melhoramento de milho em que os cruzamentos entre as plantas de procedência diversas apresentaram a capacidade de combinação mais acentuada (IKUTA & PARTENIANI, 1970); b) Os períodos de florescimento de *Oncidium flexuosum* são caracterizados entre novembro a dezembro em plantas do 1º. Grupo e de abril a agosto em plantas do 2º. Grupo. Conseqüentemente existem dois períodos de entressafras: o primeiro compreende o período de janeiro a abril que corresponde ao fim da safra das plantas do 1º. Grupo e o início da florada das plantas do 2º grupo e o segundo período que vai de agosto a novembro, ou seja, entre o fim da safra do 2º. Grupo e o início da safra do 1. Grupo. Os resultados obtidos mostraram que é possível cobrir a segunda entressafra, por meio de cruzamentos entre as plantas do 1º. Grupo com as do 2º. Grupo. Com relação a primeira entressafra a ampla variabilidade dos resultados de cruzamentos dentre as plantas do 2º. Grupo demonstrou a possibilidade da cobertura parcial da mesma.

Baseando-se ainda na sensibilidade das plantas do 1º. Grupo em relação ao fotoperíodo para formação dos primórdios das gemas florais pode-se atrasar também o período de florescimento das plantas do 1º grupo cobrindo as plantas com o filme plástico preto ampliando a florada para depois de dezembro.

Quanto à pseudofertilidade em *O. flexuosum*, foi possível verificar que quando se executa o cruzamento entre as plantas reproduzidas por meio de cultura meristemática, algumas combinações entre os clones procedentes da mesma planta produziram sementes por meio de pseudofertilidade.

Com relação à predominância apical entre as gemas axiais, algumas progênes (Clones S0: F-6; F-10 e F-13) cruzadas de *O. flexuosum* procedentes de uma planta sem predominância apical, podem segregar elementos sem e com predominância. Essas plantas são facilmente reconhecíveis uma vez que as plantas da geração S1 com predominância apical apresentam o desenvolvimento somente de uma só haste floral ou também a formação de um só pseudobulbo a partir do mesmo caule durante o seu ciclo anual. Entretanto as plantas desprovidas da mesma permitem o desenvolvimento de mais de uma haste floral e também a formação de mais de um pseudobulbo a partir do mesmo pseudobulbo. Quando a manifestação da dominância for determinada por um só gene dominante e uma planta sem dominância possuidora de um par de genes recessivos, a segregação esperada entre as gerações S1 seria de 3:1. Os resultados obtidos constam da Tabela 1, e representam à segregação esperada para esta característica.

Tabela 1. Número de plantas de *O. flexuosum* e sua respectiva % referente à manifestação da dominância.

Geração S0 (paternais)	Geração S1 com dominância Apical	Geração S1 sem dominância apical	Subtotal
PI-6	171 (79,2%)	45 (20,8%)	216
PI-10	218 (60,4%)	143 (39,6%)	361
PI-13	60 (61,9%)	37 (38,1%)	97
TOTAL	449 (67,1%)	225 (32,9)	674

A análise da variabilidade genética feita pela técnica de RAPD levantou a hipótese de haver sub-populações de *O. flexuosum* determinadas por isolamento genético ou diferenças genéticas que estão ligadas ao fenótipo de florescimento em épocas distintas do ano. Entretanto são necessários estudos adicionais para a compreensão das bases genéticas do florescimento diferencial desta planta.

## CONCLUSÕES

A cultura das orquídeas do gênero *Oncidium* sempre foi considerada difícil entre os orquidófilos do mundo inteiro devido às exigências de uma temperatura amena e elevada umidade relativa do ar. Mesmo nas regiões sub-tropicais como o Estado de São Paulo, a falta da umidade relativa do ar adequada dificulta o seu desenvolvimento natural, razão porque o desenvolvimento de algumas espécies tais como *O. flexuosum* e *O. varicosum* estão concentradas principalmente nas matas ciliares dos rios nas regiões interioranas. Neste contexto a região próxima a Mata Atlântica leva vantagem sobre as demais localidades.

A descoberta pelos produtores das variedades de Grupo 1 e 2, além de cruzamento que realizaram, ampliou consideravelmente o período de florada de *O. flexuosum* na região de Mogi das Cruzes.

Com o programa de melhoramento e estudos sobre o uso de plástico transparente durante o inverno e de sombrite durante o verão, existe a possibilidade da produção das flores de *O. flexuosum* durante praticamente o ano inteiro, com manuseio é relativamente fácil e o custo relativamente baixo, possibilitando a cultura ser altamente competitiva aproveitando as condições climáticas.

O estudo da predominância apical entre as gemas axiais abriu novas perspectivas no melhoramento genético: a) por meio da pseudofertilidade obtida em plantas de *O. flexuosum*, foi possível conseguir as segregações a partir das plantas heterozigotas e desvendar as características genotípicas da dominância apical por meio do teste da frequência; b) as segregações genotípicas das características na geração S1, abriram as perspectivas para seleção de outras características genéticas, tais como a obtenção de plantas precoce entre as plantas do grupo 2 para seleção das plantas com florescimento durante a safra que compreende o período de janeiro a março.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IKUTA, H. Alternatives to current tropical cauliflower hybrids from self-incompatible inbred-lines. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.11, n.1, p.905-920, 1988.

IKUTA, H. **Estudo de auto-incompatibilidade em couve flor**. Piracicaba: 1966. p. 80-95. (Relatório Científico do Departamento de Genética).

IKUTA, H.; PATERNIANI, E. **Programa de milho verde**. 1970. p. 59-63. (Relatório Científico do Departamento de Genética).

ROHLF, F.J. **NTSIS-PC Numeral taxonomy and multivariate analysis system**. New York: Exeter Publishing, 1988.

TANAKA, M; HASEGAWA, H.; GOI, M. IV. Development and floral initiation in *O. boissience*. Résumé of Jap. **Society Hort. Science**, v. 58, p. 302-303, 1985.

TSAI, C.C.; HUANG, S.C; HUANG, P.L.; CHEN, Y.S.; CHOU, C.H. Phenetic relationship and identification of subtribe Oncidiinae genotypes by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. **Scientia Horticulturae**, v.96, p. 303-312, 2002.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Oncidium flexuosum*; Orchidaceae; orquídea; melhoramento genético; flor de corte.

# Representação gráfica digital em paisagismo com os softwares autolandscape e photolandscape<sup>1</sup>.

Oliveira, Guilherme Motta de<sup>2</sup>; Bracher Jr., Paulo Eduardo<sup>3</sup>; Oliveira, Regina Célia de<sup>4</sup>; Eiterer, Marinês<sup>5</sup>.

<sup>2</sup>Arquiteto, diretor técnico da AuE Soluções, empresa especializada em computação gráfica aplicada em paisagismo. Rua Silva Jardim, 255, CEP: 36015-390, Juiz de Fora/MG, e-mail: [ae@aesolucoes.com.br](mailto:ae@aesolucoes.com.br); <sup>3</sup>Arquiteto, pesquisador da AuE Soluções, empresa especializada em computação gráfica aplicada em paisagismo. Rua Silva Jardim, 255, CEP: 36015-390, Juiz de Fora/MG, e-mail: [paulobracher@aesolucoes.com.br](mailto:paulobracher@aesolucoes.com.br); <sup>4</sup>Bióloga, Professora Doutora em Botânica, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Caixa Postal 137, CEP 59625-900, Mossoró, RN, e-mail: [reginacelia@ufersa.edu.br](mailto:reginacelia@ufersa.edu.br); <sup>5</sup>Bióloga, Mestre em Botânica pela UFV, Caixa postal 20, Viçosa, CEP:36570-000, e-mail: [meiterer@hotmail.com](mailto:meiterer@hotmail.com)

## 1 INTRODUÇÃO

Nosso propósito é estudar as diversas formas de representação gráfica disponíveis na atualidade, suas origens e a forma como se desenvolveram, com a finalidade de fazer um contra-ponto entre as técnicas tradicionais e as técnicas digitais.

## 2 METODOLOGIA

O trabalho será apresentado em duas partes. Na primeira, nosso propósito é explorar as formas de representação gráfica hoje disponíveis, as tradicionais e as digitais, observando os conceitos e objetivos de cada uma, para avaliarmos os benefícios que as técnicas informatizadas nos oferecem.

Na segunda parte da apresentação, utilizaremos os principais softwares disponíveis no mercado brasileiro para apresentar, passo-a-passo, o desenvolvimento de um projeto de paisagismo, passando por cada etapa, da seleção das espécies até a apresentação final do projeto.

Para tornar mais real este exercício, iremos adotar um terreno existente, localizado no município onde se encontra a sede da AuE Soluções, Juiz de Fora – MG.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existem diversas formas de representação gráfica que servem às mais variadas expressões e manifestações humanas. As representações gráficas tornam-se necessárias quando:

- a) Não conseguimos fazer uma descrição precisa de algo por meio de palavras;
- b) Queremos deixar perenizado um registro de uma idéia;

Dentre as inúmeras formas de representação gráfica, gostaríamos de destacar algumas: o Desenho, a Pintura, a Fotografia, o Cinema, os Esboços e o Desenho Técnico. Cada uma delas tem sua linguagem e ferramentas, que podem ser, também, comuns a outras.

### 3.1 Diferença entre Desenho e Projeto

---

<sup>1</sup>Fontes Financiadoras: CNPq, FAPEMIG, SEBRAE/MG, SOFTEX 2000 - Núcleo Agrosoft e UFJF e a AuE Soluções - Arquitetura Urbanismo e Ecologia Soluções.

É comum observarmos pessoas incorrendo no erro de misturar desenho e projeto como um conceito único. Os conceitos são interligados, sim, mas com definições distintas entre si.

O **projeto** é a concepção; a idéia espacial; algo que não pode ser expresso por simples palavras.

O **desenho** é a representação gráfica do projeto; é a idéia no papel ou seja: é algo tridimensional colocado num meio bidimensional.

Basicamente o projeto irá gerar o desenho para auxiliar na execução da obra.

*Por que projetar?*

O projeto é um meio de planejar e organizar o espaço que virá a existir. Consiste em colocar no papel, de forma pensada e padronizada, todos os objetos que existirão depois da execução do projeto e suas relações entre si e com as pessoas.

As vantagens de projetar são:

- **Padronização:** havendo uma linguagem técnica, definida por regras claras, todas as pessoas envolvidas, tanto na concepção do projeto quanto na execução, se farão entender, por entenderem esta linguagem.
- **Produtividade:** o uso de métodos padronizados acelera o processo projetual, permitindo que se faça mais em menos tempo.
- **Minimizar erros:** o fato de haver um projeto, evita que se execute a tarefa “de qualquer jeito”.

Atualmente, todos os profissionais, que se julgam realmente “profissionais”, compreendem a importância do ato de projetar.

### 3.2 Evolução das técnicas e das ferramentas de representação gráfica: do carvão ao computador

Desde os primórdios de sua história, o homem faz registros de suas idéias e ritos. O desenho foi uma das primeiras expressões gráficas do homem, quando este pintava, há milhares de anos, imagens de caçadas nas cavernas em que habitava ou pelas quais passava. Era feita basicamente de carvão e tintas de origem vegetal que eram aplicadas às paredes com o dedo, galhos de árvores ou pedras. A partir disso, o homem começou a elaborar ferramentas cada vez mais eficazes para suas representações gráficas.

O desenho difundiu-se a partir da renascença pela descoberta do papel e de técnicas cada vez mais apuradas, principalmente a perspectiva.

A partir do séc. XVI, o desenho desenvolveu-se rapidamente. Paralelamente às pesquisas de pintura, foram descobertos e introduzidos novos materiais de desenho; a ponta de metal cedeu lugar ao carvão, ao *crayon* e ao pastel. Michelangelo considerava o desenho a “alma da pintura”; Rafael e Da Vinci o usavam bastante numa etapa exploratória da pintura. Eles empregavam bastante o carvão, o giz e a sangüínea.

A origem do lápis remonta ao séc. XVI, quando os artistas trabalhavam com bastões de grafite natural, e sua forma atual surgiu no início do séc. XIX.

Os holandeses estão entre os maiores desenhistas da história e Rembrandt, autor de 1500 a 2000 desenhos a bico-de-pena, é seu maior representante. Outros exemplos são: Rubens, Van Dyck e Teniers. Na França, no séc. XIX, temos Ingres, considerado o maior nome no país e que usava a ponta de prata e, principalmente, o *crayon*. Para ele, “saber desenhar é conhecer e executar com perfeição um sistema de formas reconhecidas”.

No séc. XX, podemos citar alguns nomes de grandes desenhistas, como o pintor Paul Klee com sua idéia de “levar a linha para passear” e dos arquitetos Le Corbusier e Frank Lloyd Wright. No Brasil citamos, ainda, os nomes de Guignard e Portinari e, na arquitetura, Oscar Niemeyer.

Neste contexto de evolução do desenho, surge a prancheta, que permite um desenho mais correto e mais limpo. Seus utensílios (régua T ou régua paralela, esquadros, compasso, tira-linhas e, posteriormente, a caneta-nanquim, régua e escalas diversas,

aranha e normógrafo), virão a facilitar ainda mais a vida do desenhista.

Hoje, com o advento do computador, as pranchetas foram deixadas de lado, e os softwares de vetorização, renderização e fotomontagem, permitem um desenho cada vez mais próximo da realidade.

### 3.3 Novos Paradigmas

A palavra paradigma, tão em voga ultimamente, pode ser entendida como o conjunto de certezas que temos a respeito de determinado assunto e que utilizamos para avaliar como proceder sem termos de voltar e rever tudo a cada decisão. Por exemplo, ao projetar um novo carro o projetista já coloca as rodas. Ele não precisa avaliar se existem alternativas nem precisa desenvolver um mecanismo eficiente para dar suporte ao veículo que ele deseja projetar.

Porém, os paradigmas sempre mudam. Em algum momento, os cavalos deixaram de puxar os carros e muitas pessoas envolvidas na produção de diligências ficaram sem referências. Ao inventar o desenho como conhecemos hoje, Brunelleschi mudou radicalmente a forma de trabalho do arquiteto, pois este deixou de ser um mestre de obras e passou a trabalhar num atelier.

Hoje, a tecnologia traz quebras de paradigmas quase diários. Quem se lembra do BIP? Quem se lembra dos telegramas? Ou mesmo das canetas nankim, normógrafos e aranhas?

A computação gráfica é uma realidade e as implicações de sua adoção em nossa profissão ainda não estão totalmente absorvidas nem compreendidas. Estes novos conceitos ainda precisam ser assimilados com atenção para que seja possível obter o melhor das novas tecnologias.

### 3.4 CAD

#### 3.4.1 O que é CAD

O termo CAD vem do inglês *Computer Aided Design* – Desenho Auxiliado por Computador – e é utilizado para designar toda uma categoria de programas de computador voltados para o desenho técnico em geral. Assim temos o AutoCAD®, TurboCAD®, IntelliCAD® e outros que também são programas de CAD como: VectorWorks®, Microstation® e Inventor®.

Assim como o MS-Word® é um programa de processamento de textos, o AutoCAD® é um programa de CAD. Ou seja, existem vários processadores de texto e existem vários programas de CAD, porém o MS-Word® e o AutoCAD® são tão conhecidos que quase se tornaram sinônimos de processador de textos e programa de CAD, respectivamente.

#### 3.4.2 Projeto assistido por computador

Os programas de CAD permitem desenhar praticamente qualquer coisa, de um parafuso a um jardim ou uma cidade, porém o que obtemos é somente desenho, ou seja, em um programa de CAD temos linhas, arcos, planos, etc. O conceito de projeto assistido por computador incorpora mais informação aos desenhos e, desta forma, passamos a ter paredes, plantas, pavimentos, vegetação, ou seja, mais que desenho, projeto.

#### 3.4.3 Padronização para facilitar a comunicação

Com a adoção generalizada do desenho digital pela maior parte das empresas e profissionais de projeto, a troca de arquivos do projeto entre os profissionais envolvidos é cada vez maior.

Especialmente em nosso país, o AutoCAD® se tornou um dos mais difundidos programas de CAD e os arquivos .DWG criados por ele se tornaram padrão de comunicação, ou seja, ao solicitarmos o desenho do projeto a outro profissional recebemos um arquivo DWG.

Este fato gerou uma facilidade muito grande para a comunicação entre escritórios e empresas, uma agilidade nunca vista e, até mesmo, economia de papel, pois muitas vezes não é preciso entregar uma planta impressa, mas apenas um arquivo digital.

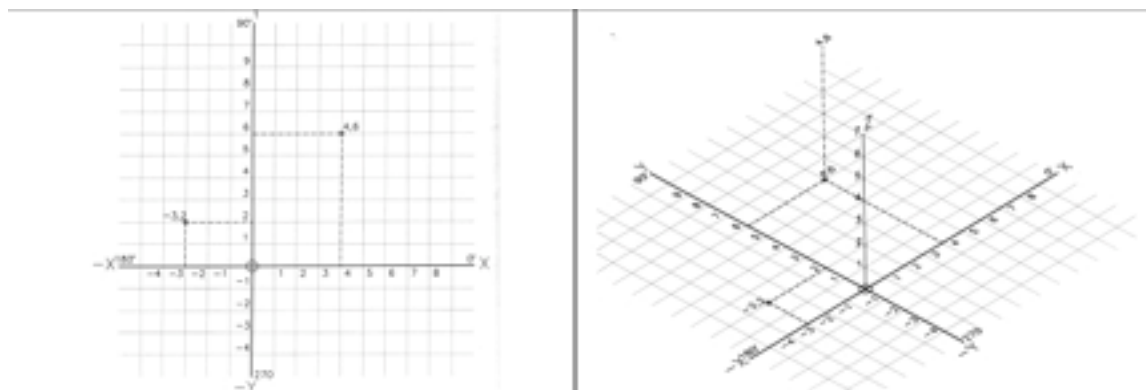
Porém, em alguns casos, recebemos desenhos tão mal-feitos e sem critério que pode ser mais rápido desenhar novamente, no lugar de corrigi-lo e prepará-lo para o trabalho. Ainda não há uma norma técnica da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) para disciplinar a forma de desenhar em CAD, porém existem algumas convenções que recomendamos.

#### 3.4.4 Sistema de Medidas

Os programas de CAD são softwares gráficos vetoriais que permitem trabalhar com medidas precisas (até 16 casas decimais). Esta capacidade de inserir pontos com precisão é fundamental para o trabalho de desenho técnico no computador.

O CAD usa o sistema tridimensional de coordenadas cartesianas. Através deste sistema, é possível inserir pontos no espaço 3 D, especificando a sua distância e direção a partir de uma origem estabelecida, medida ao longo de três eixos mutuamente perpendiculares: os eixos X, Y e Z. A origem dos eixos é considerada como estando no ponto 0, 0, 0.

O CAD utiliza como sistema de medidas, as unidades de desenho (Drawing Units). Assim como o método de cálculo das coordenadas independe das unidades usadas, as distâncias podem estar em qualquer sistema de medida. Por exemplo, na figura abaixo direção X poderia estar em pés ou polegadas, ou em centímetros, metros ou quilômetros.



O AutoLANDSCAPE permite que o próprio usuário defina o sistema de medidas, porém **adotamos como padrão, 1ud = 1m**, ou uma unidade de desenho igual a um metro.

Eventualmente, quando você abrir um desenho feito por outra pessoa ou empresa, poderá encontrar desenhos bem maiores, feitos com 1ud = 1cm ou 1mm. Normalmente os desenhos de peças mecânicas usam mm (milímetros) e os desenhos de arquitetura e engenharia usam m (metros).

#### 3.4.4 Padronizando o uso de Cores

As cores das linhas e demais objetos desenhados no CAD, possuem outros objetivos, além de simplesmente colorir o desenho final impresso. No CAD, as cores são utilizadas também para definir diferentes espessuras de linhas no desenho impresso. Assim, é possível imprimir o desenho como se fosse feito com várias canetas nankin de diferentes espessuras.

Sugerimos a adoção do seguinte padrão de cores e espessuras de linhas:

Número da Cor	Nome	Penas de Impressão	Cor de Impressão
1	Red / Vermelho	0,1 mm	Black / Preto
2	Yellow / Amarelo	0,2 mm	Black / Preto
3	Green / Verde	0,3 mm	Black / Preto
4	Cian / Ciano	0,4 mm	Black / Preto
5	Blue / Azul	0,5 mm	Black / Preto
6	Magenta / Magenta	0,6 mm	Black / Preto
7	Black / Preto	0,7 mm	Black / Preto
8	-	0,8 mm	Black / Preto
9	-	0,9 mm	Black / Preto
da Cor 10 em diante	-	0,2 mm	Imprimir Colorido

### 3.4.5 Padronização de Layers

Layer ou Camada é um recurso disponível em todos os softwares profissionais de CAD, que permite organizar as informações gráficas por categorias, além de disponibilizar o gerenciamento visual dos dados de um arquivo.

O objetivo de organizar o desenho em layers é obter facilidades para gerenciá-lo.

Para facilitar o intercâmbio de desenhos, recomendamos o uso de prefixos nos nomes dos layers. Como na caixa de layers do CAD os nomes vêm em ordem alfabética, os prefixos agrupam layers de assuntos semelhantes. Desta forma, podemos ter AQ- para layers de arquitetura, PA- para layers de paisagismo, AU- para layers de Urbanismo, ET- para estruturas, etc.

Layer	Cor/Pena	Obs:
AQ-Paredes	5 / Blue / Azul (pena 0,5mm)	Para prédios com vários pavimentos, sugerimos agrupar o nome dos layers usando o número do pavimento, por exemplo: AQ-1-Paredes, AQ-2-Paredes, etc...
AQ-Pisos	1 / Red / Vermelho (pena 0,1mm)	Estes pisos são os definidos pela arquitetura. Os pisos definidos pelo paisagismo deverão usar o layer PA-Pisos
AQ-Muros	4 / Cian / Ciano (pena 0,4mm)	Desenhe aqui os muros da divisa do terreno
AQ-Textos	1 / Red / Vermelho (pena 0,1mm)	Este layer contém os textos que descrevem os nomes de arquitetura, como Quarto, Sala, Banheiro, etc.
AQ-Móveis	2 / Yellow / Amarelo (pena 0,2mm)	Desenhe neste layer os móveis da arquitetura
AQ-Louças	2 / Yellow / Amarelo (pena 0,2mm)	As louças (pias, cubas, vasos, etc) devem ser desenhadas aqui, separadas dos móveis pois em um desenho de obra nós escondemos o layer de móveis e mostramos somente as louças, que são importantes na locação de pontos de água e esgoto
AU-Ruas	2 / Yellow / Amarelo (pena 0,2mm)	Desenhe neste layer ruas e passeios e demais informações sobre a locação da obra



## 3.5 Representação gráfica

### 3.5.1 Estilos de desenho

Um assunto particularmente extenso é a representação gráfica de projeto. Cada profissional tende a desenvolver uma linguagem gráfica própria, adotando desenhos mais ou menos elaborados, conforme seu entendimento da profissão.

Um exemplo marcante é a linguagem gráfica dos projetos de Burle Marx. Do ponto de vista gráfico, são desenhos simples, com poucas linhas e sem a pretensão de desenhar as plantas como elas são.

Os desenhos de apresentação de projeto, ao contrário dos desenhos técnicos de execução, permitem ao profissional a liberdade de expressão, independentemente da ferramenta adotada.

### 3.5.2 Perspectiva x Maquete Eletrônica x Fotomontagem

A perspectiva é o sistema de representação de objetos tridimensionais numa superfície de duas dimensões.

Uma das primeiras formas de perspectiva foi feita na Grécia, no final do séc. VI a.C., por Apolodoro, que sombreava os objetos em perspectiva aérea. Os romanos usaram um tipo incompleto de perspectiva paralela, convergindo para um ponto central. Também buscaram gradações atmosféricas por mudanças de cores e usaram luz e sombra para sugerir profundidade.

A perspectiva só começou a se desenvolver realmente a partir da renascença com Brunelleschi e aperfeiçoada por Alberti, Piero della Francesca, Dürer e Vignola.

A partir do séc. XIX, com novos estudos sobre a visão, a perspectiva alcançou seu estágio atual, e alguns artistas como Mauritus Escher e escolas, como a *Op Art* e o cubismo, procuraram transcendê-la ou subvertê-la, usando-a de uma maneira nova e ilusionista.

- **À mão livre**

A perspectiva pode ser feita de diversas maneiras. Quando feita à mão, exige um bom domínio espacial para representá-la corretamente, pois esta prescinde de instrumentos para uma representação fiel.

- **Fotomontagem**

A fotomontagem é uma interessante alternativa de perspectiva. Composta de fotos ou outras figuras (objetos bidimensionais) sobrepostas, ela cria uma ilusão de tridimensionalidade.

- **Maquete eletrônica**

A maquete eletrônica é feita em computador e exige softwares de CAD (*Computer Aided Design*). Ela possui algumas vantagens como a vista em qualquer ângulo de vista, sem a necessidade de se refazer o desenho todo, e a relação precisa entre os objetos pertencentes à maquete.

## 3.6 Softwares específicos para uso de vegetação em projeto

Caminhando no sentido de padronizar, agilizar e facilitar o desenvolvimento de projetos de áreas verdes, a AuE Soluções, empresa 100% brasileira, fruto de uma parceria entre a UFJF (Universidade Federal de Juiz de Fora – MG), o Sebrae, o CNPq, a Fapemig e o núcleo Gênese da UFJF desenvolveu dois *Softwares* voltados para o projeto profissional de áreas verdes: o **AutoLANDSCAPE** e o **PhotoLANDSCAPE**.

### 3.6.1 AutoLANDSCAPE

O AutoLANDSCAPE é o software de paisagismo ideal para o profissional que deseja melhorar a apresentação de seus projetos de paisagismo e desenhar com maior facilidade e qualidade, além de ganhar tempo, quantificando e orçando projetos de qualquer tamanho com apenas alguns cliques do mouse.

O AutoLANDSCAPE funciona junto com o AutoCAD® ou IntelliCAD®, facilitando o uso profissional do CAD e incorpora dados referentes ao paisagismo nos desenhos de CAD, tornando simples as principais etapas do projeto, trazendo mais qualidade, agilidade e dinamismo.

O AutoLANDSCAPE possui um extenso banco de dados com 1110 espécies botânicas, além de dezenas de pisos e equipamentos urbanos; possui milhares de blocos .DWG para uso imediato nos projetos de paisagismo, classificados por **categoria** (Planta Baixa, Elevação, 3D e Símbolos), **acabamento** (P&B, Colorido e Preenchido) e **grau de detalhamento** (Simples e Detalhado). Esta classificação permite várias formas de representação para os desenhos dos projetos de paisagismo: desenhos executivos, desenhos de apresentação final para o cliente, simples ou sofisticados, em representação bi ou tri-dimensional.

A contagem de “bolinhas” de mudas torna-se obsoleta, pois ele insere legendas, chaves de identificação e gera orçamentos com rapidez e segurança, incluindo insumos e tabelas de composições, qualquer que seja a área de projeto.

Além dessas facilidades, o AutoLANDSCAPE permite um fácil cadastramento de itens (Plantas, Mobiliários e Pisos), informações, desenhos, e impressão de diferentes tipos de relatórios para o cliente;

**Produtividade:** O AutoLANDSCAPE facilita e agiliza todas as etapas do projeto de paisagismo, desde a seleção de plantas, pisos e equipamentos, ao tipo de desenho, quantificação e orçamento, trazendo uma economia de até 70% no tempo de projeto.

**Organização:** O AutoLANDSCAPE sistematiza e organiza as suas informações, possibilitando a ampliação e personalização do banco de dados, centralizando o controle.

**Padronização:** O AutoLANDSCAPE auxilia a padronização dos desenhos no escritório, favorecendo o trabalho em equipe e a execução por terceiros, facilitando a leitura e a interpretação precisa dos desenhos.

### 3.6.2 PhotoLANDSCAPE

O PhotoLANDSCAPE é um software de fotomontagem de paisagismo. Fácil de usar, este software é ideal para desenvolver estudos e apresentar projetos, com refinado apuro gráfico.

Ele permite mostrar ao cliente como está e como ficará o jardim, antes da obra pronta, de forma simples e rápida. As fotomontagens podem ser apresentadas impressas ou na forma de apresentação de slides, na tela do computador.

O banco de dados do PhotoLANDSCAPE é bastante extenso, são 1.726 Mapas de plantas, 258 Mapas de equipamentos, 272 Mapas de pisos além de símbolos para humanização de projeto como pessoas, veículos, animais e outros. No sistema é possível que o paisagista tenha o controle total do banco de dados, podendo incluir novos itens, alterar suas informações ou mesmo excluí-los do sistema, além de incluir novos MAPAS para os itens novos e para os itens existentes.



Acima: Fotomontagens desenvolvidas sobre maquetes eletrônicas de uma edificação ainda inexistente.

### 3.7 Um projeto passo-a-passo

Como nosso assunto principal é a representação gráfica, a qualidade do projeto não entrará em questão, utilizamos um terreno aleatório baseado no critério de inexistência de paisagem.

#### 3.7.1 O terreno



Ilustraremos nossa apresentação desenvolvendo uma arborização às margens do Rio Paraibuna, em Juiz de Fora, no trecho entre a ponte da Rua Benjamin Constant e a

ponte da antiga Estrada de Ferro Leopoldina.

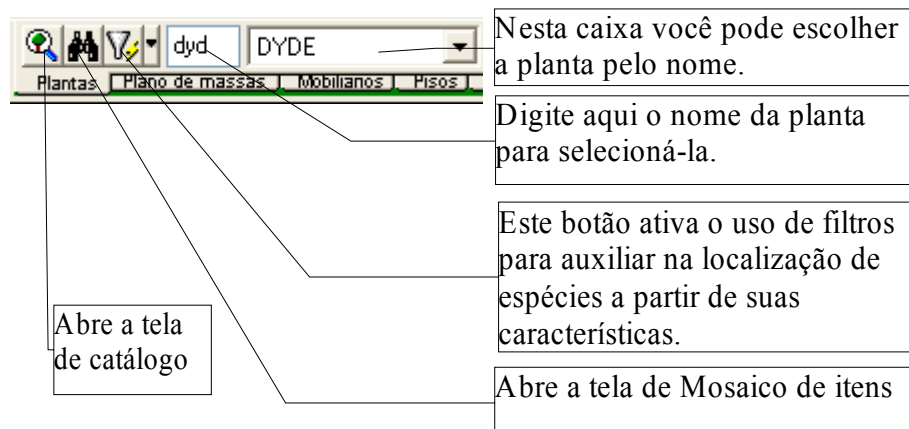
Neste texto iremos abordar os tópicos principais enquanto na apresentação oral teremos o uso e o passo-a-passo propriamente ditos.

### 3.7.2 Escolha das espécies

A escolha das espécies para arborização pública possui critérios técnicos clássicos, de porte e forma, de acordo com a largura da rua, posição da rede de iluminação pública, além de fatores estéticos como a própria beleza de cada espécie e ainda fatores ecológicos como a origem (nativa ou exótica) das espécies.

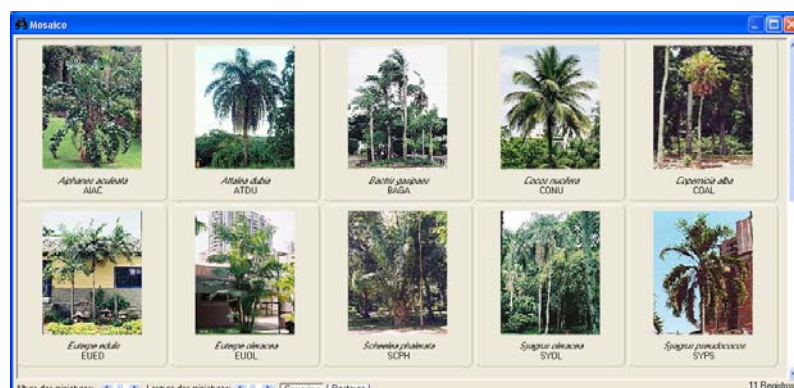
Ou seja, existe uma infinidade de questões a serem respondidas no momento da seleção das espécies. Com esta perspectiva, vamos aproveitar o AutoLANDSCAPE para selecionar as espécies. Muitos profissionais possuem um vasto conhecimento de espécies apropriadas, porém o exercício de seleção favorece o uso de espécies variadas e mesmo o aumento do repertório do profissional. Por outro lado, como o banco de dados do sistema é aberto, o profissional pode aproveitar seu conhecimento e organizá-lo de forma sistemática, facilitando o uso no futuro. Em outros casos, a flora local pode não estar totalmente contida no banco de dados e novas espécies poderão ser incorporadas no sistema para serem utilizadas nos projetos.

Na barra do AutoLANDSCAPE existem várias opções para selecionar plantas: o primeiro botão (uma lupa) abre a tela do catálogo de itens, o segundo (um binóculo) abre a tela do mosaico de itens e o terceiro (um funil) abre a tela de filtro de itens.



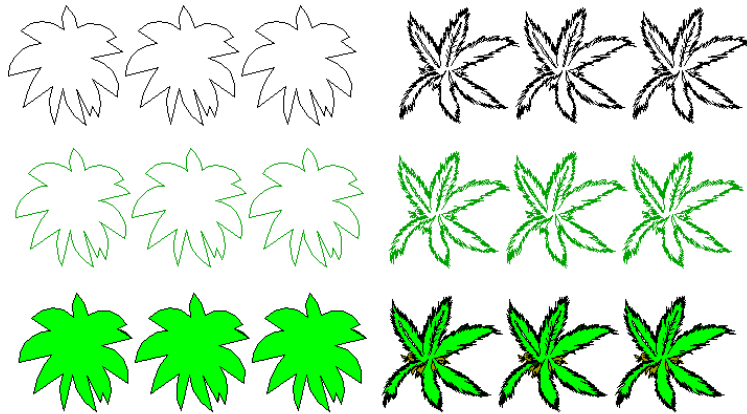
Na tela de filtro existem cerca de 50 campos para seleções, que podem ser utilizados em conjunto para uma seleção mais precisa.

Fizemos uma seleção de plantas do tipo Palmeira, com porte entre 10 e 20m, originárias do Brasil e das 1.110 espécies obtivemos uma lista com 11. Agora, utilizando a tela de Mosaico fica bem mais fácil escolher!

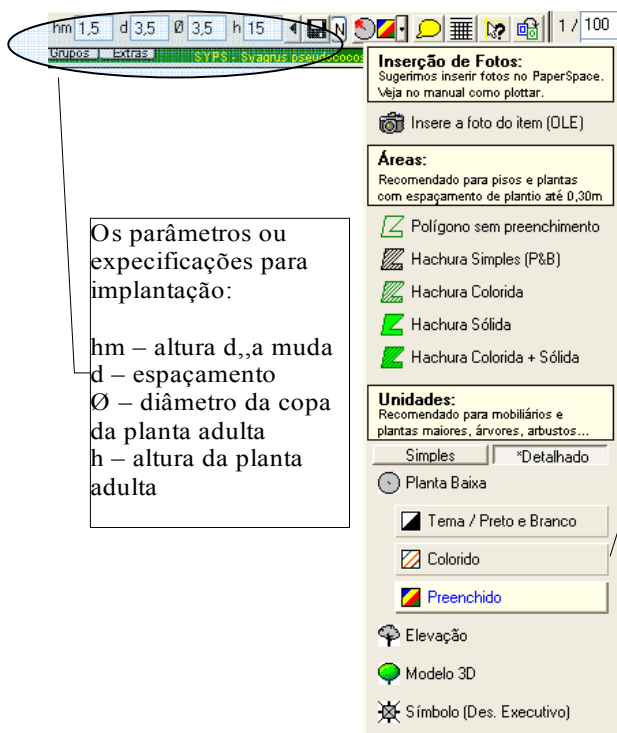


### 3.7.3 Desenho em CAD

Como já foi comentado anteriormente neste texto, a representação gráfica é uma forma de expressão que tende a ser pessoal, assim o AutoLANDSCAPE possui em seu catálogo de desenhos dezenas de opções de desenhos, entre simples e detalhados, preto e branco, coloridos e preenchidos.



Acima temos alguns exemplos de desenhos do sistema, à esquerda, palmeiras simples, à direita, palmeiras detalhadas. Nas linhas temos opções de acabamento: preto e branco, colorido e preenchido.



Nesta barra vertical selecionamos a forma de representação de plantas, em áreas ou unidades. Para arborização o mais comum é o uso de unidades.

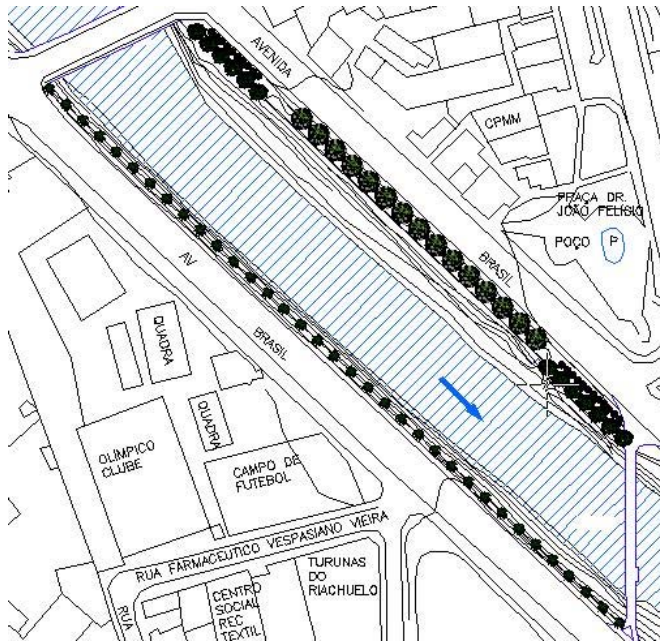
Selecionamos também o nível de detalhe dos desenhos: Simples ou Detalhado

Selecionamos o tipo: Planta baixa, Elevação, 3D ou Símbolo.

Selecionamos o acabamento: Preto e Branco, Colorido ou Preenchido

Usando as ferramentas do programa, chegamos a uma distribuição simples ao longo da avenida marginal ao rio.





### 3.7.4 Fotomontagem;

A opção pela fotomontagem, em detrimento do desenvolvimento de maquetes 3D, se deve à agilidade do processo. Enquanto na maquete eletrônica é preciso desenhar todo o terreno, os prédios do entorno, enfim, uma série de itens que não fazem parte do projeto, na fotomontagem aproveitamos a foto do local.

O PhotoLANDSCAPE oferece uma série de facilidades para desenvolvimento de montagens com vegetação, a principal é o banco de dados com 1110 plantas e cerca de 1800 fotos já tratadas e prontas para o uso em montagens. Além disto, assim como o AutoLANDSCAPE o PhotoLANDSCAPE também permite que o próprio usuário amplie o banco de dados livremente.

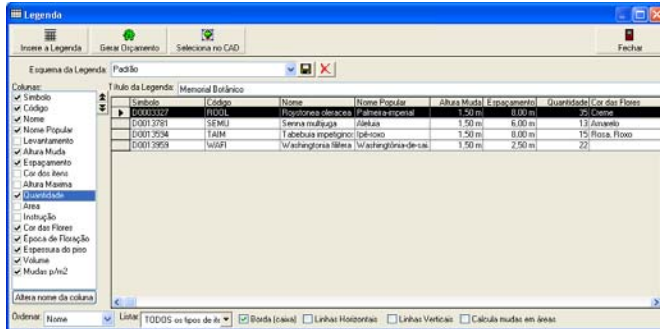
Na figura abaixo temos uma montagem rápida do projeto acima e temos também a foto do local como está hoje.



### 3.7.4 Quantificação e legenda

Com o AutoLANDSCAPE, a etapa de quantificação é acelerada, pois com um clique você obtém a lista de plantas (plantas, mobiliário urbano e pisos) que foram utilizados no projeto, com toda especificação e quantificação.

Esta lista pode ser inserida no desenho do CAD, clicando em um botão, as colunas são opcionais, ou seja, você pode incluir quais colunas deverão ser inseridas na prancha.



Acima temos a tela de quantificação e legenda para este projeto

### 3.7.5 Quantificação e orçamento;

Além da legenda, a partir da tela de quantificação podemos obter um orçamento do projeto.

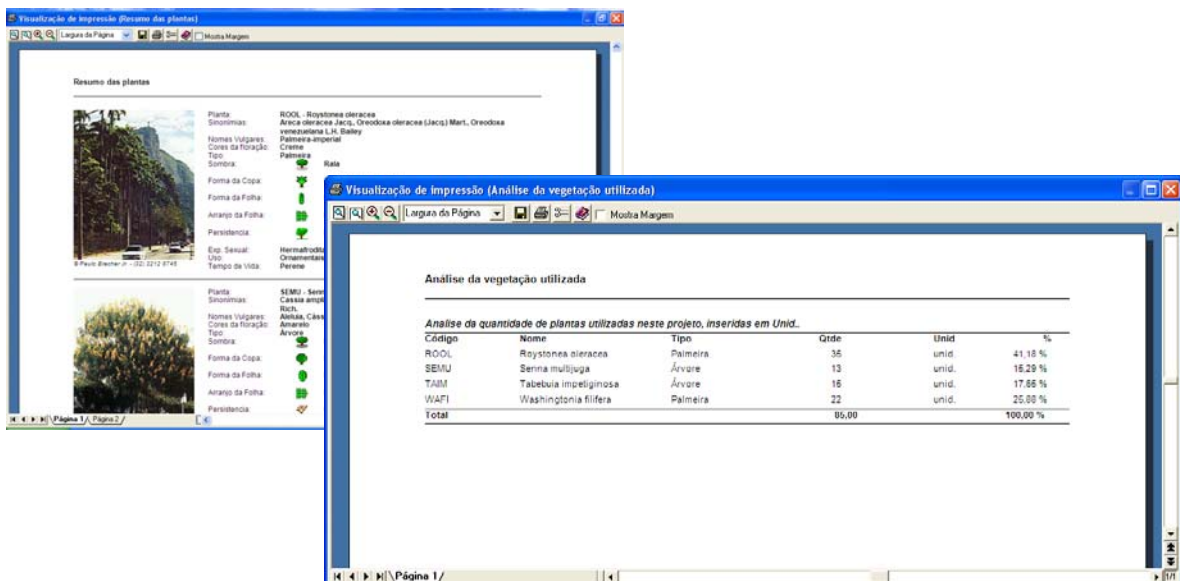
O mecanismo de orçamentação do AutoLANDSCAPE inclui o controle de composições, de implantação para cada item, ou seja, é possível especificar como será o plantio de uma determinada espécie e o programa já calcula os totais de adubação, mão de obra e insumos diversos.

Além disso, é possível detalhar o orçamento com composições complementares como aterros, uso de máquinas para terraplanagem, etc. O sistema possui uma série de composições pré-definidas que podem ser alteradas ou podem ser incluídas novas composições livremente.

### 3.7.6 Relatórios

O AutoLANDSCAPE, a partir da tela de orçamento, dispõe de dezenas de relatórios para documentar o projeto. É possível imprimir o orçamento de forma detalhada ou mesmo imprimir as listas detalhadas das espécies utilizadas, incluindo fotos e outras informações.

Outro relatório interessante é o de "Análise da vegetação utilizada" que mostra cada espécie utilizada e o percentual que esta representa em relação ao total de plantas.



### 3.8 Intercâmbio

Utilizando ferramentas como o AutoLANDSCAPE e o PhotoLANDSCAPE fica mais fácil o intercâmbio de arquivos digitais entre profissionais. Dois ou mais profissionais que utilizem a mesma plataforma tecnológica podem com facilidade identificar as espécies utilizadas nos desenhos recebidos, assim como podem obter quantitativos e promover ajustes nos desenhos com toda a informação necessária.

## 4 CONCLUSÕES

O uso da tecnologia pode aumentar a produtividade na atividade de projetar áreas verdes. Porém é preciso cuidado para manter o foco nas atividades que máquina alguma consegue desenvolver: Criar, Solucionar problemas e se Relacionar com os clientes.

Temos boas ferramentas disponíveis no mercado brasileiro, voltadas para as práticas adotadas no país, com tecnologia nacional e banco de dados com espécies encontradas em nosso mercado.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS ARQUITETOS PAISAGISTAS, ABAP. **Curso Paisagismo Urbano**. São Paulo, s.d.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS ARQUITETOS PAISAGISTAS, ABAP. **Curso Vegetação Aplicada ao Paisagismo**. São Paulo, s.d.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil vol.2**. Viçosa. UV. 1984.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil vol.3**. Viçosa. UV. 1986.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil. Vol.1**. SP. USP. 1978.

BELL, A. D. **Plant form: an illustrated guide to flowering plant morphology**. Oxford. Oxford University Press. 1991.

BLOSSFELD, H. **Jardinagem**. São Paulo: Melhoramentos, 1965.

BLOSSFELD, H. **Paisagismo: técnicas de plantio e manutenção**. São Paulo: Associação Brasileira de Arquitetos Paisagistas (ABAP), 1980.

CESP. **Arborização**. 2. ed. São Paulo, 1985.

CESP. **Guia de Arborização**. 3. Ed. São Paulo, 1988.

DEMATTE, Maria Esmeralda Soares Payão. **Princípios de Paisagismo**. Jaboticabal: Funep, 1997.

GRAF, A.B. **Tropica: color cyclopedia of exotic plants and trees from the Tropics and Subtropics**. East Rutherford: Roehrs, 1978.

HOME PLANNERS, Inc. **The home landscaper**. Tucson, s.d.

HOYOS, Jesús. **Arbustos Tropicales Ornamentales**. Caracas, Venezuela. Editado por



Sociedade de Ciencias Naturales La Salle, 1998.

JOLLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 11. ed. São Paulo. Editora Nacional. 1993.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, tóxicas e medicinais**. Nova Odessa. Edição do autor. 1949.

LORENZI, Harry. **Árvores Brasileiras : manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. vol 01. Nova Odessa - SP. Ed. Plantarum.

LORENZI, Harry. **Árvores Brasileiras : manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. vol 02. Nova Odessa - SP. Ed. Plantarum, 1998.

LORENZI, Harry. **Palmeiras do Brasil**. Nova Odessa - SP. Ed. Plantarum.

LORENZI, Harry. **Plantas Ornamentais no Brasil**. Nova Odessa - SP. Ed. Plantarum.

MACUNOVICH, Janet. **É fácil construir um jardim: 12 etapas simples para criar jardins e paisagens**. Tradução Mary Griesi. São Paulo: Nobel, 1996.

NEUFERT, E. **A arte de projetar em arquitetura**. São Paulo: Gustavo Gili do Brasil, 1976. p.138-145.

PITTA, Guanabara Paques-Barros. **Doenças das plantas ornamentais / Guanabara Paques-Barros, Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, Rosa Maria Gayoso Cardoso**. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico, 1989.

PORTER, Tom; GOODMAN, Sue. **Manual de técnicas gráficas para arquitetos, diseñadores y artistas**. Barcelona: Gustavo Gili, 1986.

ZACHARIAS FILHO, Fauze. **Vegetação e paisagismo**: especificações da edificação escolar de primeiro grau / Fauze Zacharias Filho, Valdir Zonta Zanetti, Maria Luisa Alonso y Prieto - 2.ed-rev.amp. São Paulo: FDE, 1996.

## 6 PALAVRAS-CHAVE

Projeto, Paisagismo, Desenho, Computação Gráfica

## 7 AGRADECIMENTOS

Agradecimentos especiais aos arquitetos paisagistas Jorge M.I.Arbach, Benedito Abbud, José Tabacow e Luciano Fiaschi, pelo apoio em diferentes etapas do desenvolvimento do trabalho.

A seguir ressalto o papel de cada pessoa da equipe que desenvolveu os softwares:

Projeto e direção Guilherme Motta de Oliveira. Programação, Guilherme Motta de Oliveira e Otávio Brandão Noronha Tratamento de fotos para fotomontagem Paulo Eduardo Bracher Júnior, Fábio Júlio Campos, Gustavo Reis dos Santos. As fotografias de plantas por: Guilherme Motta de Oliveira, Alexandre Siervi Campos, Luiz Claudio Medeiros, Patricia de Assis e Paulo Eduardo Bracher Júnior. As identificações das plantas foram realizadas por: Bióloga Dr.Regina Célia de Oliveira, Bióloga M. Sc. Marines Eiterer, Eng.Agr.M.Sc. Kátia Calago Althoff e revisadas pela bióloga Marines Eiterer. Desenvolvimento dos manuais

do software, Gustavo Reis dos Santos, Otávio Brandão Noronha. Revisão dos textos, manuais e ajuda-online Arquiteto Paulo Eduardo Bracher Júnior.

## **O comércio internacional de espécies da flora silvestre ameaçadas de extinção e a convenção CITES.**

Pereira, Ana Carla Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA)/ Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD), SCEN trecho 2 Bloco B, DIREF, CITES, Brasília DF, 70.890-900, (61) 3316-1258, email: [anacarlasantos@hotmail.com](mailto:anacarlasantos@hotmail.com).

### **INTRODUÇÃO**

Com o crescimento da população, da industrialização e da necessidade decorrente da ampliação das produções agrícolas e minerárias, entre outras, as ameaças sobre os ecossistemas e sobre as espécies nativas da fauna e da flora são multiplicadas e amplificadas.

Neste artigo trato dos impactos resultantes da coleta de plantas nativas e de suas partes, e sua comercialização, e discorro sobre a importância da Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagem em Perigo de Extinção (CITES) na regulamentação do comércio internacional de espécies ameaçadas de extinção, com o objetivo de garantir que ele não ameace as populações naturais de plantas nativas.

### **PLANTAS AMEAÇADAS, ENDÊMICAS E RARAS**

Muitas das milhares de espécies da flora brasileira estão ameaçadas de extinção por causas diversas, como destruição de habitat para agricultura, pecuária, estradas, áreas urbanas e parcelamentos rurais (Forzza, 2003), mineração (Forzza, 2003) e construção de represas (Costa, 2005; Silva & Fortes Pedreira, 2005). Outras causas de perturbação incluem incêndios (Matias, 1992; Forzza, 2003; Costa, 2005), invasão dos ecossistemas por plantas e animais exóticos, hibridação, coletas predatórias de plantas e suas partes (Costa, 2005), drenagem e assoreamento, construção de estradas, portos e aeroportos (Silva & Fortes Pedreira, 2005) e extinção local de animais dispersores de sementes. Finalmente, o aquecimento global surge, como consequência de outras práticas destrutivas, como ameaça de degradação dos ecossistemas e de extinção de muitas espécies nativas.

Os efeitos desses impactos podem ser muito maiores no caso de plantas com distribuição muito restrita (plantas endêmicas), plantas com populações pequenas e ou disjuntas (plantas raras), plantas com histórico de ameaças a suas populações ou espécies altamente especializadas (dependentes de ecossistemas raros). Para essas plantas mesmo a coleta de um lote limitado de indivíduos (ou de suas sementes, frutos, inflorescências ou rizomas) pode representar risco de extinção. A redução da população a contingente pequeno pode tornar inviável sua sobrevivência a médio ou longo prazo (Forzza, 2003), especialmente quando a população sofre outros impactos, que se somam e se potencializam.

### **COLECIONISMO DE PLANTAS NO BRASIL E NO EXTERIOR**

O colecionismo de plantas é atividade antiga no exterior. Colecionadores abastados armavam desde o século XVIII expedições a terras inóspitas em outros continentes, para ostentar em suas estufas e jardins plantas raras e curiosas. Assim era a coleção do príncipe alemão Joseph Salm-Reifferscheid-Dyck (1773–1861), que serviu a vários botânicos, e a ele mesmo, para descrição de novas espécies, algumas delas brasileiras.

Desde então os colecionadores se multiplicaram, especialmente na Europa e nos Estados Unidos, dando origem a uma rede de importadores, viveiros e distribuidores que atende em grande parte ao mercado de colecionadores. Existem muitas associações

especializadas de colecionadores, especialmente de cactáceas, plantas suculentas, bromeliáceas e orquídeas.

O colecionismo no Brasil é antigo, mas voltado, até meados do século XX, para plantas de jardins (como tinhorões, roseiras, cravos, floríferas perenes) e para orquídeas. Muitos amadores passaram a coletar plantas em ecossistemas naturais, tendo passado algumas espécies a fazer presença constante nos jardins, como é o caso de diversas acantáceas, cactáceas, begoniáceas, verbenáceas, gesneriáceas, aráceas e comelináceas, entre outras.

As coleções de orquídeas eram (e ainda são) muito comuns, incorporando materiais quase invariavelmente coletados na natureza. Bromeliáceas só se tornaram estimadas muito mais tarde, na segunda metade do século XX.

A tendência das coleções está se diversificando para as espécies de microorquídeas, as espécies endêmicas e as raras e grupos como pteridófitas (samambaias e avencas), bromeliáceas, comelináceas, aráceas, amarilidáceas, cactáceas, acantáceas, begoniáceas, plantas suculentas, plantas aquáticas, árvores (bonsais) e outros grupos. Muitos colecionadores adquirem plantas oferecidas na beira das estradas por minifundiários que saqueiam áreas naturais para vender plantas recém-arrancadas, especialmente de cactáceas, nos Estados do Nordeste, e de bromeliáceas, no Brasil oriental. A fiscalização por parte dos órgãos federais e estaduais de defesa ambiente mostra-se crescentemente debilitada pela falta de investimento, de pessoal suficiente e de estrutura, e pela falta de coordenação com as polícias rodoviárias e com os demais Ministérios.

Existem no Brasil grandes produtores de plantas para jardins (sementes, mudas e bulbos), para interiores (plantas em vasos) e para colecionadores, havendo exportação que, embora incipiente, tende a aumentar, dado o crescimento do mercado externo. Um mercado potencial que atende os interesses do comércio internacional, e que está praticamente virgem no nosso mercado produtor, é o de plantas raras, nativas, devidamente identificadas e com informações ecológicas e conservacionistas.

Esse mercado seria inviável com plantas coletadas na natureza, dada a falta de padronização dos produtos, a pequena disponibilidade de plantas raras e o bloqueio comercial de diversos países exportadores (devido à crescente preocupação com a conservação). Esse mercado vem sendo atendido precariamente com plantas obtidas em ecossistemas naturais por coletores ilegais bem informados que exportam através de países vizinhos. Um exemplo é a coleta intensiva de cactáceas raras dos gêneros *Discocactus* (Minas Gerais, Estados do Nordeste e Centro-Oeste), *Uebelmannia* (Minas Gerais), *Melocactus* (Minas Gerais, Estados do Nordeste e litoral até Rio de Janeiro) e *Notocactus* e *Gymnocalycium* (Rio Grande do Sul) (cactos globosos); entre os cactos colunares são mais coletados os dos gêneros *Micranthocereus*, *Coleocephalocereus*, *Pilosocereus* e *Cipocereus* (Minas Gerais e Nordeste); os cactos com filocládios achatados são representados por *Tacinga* spp.

## IMPACTO DOS COLECIONADORES

A coleta desenfreada de orquídeas para coleções particulares (orquidófilos) sempre suscitou a indignação do especialista Frederico Carlos Hoehne (Franco & Drummond, 2005). Ainda hoje muitos colecionadores viajam pelo país coletando espécies raras e endêmicas, resultando que diversas espécies já se tornaram raras ou mesmo extintas na maior parte de sua distribuição original. A troca de materiais entre colecionadores mantém as espécies em banco de germoplasma *ex situ* informal.

As associações de orquidófilos, bromeliófilos e outras estão se empenhando atualmente em regularizar as coleções de seus associados, de forma a compatibilizar atividades de colecionismo e conservação *ex situ* com a legislação e os esforços conservacionistas *in situ*. Muitos colecionadores já se dispõem a fornecer materiais de suas culturas para atividades oficiais de reintrodução de plantas raras e ameaçadas em ecossistemas nos quais essas espécies já tenham sido extintas.

O colecionismo com bases científicas deve ser encarado pelo governo e pelas associações conservacionistas como um dos braços da conservação *ex situ* (Paiva, 2004), o que já foi iniciado recentemente pela promulgação da Instrução Normativa 160 do Ministério

do Meio Ambiente (27 abr. 2007), que instituiu o Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO) e disciplinou o transporte e o intercâmbio de material biológico consignado às coleções; as coleções biológicas previstas deverão ser registradas nas seguintes tipologias: científica, didática, de serviço, de segurança nacional e particular.

Deve-se ressaltar que muitos colecionadores no Brasil e no exterior utilizam sua coleção para estudos acadêmicos de Botânica, não podendo ser confundidos com colecionadores sem interesses científicos.

## XAXIM E ESFAGNO

O “xaxim” ou “samambaiçu” (*Dicksonia sellowiana*, Dicksoniaceae) é espécie da mata atlântica do sudeste e sul do Brasil, muito ameaçada pelas coletas em larga escala, tanto para plantio em jardins, como para utilização do pseudocaule cortado em pedaços como substrato para plantio de orquídeas e para fabricação de vasos para plantas ornamentais. A promulgação de leis federais, estaduais e municipais proibindo sua extração, beneficiamento, transporte e comercialização não impediu essas atividades, centralizadas no município paulista de São Lourenço da Serra.

Em muitas regiões o xaxim subsiste apenas em unidades de conservação, nas quais suas populações não estão garantidas, dado o baixo investimento governamental em estrutura e fiscalização.

Atualmente estão sendo estudados e mesmo comercializados sucedâneos do xaxim, como o “coxim”, elaborado a partir de subproduto da exploração do coco-da-bahia (Andrade, 2004; Assis, 2005; Gurgel, 2005), a salvínia, obtida da secagem de plantas da pteridófito aquática *Salvinia auriculata* (Paula, 2003), a casca curada de *Pinus* spp. (Pinaceae), vermiculita (Ferraz, Centurion & Beutler, 2005), argila expandida, cascalhos e outros.

Outro material utilizado em larga escala no mercado de plantas ornamentais e de horticultura é o “esfagno” ou “veludo”, produto da secagem de plantas do gênero *Sphagnum* (Sphagnaceae, Bryophyta). Essas plantas crescem de forma remontante nos brejos (banhados) e campos ácidos do Sudeste e Sul do Brasil, sendo responsáveis por parte do acúmulo de carbono nas turfeiras (organossolos). Mesmo muito abundantes e livres da ameaça de extinção, sua coleta reduzirá a fixação de carbono, contribuindo para o efeito estufa, a par da queimada dos mesmos ecossistemas, e modificará seu albedo, com conseqüências microclimáticas imprevisíveis. A retirada intensiva do esfagno para o comércio interno ou externo (como “peat moss”) e a incidência de incêndios também poderão contribuir para tornar o ambiente inóspito para plantas nativas, e viável para plantas exóticas invasoras, por alterar a acidez do solo.

## COLETA DE PLANTAS NA NATUREZA PARA O MERCADO DE PLANTAS ORNAMENTAIS

A retirada de plantas nativas de seus ambientes pode contribuir para a extinção de espécies com distribuição limitada (plantas endêmicas), prejudicar animais que dependem dessas plantas para abrigo, alimentação e nidificação, gerar focos de erosão ou desequilibrar cadeias ambientais muitas vezes frágeis e ainda pouco conhecidas (Paiva, 2004).

Segundo esse autor, é justamente nos ambientes de serra, ricos em plantas estranhas, de flores grandes e vistosas, que ocorre a maioria das coletas. Em barreiras montadas pelo IBAMA nas estradas, com colaboração da Polícia Militar do Meio Ambiente e outros órgãos oficiais e não-governamentais, os técnicos apreenderam muitas vezes plantas nativas colhidas na Serra do Cipó. Os infratores, geralmente turistas, foram autuados (multados) e esclarecidos sobre o crime em que incorreram e a importância do respeito à flora e à vegetação nativas. A maioria das plantas apreendidas era de Cactáceas (cactos), Bromeliáceas (bromélias), Orquidáceas (orquídeas), Eriocauláceas (sempre-vivas), Velosiáceas (canelas-de-ema) e Pteridófitas (samambaias e avencas).

Em diversas ocasiões foram apreendidos nessa região lotes de plantas ornamentais, entre elas diversas plantas raras e endêmicas, que se destinavam ao comércio. Em janeiro de 2005, numa única apreensão, o IBAMA resgatou mais de mil mudas da orquídea *Constantia cipoensis*, espécie que existe apenas em área de poucos quilômetros quadrados da Serra do Cipó, no centro do Estado de Minas Gerais. As plantas se destinavam à exportação clandestina (C. L. Paiva, com. pes.). O crime foi ainda mais grave por terem as plantas sido coletadas com parte do pseudocaule da canela-de-ema (*Vellozia piresiana*), espécie ornamental cuja distribuição coincide com a da orquídea, pois esta apenas utiliza com forófito (suporte epifítico) essa espécie endêmica de Velloziaceae, tão ameaçada quanto a orquídea (fato antes enfatizado por Menezes & Giullieti, 1986; Matias, 1992; Matias, Braga & Freire, 1996). As orquídeas apreendidas foram reintroduzidas por técnicos do IBAMA.

A coleta predatória de plantas e suas partes em ecossistemas naturais ameaça muitas espécies. Esse é o caso da exploração de flores e inflorescências para o mercado de plantas secas para ornamentação (Costa, 2005). Essa coleta, feita em larga escala no Maciço do Espinhaço, especialmente na região ao redor de Diamantina, Minas Gerais, ameaça muitas espécies endêmicas e raras, especialmente das famílias Eriocaulaceae e Xyridaceae. As coletas realizadas antes da dispersão das sementes prejudica a reposição das plantas, causando o declínio dessas populações.

As exportações de flores secas vêm caindo, não só pelo declínio, mas porque as licenças para exportação vêm sendo negadas pela Coordenação de Proteção e Conservação Florestal, da Diretoria de Florestas do IBAMA, pois os exportadores não conseguem provar que todo esse material provém das áreas muito limitadas de sementeira manual.

Certos grupos de plantas nativas apresentam grande relevância ecológica em suas comunidades, como muitas Bromeliaceae (Rocha, 2004), acarretando sua extração impacto desproporcional nos ecossistemas.

A exportação de lotes de plantas caracterizadas pelos produtores como oriundas de sementeira e de cultura de tecido, mas na verdade coletadas na natureza, deve diminuir sensivelmente, pois a Diretoria de Florestas (DIREF) do IBAMA de Brasília, está estudando enviar técnicos para vistoriar os lotes para exportação, de forma a identificar sinais indicadores da proveniência ilegal das plantas. Essas vistorias poderão ser realizadas por técnicos do IBAMA, contratados ou efetivos, ou por técnicos do Ministério da Agricultura, a partir de escritórios regionais ou nas aduanas.

Centenas de pessoas em todo o Brasil vivem de coletar plantas na natureza para atender demandas do mercado de plantas nativas, interno e externo.

Com o aumento do interesse no comércio e exportação de plantas nativas e seus produtos, muitos produtores passaram a coletar ativamente na natureza plantas para estabelecimento de matrizes para produção de sementes e material vegetativo. Essa prática pode a longo prazo representar benefício pelo estabelecimento de "pomares", mas prejudica a curto e médio prazo as populações nativas. Deveria haver atividades de compensação pelos produtores, através da reposição de número equivalente ou maior do que o coletado nos mesmos ecossistemas pilhados. A disseminação e facilitação do emprego de técnicas de cultura de tecidos (Carneiro & Mansur, 2004) e germinação *in vitro*, e a intensificação da fiscalização podem atenuar esse impacto.

A exportação de plantas nativas e de suas partes pode ser fator importante como ameaça à sobrevivência *in situ* de espécies nativas raras ou endêmicas. É o caso da exportação de grandes quantidades de sementes da "icá" ou "palmeirinha-de-petrópolis" (*Microcoelum weddellianum*, Palmae) [*Lytocaryum weddellianum*], espécie endêmica do sudeste do Brasil, relativamente rara.

Exportadores de orquídeas, cactáceas e bromeliáceas também foram responsáveis pelo desaparecimento de muitas espécies raras em grande parte de sua área de distribuição.

## CITES: RAZÃO E OBJETIVOS

A Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagem em Perigo de Extinção (CITES) regulamenta o comércio internacional de espécies ameaçadas de extinção, objetivando garantir que o comércio internacional não ameace as populações naturais de plantas e animais nativos.

O IBAMA, incluindo suas Diretorias, Coordenações e Unidades Especializadas, foi designado como Autoridade Administrativa e Autoridade Científica, tendo entre outras funções, a atribuição de: emitir licenças para a comercialização internacional de espécimes cuja espécie esteja listada nos Apêndices da CITES; e atestar que as exportações não aumentarão os riscos de extinção das espécies incluídas nos Apêndices I e II dessa Convenção.

Atualmente, o papel das Autoridades da CITES é exercido pela Diretoria de Florestas (DIREF), para espécies da flora. O IBAMA tem atuado visando a implementação e o atendimento às demandas da CITES, através do controle e emissão de autorizações de exportação, importação, reexportação e certificados de origem, bem como, participando das Reuniões da Partes e Grupos de Trabalho da CITES (Vercillo, 2006).

## HISTÓRICO DA CITES

Em 1960 as idéias da CITES foram expostas na 7ª Assembléia Geral da União Internacional para a Conservação da Natureza e seus Recursos Naturais – UICN, hoje denominada União Mundial para a Natureza. Nessa Assembléia os governos foram instados a limitar suas importações de animais em consonância com as regulamentações de exportação dos países de origem. A implementação da proposta dependia de regulamentação, já que não havia acordo formal que permitisse aos países importadores conhecer as regulamentações dos países de exportação. Deu-se início à elaboração de texto geral, surgindo em 1964 o primeiro projeto da Convenção. Na Assembléia Geral da UICN em 1969 foi apresentada lista de espécies que ficariam sob controle. Em 1971 foi apresentado novo projeto.

Em 1972, a Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente, realizada em Estocolmo, aprovou recomendação ratificando o projeto da Convenção. Em 3 de março de 1973, 21 países subscreveram a Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas de Fauna e Flora Selvagens – CITES, também conhecida como **Convenção de Washington**, que entrou em vigor em 1 de julho de 1975.

Os Estados que aderem à Convenção são conhecidos como Partes. Embora a convenção seja legalmente vinculante, ou seja: as Partes terem a obrigação de aplicá-la, este efeito vinculante não suplanta as legislações nacionais, mas oferece modelo que deve ser respeitado pelas Partes, obrigadas a promulgar sua própria legislação nacional para garantir a aplicabilidade da CITES em escala nacional (Vercillo, 2006).

## HISTÓRICO DA CITES NO BRASIL

O Brasil é signatário da CITES desde 1975, quando houve sua aprovação e promulgação pelo Decreto Legislativo 54, de 24 de junho de 1975, e promulgada pelo Decreto nº 76.623, de 17 de novembro de 1975 tendo sido alterada pelo Decreto Legislativo 35 de 5 de dezembro de 1985 e promulgada pelo Decreto 92.446 de 7 de março de 1986.

A disposição sobre a implementação da CITES no país está estabelecida no Decreto 3.607 de 21 de setembro de 2000. Este decreto, entre outras providências, designa o IBAMA como Autoridades Administrativa e Científica.

## IMPORTÂNCIA DA CITES

O intenso comércio internacional de plantas, bem como a destruição de habitats, podem reduzir as populações naturais até além do limite da sobrevivência dessas espécies. Muitas

espécies já foram extintas e muitas outras estão em vias de extinção. A falta de políticas integradas e efetivas de proteção, conservação e manejo da flora contribuíram para essa situação. Grande número de espécies ainda não estão seriamente ameaçadas de extinção, mas poderão estar, e nesse quadro a redução de sua utilização direta pode afetar positivamente sua sobrevivência (Vercillo, 2006).

No caso do comércio internacional, o esforço de controle de ser bilateral, envolvendo esforços do país de origem das espécies e dos países compradores, para que as ações sejam efetivas.

Desde que a convenção CITES entrou em vigor, nenhuma espécie amparada pela Convenção foi extinta em decorrência exclusiva ou predominante do comércio. Assim, percebe-se que ao longo dos anos, a CITES tem sido um dos acordos ambientais mais importantes para a conservação e uso sustentável de espécies, contando atualmente com a participação de 167 países.

A CITES estabelece modelo jurídico internacional para prevenir o comércio de espécies em perigo de extinção e regular, o comércio das outras espécies de alguma forma ameaçadas. Atribui aos países produtores e consumidores responsabilidades comuns e cria mecanismos necessários para viabilizar a cooperação internacional. Também prevê a vigilância do comércio internacional, com base nos Apêndices acordados pelas partes, listando as espécies da flora protegidas pela Convenção.

A CITES regulamenta o comércio internacional, ou seja, a exportação, a reexportação, a importação e a introdução de plantas e animais vivos ou mortos e de suas partes ou produtos, mediante licenciamento.

A expedição de licenças e certificados depende da resposta satisfatória a algumas questões, tais como: 1) o comércio pode prejudicar a sobrevivência de uma espécie? 2) Os exemplares foram adquiridos de forma lícita? 3) As condições para o transporte estão adequadas?

A fim de garantir a implementação, cada país signatário da convenção (parte) deverá designar uma ou mais Autoridades Administrativas que se encarregam de administrar o sistema de licenciamento e uma ou mais Autoridades Científicas para prestar assessoramento sobre os efeitos do comércio sobre a conservação das espécies.

A cada dois ou três anos as Partes se reúnem para examinar a aplicação das normas da Convenção. As reuniões, organizadas por um Estado-membro, são denominadas Conferência das Partes (CoPs) e oferecem oportunidade para:

- ✓ examinar os progressos realizados para a conservação das espécies incluídas nos Anexos;
- ✓ analisar propostas para alterar a listagem de espécies incluídas nos Anexos I e II;
- ✓ examinar documentos de trabalho e informes apresentados pela Secretaria, as Partes, os Comitês Permanentes e outros Grupos de Trabalho;
- ✓ recomendar medidas para melhorar a eficácia da Convenção; e
- ✓ tomar medidas necessárias, inclusive disponibilizar orçamento, para garantir o bom funcionamento da Convenção.

A adoção da CITES pelo Brasil estabelece a necessidade da implementação de medidas de controle do comércio internacional, avaliação do estado de conservação das espécies, adoção de práticas ambientalmente saudáveis por parte dos exportadores/importadores, bem como proporcionar o intercâmbio de informações sobre as conservações das espécies constantes nos apêndices.

Nesse contexto verifica-se profunda sinergia entre CITES e a CDB. Para tanto CITES recepcionou e recomendou às Partes os Princípios e Diretrizes de Addis Abeba para o uso sustentável da diversidade biológica, que se baseiam no pressuposto de que é possível fazer uso da biodiversidade de uma forma que os processos ecológicos, as espécies e a variedade genética sejam mantidos (Vercillo, 2006).



## DIAGNÓSTICO DA IMPLEMENTAÇÃO DA CITES NO BRASIL

O Brasil é um dos poucos países com economia emergente que possui legislação própria, permitindo que a aplicabilidade da CITES permeie a legislação que regulamenta o manejo da fauna e da flora silvestre.

Além dos instrumentos legais que aprovam e implementação a CITES no Brasil, deve-se ressaltar que o Decreto 3.179, de 21 set. 1999, que regulamenta as penalidades previstas na Lei 9.605, de 12 fev. 1998, no Capítulo II (que dispõe sobre as sanções aplicáveis às infrações cometidas contra o meio ambiente) explicita que para os delitos cometidos contra as espécies protegidas pela CITES, há agravante à penalidade a ser imputada (Vercillo, 2006).

A autoridade administrativa é responsável pela implementação e execução da Convenção, controlando a emissão das licenças e o transporte dos espécimes e subprodutos da espécies CITES. Atualmente, existem 11 autoridades administrativas, que não trabalham exclusivamente com a CITES, para atender a todas estas atividades, o que significa que efetivamente são atendidos os seguintes pontos:

1. emitir licenças de exportação, reexportação, importação e introdução procedente do mar ;
2. manter o registro do comércio de espécimes das espécies incluídas nos Anexos I, II e III da CITES,
3. elaborar e remeter relatórios periódicos à Secretaria da CITES, nos termos do artigo VIII da Convenção;
4. coordenar as demais autoridades, que com ela atuam em conjunto na atribuição prevista no inciso anterior;
5. devolver ao país de origem ou determinar o destino provisório ou definitivo dos espécimes vivos apreendidos nos termos do inciso anterior; e
6. organizar e manter atualizado o registro dos infratores;

A Autoridade Científica é responsável por avaliar e comprovar que o comércio da espécie alvo não impõe risco àquela espécie ou população, conforme o caso. Para tanto, nos casos de exportação, deverá comprovar que a exportação e introdução procedente do mar não afeta a sobrevivência da espécie; nos casos de importação deverá comprovar que a finalidade da importação não vai prejudicar a sobrevivência da espécie e se quem se propõe a receber um espécime vivo poderá abrigá-lo adequadamente.

Ainda, a Autoridade Científica deverá informar a Autoridade Administrativa sobre a situação biológica das espécies afetadas pelo comércio, a fim de facilitar a preparação das propostas necessárias para emendar os Anexos, bem como, deverá identificar os problemas relativos à nomenclatura que possam necessitar revisão.

Foram designados, na estrutura do IBAMA, como Autoridades Científicas suas Unidades Especializadas. As unidades relacionadas com a CITES são aquelas que tratam de espécies da flora, a saber:

COPOM - Centro Nacional de Orquídeas, Plantas Ornamentais, Medicinais e Aromáticas;

LPF – Laboratório de Produtos Florestais;

CGREF – Coordenação Geral de Gestão de Recursos Florestais

CENAFLO – Centro Nacional de Apoio ao Manejo Florestal

Atendendo aos dispositivos da Convenção, foram elaboradas as normas que regulamentam o uso da flora silvestre brasileira e exótica por meio de Portarias, como:

- Portaria 122, 19 mar. 1985, regulamenta a coleta, transporte, comercialização e industrialização de plantas ornamentais, medicinais, aromáticas ou tóxicas.
- Portaria 83, 15 out. 1996, regulamenta a exportação de produtos e subprodutos oriundos da flora brasileira.
- Portaria 3, 8 jan. 2004, estabelece os procedimentos para a emissão de licenças CITES para as espécies da flora.

Durante os trinta anos da Convenção, o Brasil participou de todas as Conferências das Partes, já teve representante no Comitê de Flora e no Comitê Permanente.

Nos anexos da CITES constam 688 espécies da fauna e 2.760 da flora brasileira, sendo que nenhuma destas foi proposta pelo Brasil.

## APÊNDICES I E II.

Aproximadamente 5 mil espécies de animais e 28 mil espécies de plantas são protegidas pela CITES. Elas estão incluídas em três Apêndices ou Anexos (Tabelas 1, 2 e 3), segundo o grau de proteção que necessitam, impondo-se diferentes exigências e restrições ao trânsito internacional.

Os anexos incluem alguns grupos inteiros, como cactos e orquídeas. Em alguns casos só uma subespécie ou população geograficamente separada (por exemplo a população de só um país) é listada.

Tabela 1. Composição dos Anexos da CITES, para grupos taxonômicos por número de espécies (spp.), gêneros (sspp.) e populações (popns).

	<b>Anexo I</b>	<b>Anexo II</b>	<b>Anexo III</b>
<b>Plantas</b>	298 spp. + 4 sspp.	28.074 spp. + 3 sspp. + 6 popns	45 spp. + 1 ssp. + 2 popns

Por mais ameaçada que esteja uma espécie, se não tiver valor comercial no mercado internacional não será adicionada aos Anexos da Convenção.

Tabela 2. Plantas nativas brasileiras citadas nos Apêndices da CITES, atualizados a 3 de maio de 2007.

<b>Anexo I</b>	<b>Anexo II</b>	<b>Anexo III</b>
Espécie ameaçada de extinção, afetadas ou potencialmente afetadas pelo comércio. O comércio de espécimes dessas espécies de forma a não determinar ameaças sérias a sobrevivência.	Espécie não necessariamente ameaçada de extinção, mas que pode chegar a ser ameaçada caso o comércio não seja controlado. O comércio de espécimes dessas espécies é sujeito a regulação severa de forma a evitar utilização incompatível com sua sobrevivência.	Espécies incluídas por solicitação de um país que necessita da cooperação de outros países para evitar a exploração não sustentável ou ilegal da espécie.
Comércio internacional; sujeito a regulação particularmente severa; em geral, proibido, podendo-se autorizar o comércio desses espécimes em condições excepcionais, para pesquisa científica, etc.	Comércio: permitido desde que tenha parecer da autoridade científica afirmando que o comércio não é prejudicial para a sobrevivência da espécie no seu ambiente natural e que a autoridade administrativa verifique que a espécie não foi obtida em contravenção com a legislação vigente.	Comércio internacional: somente com de licença de exportação ou certificado de origem.

Tabela 3. Plantas nativas brasileiras citadas nos Apêndices da CITES, atualizados a 3 de maio de 2007.

Apêndice I	Apêndice II	Apêndice III
Bromeliaceae: bromélias	<i>Tillandsia kautskyi</i> <i>Tillandsia sprengeliana</i> <i>Tillandsia sucrei</i>	
Cactaceae: cactos	Cactaceae spp. (exceto as espécies incluídas no Apêndice I)	
<i>Discocactus</i> spp. <i>Melocactus conoideus</i> <i>Melocactus deinacanthus</i> <i>Melocactus glaucescens</i> <i>Melocactus paucispinus</i> <i>Uebelmannia</i> spp.		
Cyatheaceae: xaxins, samambaias	<i>Cyathea</i> spp. <sup>1</sup>	
Dicksoniaceae: xaxins-pretos	<i>Dicksonia</i> spp. (somente as populações americanas)	
Meliaceae: mogno	<i>Swietenia mahagoni</i>	
Orchidaceae: orquídeas	Orchidaceae spp. (exceto as espécies incluídas no Apêndice I)	
<i>Laelia jongheana</i> <sup>2</sup> <i>Laelia lobata</i>		

<sup>1</sup>UNEP-WCMC, 2005 cita como ameaçadas 30 spp. brasileiras de *Cyathea*.

<sup>2</sup>Para as *Laelia* spp., plântulas ou culturas de tecido obtidas *in vitro*, em meio sólido ou líquido, transportados em recipientes estéreis, não estão sujeitas às provisões da Convenção. *Laelia jongheana* é nativa na Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, e *Laelia lobata* do litoral do Rio de Janeiro (<http://www.curacaoorchidclub.com/cites.htm>).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Azarias Machado de; PASSOS, Paulo Roberto de Assis; MARQUES, Luiz Guilherme da Costa; OLIVEIRA, Luciano Basto; VIDAURRE, Graziela Baptista; ROCHA, José das Dores de Sá. Pirólise de resíduos do coco-da-baía (*Cocos nucifera* Linn.) e análise do carvão vegetal. **Revista Árvore**, v. 28, n. 5, p.707-714, 2004.

ASSIS, Adriane Marinho de; FARIA, Ricardo Tadeu de; COLOMBO, Larissa Abgariani; CARVALHO, Jane Fiúza Rodrigues Portela de. Utilização de substratos à base de coco no cultivo de *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 255-260, 2005.

CARNEIRO, Leonardo A.; MANSUR, Elisabeth. Contribuição de metodologias *in vitro* para a conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, v. 2, n. 1, p.47-56, 2004.

COSTA, Fabiane Nepomuceno da. Campos rupestres. *in*: SILVA, Alexandre Christóforo; PEDREIRA, Lea Cristina Vilela Sá Fortes; ABREU, Pedro Ângelo Almeida (Eds.) **Serra do Espinhaço meridional: paisagens e ambientes**. Diamantina: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2005. p. 139-145.

FERRAZ, Marcos Vieira; CENTURION, José Frederico; BEUTLER, Amauri Nelson. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 209-214, 2005.

FORZZA, Rafaela Campostrini; CHRISTIANINI, Alexander Vicente; WANDERLEY, Maria das Graças L.; BUZATO, Silvana. *Encholirium* (Pitcairnioideae – Bromeliaceae): conhecimento atual e sugestões para conservação. **Vidalia**, v. 1, n. 1, p.7-20, 2003.

FRANCO, José Luiz de Andrade; DRUMMOND, José Augusto. Frederico Carlos Hoehne: a atualidade de um pioneiro no campo da proteção à natureza no Brasil. **Ambiente & Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 1-26, 2005.

GURGEL, Rodrigo Ravani. **Fabricação de adubos e vasos utilizando a fibra de coco**. Resposta Técnica. Ministério da Ciência e Tecnologia, Sistema Brasileiro de Respostas Técnicas. Disponível: <http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt709.pdf>, 2005

MATIAS, Lígia Queiroz. **Biologia e estratégia para conservação de *Constantia cipoensis* Porto & Brade (Orchidaceae)**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 137 p., il. Dissertação de Mestrado em Botânica.

MATIAS, Lígia Queiroz; BRAGA, Pedro Ivo Soares; FREIRE, Adriana Galvão. Biologia reprodutiva de *Constantia cipoensis* Porto & Brade (Orchidaceae), endêmica da Serra do Cipó, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 19, n. 1, p. 119 -125, 1996.

MENEZES, Nanuza L.; GIULLIETTI, Ana M. Campos rupestres: paraíso botânico na Serra do Cipó. **Ciência Hoje**, v. 5, n. 25, p. 38-44, 1986.

PAIVA, C. L. Coleta ilegal de plantas na Serra do Cipó. **Ambiente Hoje AMDA**, Belo Horizonte, v. 15, n. 109, p. 2, 2004.

PAULA, Cláudio Coelho de; NASCIMENTO, Ádila Martins do; FONTES, Luiz Eduardo Ferreira; FERNANDES, Raphael Bragança Alves; LIMA, Frederico Nunes Borges. Utilização de salvinia (*Salvinia auriculata*) como substrato para o cultivo de bromélias. **Vidalia**, v. 1, n. 1, p.47-56, 2003.

ROCHA, Carlos Frederico Duarte da; COGLIATTI-CARVALHO, Luciana; NUNES-FREITAS, André Felipe; ROCHA-PESSÔA, Thereza Christina; DIAS, Aline dos Santos; ARIANI, Cristina Valente; MORGADO, Leila Nunes. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, v. 2, n. 1, p.52-68, 2004.

SILVA, Alexandre Christóforo; PEDREIRA, Lea Cristina Vilela Sá Fortes. Potencialidades, demandas e ameaças. In: SILVA, Alexandre Christóforo; PEDREIRA, Lea Cristina Vilela Sá; ABREU, Pedro Ângelo Almeida (Eds.). **Serra do Espinhaço meridional: paisagens e ambientes**. Diamantina: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2005. p. 261-271.

UNEP–WCMC. **UNEP–WCMC Species Database: CITES-Listed Species**. [http://sea.unep-wcmc.org/isdb/CITES/Taxonomy/country\\_list.cfm?col=2&country=BR&source=plants&displaylanguage=eng](http://sea.unep-wcmc.org/isdb/CITES/Taxonomy/country_list.cfm?col=2&country=BR&source=plants&displaylanguage=eng). 2005.

VERCILLO, Ugo. **Plano de Ação GT Cites**. Brasília: IBAMA, 2006.17 p., manuscrito.

#### PALAVRAS-CHAVE

Plantas ornamentais; exportação; comércio; tráfico; CITES; acordos internacionais; conservação biológica; coleta; colecionismo; coleções biológicas; conservação *ex situ*; IBAMA.

## Isolamento e cultivo *in vitro* de micrósporos e grãos de pólen.

Rodrigues, Lia Rosane<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador IV da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Laboratório de Cultura de Tecidos. Rua Gonçalves Dias, 570, Porto Alegre, CEP 90130-060, RS, Brasil. Fone 51 3388 8000. E-mail: [liarr@ufrgs.br](mailto:liarr@ufrgs.br).

O estabelecimento de células, tecidos ou órgãos vegetais *in vitro*, sob condições controladas, pode interromper o sistema de sinalização a que estas partes vegetais estão submetidas, sem, contudo, inviabilizá-las. Sendo expostas a uma nova condição ambiental, as células podem apresentar uma resposta morfogênica que não se expressaria *in vivo*. As condições de cultivo podem tanto permitir a continuidade de um padrão de desenvolvimento, inviabilizado na planta, quanto promover a desdiferenciação e a neomorfogênese pelas vias organogênica ou embriogênica (Dodeman et al., 1997; Von Arnold et al., 2002; Jiménez, 2001). Nesta última via, há formação de embriões a partir de células do esporófito (de variados tipos celulares do corpo vegetal) ou do gametófito (Reynolds, 1997). Ainda são poucas as informações sobre indução de embriogênese no xenófito (endosperma) (Tulecke et al., 1988; Garg et al., 1996). No caso do gametófito masculino (pólen), há registros de embriogênese *in vitro* tanto a partir da célula que o origina, o micrósporo, quanto das células que constituem o pólen, denominadas vegetativa e generativa, ou de ambas (Pretová et al., 1993).

Por definição, o micrósporo possui apenas um núcleo haplóide não-polarizado e, a partir da sua vacuolação, já é um pólen (Mariath et al., 2003). Tanto micrósporos quanto gametófitos podem ser estabelecidos *in vitro* para indução à embriogênese. Para isso, devem ocorrer divisões celulares atípicas capazes de alterar o seu destino (Pretová et al., 1993).

Os embriões induzidos *in vitro* podem apresentar variados graus de organização celular em relação ao modelo zigótico. O produto das divisões celulares pode ser um embrião completo ou, no caso de falhas da histodiferenciação, um embrião incompleto ou defectivo (Von Arnold et al., 2002; Rodrigues et al., 2005a).

A embriogênese de origem gametofítica foi registrada na década de 1960, por pesquisadores indianos, ao estabelecerem anteras de *Datura innoxia* em meio nutritivo. Nas condições oferecidas, os gametófitos apresentaram um desvio da rota de desenvolvimento e originaram esporófitos haplóides (Guha & Maheshwari, 1964, 1966).

A capacidade de formação de novos tecidos a partir de divisões celulares do gametófito havia sido registrada anteriormente por alguns autores. Entretanto, foram os registros em *Datura innoxia* que impulsionaram a pesquisa neste tema. Desde então, foram conduzidos cultivos experimentais para obtenção de plantas androgênicas de inúmeras espécies, principalmente as cultivadas. Nas condições de cultivo propostas, espécies "responsivas" tornaram-se modelo para estudo dos fatores que alteram e redirecionam o desenvolvimento gametofítico, das condições fisiológicas predisponentes, dos padrões das divisões celulares na transição gametófito-esporófito e das condições de cultivo que favorecem a regeneração de plantas (Maheshwari et al., 1982).

Como consequência, o cultivo de anteras consolidou-se como sistema de obtenção de plantas haplóides e duplo-haplóides. Entretanto, neste sistema, os micrósporos e gametófitos são estabelecidos *in vitro* envolvidos por tecidos esporofíticos da antera (frequentemente estratos parietais e conectivo). À medida que cultivos de anteras foram conduzidos com espécies de diferentes táxons, foi registrado que, em algumas espécies, havia proliferação preferencial dos tecidos esporofíticos. Dentre as espécies que apresentaram esta resposta, foram citadas: *Cajanus cajan* (Vasil, 1967), *Ranunculus sceleratus* (Konar & Nataraja, 1965), *Medicago sativa* (Saunders & Bingham, 1972), *Petunia* spp (Sangwan & Norreel, 1975), *Hevea brasiliensis* (Wang et al., 1980), *Cichorium intybus* (Guedira et al., 1989), *Vitis rupestris* (Altamura et al., 1992), *Manihot esculenta* (Woodward &

Puonti-Kaerlas, 2001), *Malus* spp (Ochatt & Zhang 1996), *Oenothera hookeri* (Martinez & deHalac, 2000), *Pometia pinnata* (Sudarmonowati et al., 2000) e *Glycine max* (Rodrigues et al., 2004a).

É comum que, além de competir *in vitro* por nutrientes, invadir ou comprimir o espaço intralocular e produzir grande quantidade de compostos fenólicos, as proliferações de origem esporofítica originem estruturas embriogênicas (Rodrigues et al., 2005a,b).

As constatações de que o cultivo de anteras não é um sistema exclusivamente androgênico impulsionaram o avanço do cultivo de micrósporos e gametófitos isolados, o qual tem substituído, com vantagens, o cultivo de anteras, em inúmeros laboratórios (Siebel & Pauls, 1989; Duijs et al., 1992; Jähne & Lörz, 1995; Rodrigues et al., 2004c).

A troca de sistema requer, primeiramente, o desenvolvimento de uma técnica de isolamento adequada às características dos botões florais em que são encontrados os estádios de micrósporo e gametófito jovem (pólen unicelular). O isolamento é feito em condições estéreis e com o objetivo de impedir o cultivo simultâneo de células esporofíticas e gametofíticas. O procedimento de isolamento deve garantir que micrósporos e gametófitos sejam estabelecidos ilesos e viáveis *in vitro*, em condições de sofrer as divisões mitóticas atípicas para originar esporófitos com a mesma constituição genética do gametófito (Huang & Keller, 1989; Jähne & Lörz, 1995).

A qualidade do isolado depende diretamente da pureza e da viabilidade das células em cultivo. A pureza corresponde às proporções numérica e volumétrica de micrósporos e gametófitos em relação à de resíduos parietais e conectivais, também denominados debris. É indispensável prevenir o ingresso de células esporofíticas inteiras no meio de cultivo, bem como reduzir a proporção de células gametofíticas mortas (Huang & Keller, 1989; Rodrigues et al., 2006).

Já foi demonstrado que as condições de cultivo para gametófitos isolados são distintas das condições de cultivo de anteras, inclusive para a mesma espécie. Além disso, tratando-se de um cultivo de estruturas microscópicas em diferentes estádios de desenvolvimento (microsporogênese, microgametogênese e embriogênese), este sistema requer o emprego freqüente de: filtros com poros de pequeno diâmetro (~ 15 a 150 µm); centrifugação com gradientes para separação de estratos de cada estágio de desenvolvimento; e, no mínimo, dois recursos de microscopia - um para determinação da viabilidade das células *in vitro* e outro para acompanhamento dos eventos morfogênicos (Rodrigues et al., 2004d).

Tanto o cultivo de gametófitos isolados quanto o cultivo de anteras servem como modelo para estudo dos diferentes aspectos da embriologia. Também servem à pesquisa aplicada, para a descoberta e manipulação de genes. As plantas haplóides e duplo-haplóides têm amplo emprego em trabalhos que buscam variabilidade para o melhoramento genético, permitindo construção de mapas de ligação, obtenção de linhagens homocigotas de espécies "autógamas" e a obtenção de genitores de espécies "alógamas".

Adicionalmente, o sistema de cultivo de micrósporos e pólen isolados oferece inúmeras possibilidades para manipulação genética, incluindo estudos de expressão gênica, indução de mutações, hibridação intertaxons *in vitro* e transformação genética.

Neste contexto, nossa equipe de pesquisa está conduzindo estudos para isolamento e cultivo de micrósporos e gametófitos de *Arachis hypogea*, *Phaseolus vulgaris* e *Glycine max*, espécies para as quais ainda não foram desenvolvidos protocolos para obtenção de plantas androgênicas (Croser et al., 2006). Até o presente, não identificamos outra equipe brasileira atuando neste tema. Apesar do amplo potencial, o progresso da pesquisa neste sistema *in vitro* dependerá de uma nova abordagem, obrigatoriamente multidisciplinar, da revisão de alguns conceitos equivocados e do emprego de técnicas eficientes para a interpretação das respostas morfogênicas.

Dentro do tema, há premissas antigas não consensualizadas, como a da relevância do dimorfismo polínico, e observações novas a serem interpretadas, como o recente registro de morte celular programada nos cultivos embriogênicos.

Apesar de o cultivo de micrósporos e pólen isolados ser pouco difundido no Brasil, é um sistema promissor para a indução à embriogênese de origem gametofítica das

numerosas espécies vegetais para as quais ainda não foram desenvolvidos protocolos. Nossa experiência comprova que ajustes simples permitem implantar esse sistema em um laboratório equipado para outros tipos de cultivo, por isso, estimulamos outros pesquisadores brasileiros a adotá-lo, como alternativa mais eficiente em relação ao cultivo de anteras.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAMURA, M.M.; CERSOSIMO, A.; MAJOLI, C.; CRESPIAN, M. Histological study of embryogenesis and organogenesis from anthers of *Vitis rupestris* du Lot cultured *in vitro*. **Protoplasma**, v. 171, p. 134-141, 1992.

CROSER, J.S.; LÜNSDOLF, M.M.; DAVIES, P.A.; CLARKE, H.J.; BAYLISS, K.L.; MALLIKARJUNA, N.; SIDDIQUE, K.H.M. Toward doubled haploid production in the Fabaceae: progress, constraints, and opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, p. 139-157, 2006.

DODEMAN, V.L., DUCREUX, G; KREIS, M. Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, n. 313, p. 1493-1509, 1997.

DUIJS, J.G.; VOORRIPS, R.E.; VISSER D.L.; CUSTERS, J.B.M. Microspore culture is successful in most crop types of *Brassica oleracea* L. **Euphytica**, v. 60, p. 45-55, 1992.

GARG, L.; BHANDARI, N.N.; RANI, V.; BHOJWANI, S.S. Somatic embryogenesis and regeneration of triploid plants in endosperm cultures of *Acacia nilotica*. **Plant Cell Reports**, v. 15, n. 11, p. 855-858, 1996.

GUEDIRA, M.; DUBOIS-TYLSKI, T.; VASSEUR, J.; DUBOIS, J. Embryogenèse somatique directe à partir de cultures d'anthères du *Cichorium* (Asteraceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 67, p. 970-976, 1989.

GUHA, S.; MAHESHWARI, S.C. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. **Nature**, v. 5057, p. 97-98, 1966.

GUHA, S.; MAHESHWARI, S.C. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. **Nature**, v. 4957, p. 497, 1964.

HUANG, B.; KELLER, W.A. Microspore culture technology. **Journal of Tissue Culture Methods**, v. 12, n. 4, p. 171-178, 1989.

JÄHNE, A.; LÖRZ, H. Cereal microspore culture. **Plant Science**, v.109, p. 1-12, 1995.

JIMÉNEZ, V. M. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 196-223, 2001.

KONAR, R.N.; NATARAJA, K. 1965. Production of embryoids from the anthers of *Ranunculus sceleratus* L. **Phytomorphology**, v. 15, p. 245-248, 1965.

MAHESHWARI, S.C.; RASHID, A.; TYAGI, A.K. Haploids from pollen grains – retrospect and prospect. **American Journal of Botany**, v. 69, n. 5, p.865-879, 1982.

MARIATH, J.E.A.; SANTOS, R.P.; BITTENCOURT, N.S. 2003. Flor. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, S. M. (Eds.) **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Ed. UFV. 438p.

MARTINEZ, L.D.; de HALAC, I.N. Morphogenesis in short-term and long-term anther derived calli of *Oenothera hookeri* de Vries. **Biocell**, v. 24, n. 3, p. 239-246, 2000.

MICHAUX-FERRIÉRE, N.; GROUT, H.; CARRON, M.P. Origin and ontogenesis of somatic embryos in *Hevea brasiliensis* (Euphorbiaeae). **American Journal of Botany**, v. 79, n. 2, p. 174-180, 1992.

OCHATT, S.J.; ZHANG, Y.X. 1996. *In vitro* Haploidization of Fruit Trees. In: MOHAN, S.J., SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Eds.) ***In vitro* Haploid Production in Higher Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. v. 3, 412p.

PRETOVÁ, A.; RUIJTER, N.C.A.; VAN LAMMEREN, A.A.M.; SCHEL, J.H.N. Structural observations during androgenic microspore culture of the 4c1 genotype of *Zea mays* L. **Euphytica**, v. 65, p. 61-69, 1993.

REYNOLDS, T.L. Pollen embryogenesis. **Plant Molecular Biology**, v. 33, p. 1-10, 1997.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Histology of embryogenic responses in soybean anther culture. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 80, n. 2, p. 129-137, 2005a.

RODRIGUES, L.R.; FORTE, B.C.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Isolation and culture of soybean microspores and pollen grains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 537-545, 2006.

RODRIGUES, L.R.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Cultivo de anteras x cultivo de micrósporos isolados: dez razões para uma nova abordagem da embriogênese do micrósporo. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, n. 2, p. 50-53, 2004c.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Embryogenic potential of soybean staminal tissues. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 1, n. 2, p. 95-101, 2005b.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Effects of light conditions and 2,4-D concentration in soybean anther culture. **Plant Growth Regulation**, v. 44, n. 2, p. 125-133, 2004b.

RODRIGUES, L.R.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A. Anatomia vegetal aplicada ao estudo de sistemas androgênicos in vitro. **Brazilian Journal of Biosciences**, v. 2, n. 3/4, p. 159-166, 2004d.

RODRIGUES, L.R.; TERRA, T.F.; BERED, F.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Origin of embryo-like structures in soybean anther culture investigated using SSR marker. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 77, n. 3, p. 287-289, 2004a.

SANGWAN, R.S.; NOREEL, B. Induction of plants from pollen grains of *Petunia* cultured *in vitro*. **Nature**, v. 257, p. 222-224, 1975.

SAUNDERS, J.W.; BINGHAM, E.T. Production of alfalfa plants from callus tissue. **Crop Science**, v. 12, p. 804-808, 1972.

SIEBEL, J.; PAULS, K.P. A comparison of anther and microspore culture as a breeding tool in *Brassica napus*. **Theoretical Applied Genetics**, v. 78, p. 473-479, 1989.



SKINNER, D.Z.; LIANG, G.H. Haploidy in alfalfa. In: MOHAN, S.J.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Eds) ***In vitro Haploid Production in Higher Plants***. 3: Important Selected Plants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. pp 365-375.

SUDARMONOWATI, E.; ROSMITHAYANI; RAHAYU, W. Regeneration of embryoids derived from anther culture and the production of artificial seeds in *Pometia pinnata*. **Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Technology**, v. 8, n. 1, p. 37-45, 2000.

TULECKE, W.; McGRANAHAN, G.; AHMADI, H. Regeneration by somatic embryogenesis of triploid plants from endosperm of walnut, *Juglans regia* L Cv Manregian. **Plant Cell Reports**, v. 7, n. 5, p. 301-304, 1988.

VASIL, I.K. Physiology and cytology of anther development. **Biological Review**, v. 42, p. 327-373, 1967.

VON ARNOLD, S.; SABALA, I.; BOZHKOVA, P.; DYACHOK, J.; FILONOVA, L. Developmental pathways of somatic embryogenesis. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 69, p. 233-249, 2002.

WOODWARD, B.; PUONTI-KAERLAS, J. Somatic embryogenesis from floral tissue of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Euphytica**, v.120, p. 1-6, 2001.

PALAVRAS-CHAVES:

Androgênese; Embriogênese; Haplodiploidização; Gametófito; Embriões.

## Meio e condições de cultivo *in vitro*.

Santos, Maria do Desterro Mendes dos<sup>1</sup>; Torres, Antonio Carlos<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Aluna de mestrado da UNB; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Hortaliças, Br 060, Km 09, zona rural, Cx. Postal 218, CEP: 70 359-970, Brasília – DF, Fone (61) 3385 9070, email: [torres@cnph.embrapa.br](mailto:torres@cnph.embrapa.br)

## INTRODUÇÃO

O meio de cultura consiste de componentes essenciais e opcionais. Os essenciais compreendem a água, os sais inorgânicos, a fonte de carbono e energia, vitaminas e substâncias reguladoras de crescimento. Os outros componentes incluem aminoácidos e amidas, ácidos orgânicos e substâncias naturais complexas.

Uma consideração relevante nas citações de meios de cultura é que estes são designados como MS, White, B5, etc, embora queira-se referir apenas aos sais minerais de MS, White, B5, etc. Também, deve-se observar se nas referências aos meios não houve alterações nas concentrações dos carboidratos, vitaminas, suplementos orgânicos e substâncias de crescimento. Algumas vezes isso não é muito claro. Os componentes básicos do meio nutritivo o fazem um substrato excelente para o crescimento de bactérias e fungos. A inclusão de fungicidas e bactericidas não é aconselhável, podendo ter efeito tóxico para o explante (Thurston et al., 1979).

### Componentes do Meio Nutritivo

A qualidade da água é muito importante em cultura de tecidos uma vez que este é o componente que entra em maior proporção na preparação do meio. Para melhor controle deve-se usar água destilada deionizada.

### Nutrição mineral

O **nitrogênio** pode ser suplementado na forma de nitrato, nitrito, amônio ou compostos orgânicos, dependendo do material em cultura. É constituinte de aminoácidos, nucleotídeos e coenzimas, tendo importância na síntese protéica. Meio enriquecido com nitrogênio é fundamental para a indução de embriogênese somática, bem como diferenciação de parte aérea.

O **fósforo** é adicionado ao meio, principalmente, como fosfato ( $H_2PO_4$ ). Desempenha papel importante no metabolismo energético, na regulação de processos enzimáticos e na ativação de enzimas. Necessário para a síntese do ATP; na organogênese está envolvido na diferenciação da parte aérea, pois reverte o efeito das auxinas.

O **potássio** é usado na forma de nitrato, fosfato ou cloreto. Ativador de várias enzimas do metabolismo de carboidratos e proteína. Uma das mais importantes é a quinase do piruvato, enzima envolvida nos processos de glicólise e respiração. É necessário para a embriogênese somática. Esta necessidade é distinta daquela para crescimento de células. Enquanto que 1mM é suficiente para proliferação celular, uma concentração substancial de 20mM é utilizada para produção ótima de embriões somáticos em cenoura.

O **enxofre** é incorporado ao meio, principalmente, na forma de sulfato, outra possibilidade é na forma de aminoácidos (cistina, cisteína e metionina). Envolvido no metabolismo energético na formação do fosfossulfato de adenosina, constituinte da tiamina, biotina e coenzima A.

O **cálcio** é adicionado, principalmente, na forma de cloreto ou nitrato. Possui papel importante no metabolismo da planta. Envolvido na divisão celular, uma vez que um dos componentes da lamela média é o pectato de cálcio, mantém a integridade da membrana celular e é importante na densidade de grãos de polén requerida para germinação. É um agente quimiotrófico para o direcionamento do tubo polínico. Altas concentrações (6 a 9mM) são necessárias para controle da necrose do ápice.

O **magnésio** é mais usada na forma de o sulfato de magnésio. É um dos componentes da clorofila; cofator importante para várias reações enzimáticas que atuam sobre substratos fosforilados.

O **hidrogênio** exerce papel importante no metabolismo da planta. Com exceção do CO<sub>2</sub>, todos os compostos orgânicos têm hidrogênio. Na sua forma oxidada é um próton, tendo assim papel tão importante quanto qualquer elemento.

O **carbono** forma o esqueleto de todos os compostos orgânicos.

O **oxigênio** é similar ao carbono, é um dos componentes de todos os compostos orgânicos do organismo vivo: carboidratos, lipídios, ácidos nucléicos, produtos naturais. O papel do oxigênio livre é receptor de elétrons na respiração.

O **ferro** é adicionado na forma de Fe-EDTA. Envolvido nas reações de oxi-redução nos organismos vivos. Há muitos metabólitos contendo ferro. Essencial para a síntese da clorofila e é integrante do grupo protético (heme) das porfirinas.

O **boro** é usado na forma de ácido bórico. Envolvido no metabolismo de carboidratos e ácidos nucléicos. Importante na germinação de grãos de pólen e crescimento do tubo polínico.

O **molibidênio** é adicionado na forma de molibdato de sódio (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>). Cofator da redutase do nitrato.

O **cobre** é usado como sulfato de cobre. Constituinte da enzima plastocianina que é importante componente do transporte eletrônico.

O **cloro** é essencial para a fotossíntese, sendo requerido durante a reação de Hill.

O **zinco** é usado como sulfato de zinco. Importante nas reações de oxi-redução das plantas. Cofator de enzimas anidrase carbônica.

O **manganês** é adicionado como sulfato de manganês. Essencial para a reação de Hill na fotossíntese, quando a molécula de água é quebrada produzindo elétrons e oxigênio.

O **cobalto** é usado como cloreto de cobalto e está envolvido na expansão foliar.

## Nutrição Orgânica

Os compostos orgânicos importantes são os carboidratos, substâncias reguladoras de crescimento, vitaminas, aminoácidos e amidas, certas purinas e pirimidinas, hexitóis e ácidos orgânicos.

### A. Fonte de carbono e energia

Os carboidratos mais usados são a sacarose, glicose e frutose nos níveis de 2 a 5% (p/v). A concentração de 3% é a mais usada. Concentrações de sacarose de 6 a 12% podem ser usadas em determinadas situações, por exemplo, em cultura de embriões, frutos e anteras, enquanto que nível de 1,5% é usado em cultura de protoplastos.

Glicose e frutose devem ser esterilizadas a frio.

### B. Substâncias reguladoras de crescimento

O controle químico da diferenciação de parte aérea em cultura de calo de *Nicotiana* foi estabelecido por Skoog e Tsui (1948). Em suas observações, a auxina inibia a formação de gemas, enquanto que a adenina bem como o fosfato inorgânico revertiam este efeito estimulando brotações. Este foi o ponto de partida para que Skoog e Miller (1957) constatassem que o processo de organogênese *in vitro* era controlado por substâncias hormonais. Eles observaram que o desenvolvimento de parte aérea, raiz ou calo era determinado pelo balanço entre auxina e citocinina. Meio com concentrações relativamente alta de auxina e baixa de citocinina favorecia o enraizamento e o balanço inverso promovia a formação de parte aérea. Concentrações iguais propiciava a produção de calo. Por esta razão as auxinas e citocininas são componentes importantes no controle da morfogênese *in vitro*.

As concentrações das auxinas nos meios variam de 0,01 a 10mg/l. As auxinas mais usadas são AIA, AIB, ANA, 2,4-D, 2,4,5-T, 4-CPA e picloran. A auxina 2,4-D é bastante usada para a indução de calo *in vitro* e tem o efeito de supressão da morfogênese. O 4-CPA é uma das auxinas menos tóxicas para o tecido e, talvez, a que tenha o efeito menos detrimental na morfogênese. A auxina 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), e picloran induzem a formação de calo em monocotiledôneas. As auxinas são termo-estáveis não decompondo quando autoclavadas. O AIA é a auxina natural e a menos estável, sendo destruído em pH baixo, luz (após 12 dias de exposição à intensidade luminosa de 1500 lux, 10-15% do AIA foi decomposto) (Posthumus, 1971), peróxidos, oxidação catalítica, e peroxidases. As auxinas 2,4-D e ANA são sintéticas e têm efeitos semelhantes as auxinas de ocorrência natural (Stepan-Sarkissian, 1990), sendo mais estáveis á degradação. As soluções estoques de AIA não devem ser usadas após uma semana de seu preparo, enquanto soluções estoques de 2,4-D e ANA podem ser armazenadas até 2 meses sem ocorrer decomposição.

A dissolução das auxinas é feita em NaOH 1N. Utiliza-se 0,3ml desta base para dissolver 10mg de auxina (3 gotas dessa base, em pipeta Pasteur).

As citocininas são derivadas da adenina (aminopurina) e têm um papel fundamental na diferenciação e regeneração de plantas na maioria das espécies. Induzem a divisão celular, proliferação e morfogênese da parte aérea (Smith, 1992). As citocininas mais usadas em cultura de tecidos são a cinetina (CIN), benziladenina (BA), zeatina (Zea), isopentenil adenina (2ip) e thidiazuron (TDZ). As concentrações recomendadas destas substâncias variam de 0,03 a 30 mg/l. Cinetina, zeatina e isopentenil adenina são considerados termo-estáveis, uma vez que nenhum produto de sua decomposição foi observado após sua autoclavagem a 120°C, durante 1 hora (Dekhuijzer, 1971). A benziladenina permanece estável quando autoclavada a 110°C, durante 20 minutos, mas a degradação fotoquímica pode ocorrer.

A dissolução das citocininas pode ser feita em HCl 1N, levemente aquecido. Utiliza-se 0,3ml deste ácido para dissolver 10mg de citocinina.

O ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) é usado, algumas vezes, em cultura de "meristemas", na recuperação de plantas livres de vírus. O GA<sub>3</sub> deve ser dissolvido em água com pH ajustado a 5,7 (Smith, 1992) ou em base. As soluções de GA<sub>3</sub> devem ser esterilizadas em filtro bacteriológico uma vez que esta substância se decompõe por autoclavagem. Van Bragt e Pierik (1971) observaram que GA<sub>3</sub> submetido a autoclavagem a 114°C, durante 20 minutos, teve sua atividade reduzida em mais de 90%. As soluções estoques devem ser preparadas na hora.

O ácido abscísico (ABA) é um fitohormônio envolvido no processo de dormência e abscisão de folhas e frutos (Smith, 1992). Na cultura de tecidos o papel deste composto ainda não está bem definido (Gamborg, 1991), embora tenha efeito na embriogênese somática. Este composto é termo-estável, mas é fotossensível. Entretanto, Gamborg (1971) recomenda a esterilização à frio. O ABA é dissolvido em água ou base.

A Tabela 1 contém a relação de hormônios e substâncias reguladoras de crescimento mais comumente usados em cultura de tecidos.

### C. Vitaminas

**Tiamina (Vit. B<sub>1</sub>)** a sua importância no metabolismo celular é devido ao seu papel como coenzima na descarboxilação dos cetoácidos. Ex: Piruvato e cetoglutárico.

**Ácido nicotínico (Niacina ou Vitamina B<sub>3</sub>)**. É um componente das coenzimas NAD e NADP, importantes na transferência de hidrogênio.

**Piridoxina, Piridoxal e Piridoxamina (complexo vit. B<sub>6</sub>)**. Fazem parte do piridoxal-fosfato, coenzima importante no metabolismo de aminoácidos. Estas vitaminas têm papel importante nas reações de transaminação e descarboxilação.

**Biotina**. Influência no metabolismo do ácido aspártico, especialmente, nas reações do ciclo de Krebs que leva à formação deste ácido.

**Ácido ascórbico (vit. C).** Catalisador de fosforilização fotossintética devido ao poder de oxidar e reduzir facilmente.

#### **D. Aminoácidos e amidas**

**L-tirosina** tem influência na iniciação de parte aérea em cultura de calo, **L-arginina** no enraizamento, e **L-serina** na obtenção de embriões haplóides mediante o cultivo de micróspero.

As amidas **L-glutamina** e **L-asparagina** são benéficas na obtenção de embriões somáticos, e a **Cisteína** é incluída, às vezes, como agente redutor.

#### **E. Outros suplementos orgânicos**

- **Hexitóis:** O mais usado é o **inositol**, myo-inositol é a forma inativa e i-inositol é a ativa. O Meso-inositol é uma mistura das formas **d** e **l**. O inositol é considerado estimulador de processos de crescimento *in vitro* e pode servir como fonte de carboidrato. Desempenha papel importante na biossíntese do ciclitol, no armazenamento de compostos polihídricos como reserva, na germinação de sementes, no transporte de açúcar, na nutrição mineral, no metabolismo de carboidratos, na estrutura de membranas, formação de parede celular, homeostase de hormônios e no stress fisiológico (Loevus e Loewus, 1983).

- **Purinas e Pirimidinas:** A **adenina** ou **sulfato de adenina** estimula o crescimento de brotações *in vitro*. A concentração usada varia de 40 a 160mg/l.

- **Ácidos orgânicos:** A adição de ácidos de compostos intermediários do ciclo de Krebs, tais como malato ou citrato, é comum em meio destinado a cultura de protoplasto. Estes compostos parecem estar envolvidos na minimização do efeito inibidor da amônia (Gamborg, 1991). A concentração de até 10mM de sais de potássio é recomendada. O **ácido ascórbico** e o **ácido cítrico** são usados para prevenir o escurecimento de tecidos excisados de plantas. As soluções antioxidantes são preparadas usando uma mistura de **100mg de ácido ascórbico** e **150mg de ácido cítrico**, dissolvido em 1 litro de água. Esta solução não deve ser autoclavada e sua esterilização é feita em filtro bacteriológico de 0,22 ou 0,45 micras. A inclusão de 2000 mg/l de ácido ascórbico estimula o crescimento de calo.

- **Compostos fenólicos:** Muitos derivados fenólicos (mono-OH) promovem o desenvolvimento de parte aérea (Lee e Skoog, 1965) e iniciação de raízes (bi-OH) (Rucker e Paupardin, 1969). Estas substâncias atuam na degradação oxidativa do AIA. Por outro lado, compostos fenólicos (bi-OH) inibem a degradação oxidativa do AIA, tendo efeito benéfico no enraizamento.

- **Extratos naturais:** São preparações obtidas de produtos naturais, de composição indefinida, que servem para enriquecer o meio de cultivo. São fontes de fatores, até então desconhecidos, que estimulam o crescimento *in vitro*. A inclusão destes extratos em meio de cultura só é feita, em último caso, quando as tentativas de adequação não forem suficientes para promover determinado processo morfogênico. Em trabalhos de rotina, estas preparações podem ser usadas caso estimulem respostas desejadas.

**Leite de coco.** É o endosperma de *Cocos nucifera* na fase gelatinosa. É um suplemento bastante usado. Recomenda-se que seja esterilizado à frio.

**Água de coco.** É o endosperma líquido de *Cocos nucifera* comprado no mercado. Bastante usado nos laboratórios do Brasil.

**Suco de laranja, tomate e outros.** Também podem ser adicionados ao meio nutritivo. O suco de laranja contém ácido cítrico e outras substâncias de crescimento não identificadas. Pode-se usar suco de laranja fresco ou congelado.

**Polpa de banana.** Tem sido usada na suplementação de meio de cultura de orquídeas. O seu efeito depende da cultivar e da quantidade, bem como, se originária de frutos verdes ou maduros.

**Extrato de levedura.** É extraído com álcool, contendo em sua composição produtos solúveis neste solvente. É fonte de aminoácidos e vitaminas. Ver composição em anexo.

Tabela 1. Relação de e substâncias reguladoras de crescimento mais usadas em cultura de tecidos de plantas.

<b>Auxinas</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>M.M.</b>
01. Ácido Indolil-3-acético	AIA	175,2
02. Ácido Indolil-3-butírico	AIB	203,23
03. Ácido Naftalenoacético	ANA	186,2
04. Ácido 2,4-diclorofenoxiacético	2,4 -D	221,04
05. Ácido 4-clorofenoxiacético	4-CPA	184,5
06. Ácido 4-amino-3,5,6-Tricloropicolínico	Picloram	241,46
07. Ácido 2,4,5-Triclorofenoxiacético	2,4,5-T	255,49
08. Ácido-Naftoxiacético	NOA	202,21
<b>Citocininas</b>		
09. 6-Furfurilaminopurina ou Cinetina	CIN	215,2
10. 6-Benzilaminopurina ou 6-benziladenina	BA, BAP	225,2
11. N <sup>6</sup> -(4-hidroxi-3-metilbut-2enil) aminopurina ou Zeatina	ZEA	219,2
12. (6-benzilamino)-9-(2-tetrahidropiranyl) 9H-purina	PBA	300
13. N <sup>6</sup> -3-dimetil-2-butilaminopurina ou Isopenteniladenina	2ip	203,3
14. Thidiazuron (1-fenil-3-(1,2,3-thiadi-azol-5yl) ureia	TDZ	220,2
<b>Giberelinas</b>		
14. Ácido giberélico	GA <sub>3</sub>	346,4
<b>Outros</b>		
15. Ácido 2-(cloroetil) fosfônico ou Ethephon ou Ethrel	CEPA	144,5
16. Ácido abscísico	ABA	264,31

#### Materiais de suporte

**Ágar:** É um dos componentes mais impuros em cultura de tecidos. É um polissacarídeo obtido pela purificação de algas marinhas. O ágar deve ser de boa qualidade, por exemplo, TC ágar, ou Taiyo ágar. A concentração usada varia de 0,6% a 1% (de 6 a 10 g/l). O ágar impuro é constituído de polissacarídeos, aminoácidos, sais, açúcar, etc., devendo ser lavado em água destilada antes de ser usado. O ágar é alcalino, líquido à temperatura de 80°C e se solidifica à 40°C.

Outros produtos gelificantes incluem-se **Gelrite** (Calbiochem) e **Phytigel** (Sigma). São mais puros que o ágar e, provenientes de fermentações bacterianas. Usados na concentração de 0,2% (2 g/l). Citam-se que estes produtos podem causar vitrificação em algumas espécies.

Alguns laboratórios sugerem o uso de polvilho de mandioca ou de milho (maizena) como gelificantes.

**Outros produtos:** Poliacrilamida, sílica gel e papel de filtro

**Considerações sobre carvão ativado:** Esse produto é um pó bastante fino e de cor escura. É utilizado para eliminar substâncias tóxicas produzidas pelo explante *in vitro*. A concentração é em torno de 0,3%. É usado quando ocorre o escurecimento do tecido *in vitro*, descoloração de meio de cultura, formação de calo na fase de enraizamento de propágulos, ou quando o crescimento do tecido é inibido. Adsorve produtos provenientes de metabolismo, bem como

substâncias hormonais e vitaminas. Sugere-se, em alguns casos, aumento da concentração de auxina, quando na presença de carvão ativado. A pureza deste produto é variável.

Qualidades físicas do meio

### 1. Meio sólido

### 2. Meio líquido

**Estacionário:** Com suporte de papel de filtro ou sem suporte

**Com agitação:** Suave, vigorosa, recíproca e orbital.

### pH

O crescimento do tecido *in vitro* é melhor em torno de pH 5,0. Recomenda-se este valor para formulações líquidas. Em meios gelificados, com ágar, o pH deve ser ajustado para 5,7, pois em pH 5,0, ocorre a hidrólise de polissacarídeos, enquanto que em pH 6,0-6,2 verifica-se a precipitação de sais.

Quantidade de meio

Como regra geral, quanto menor o explante, menor a quantidade de meio a ser utilizado. Para ápices caulinares de batata e batata-doce, 4ml de meio líquido é suficiente para a diferenciação e crescimento inicial, entretanto, em culturas estabelecidas, a taxa de crescimento é diretamente proporcional à quantidade de meio (Murashige, 1977).

Condições de incubação

Devem ser consideradas as exigências de luz, temperatura, trocas gasosas e acúmulo de produtos tóxicos no meio.

### A. Luz

Não ocorre diferenciação de parte aérea em culturas mantidas no escuro. As características intensidade luminosa, período de exposição e qualidade da luz, são fundamentais.

Qualidade da luz

A qualidade do espectro da lâmpada utilizada é de suma importância na iniciação de parte aérea e raiz em cultura *in vitro*. As lâmpadas recomendadas são fluorescentes branca fria, Gro-lux ou outros tipos de lâmpadas com emissões nas regiões do vermelho (430nm) e azul (660nm). Estas regiões do espectro influenciam os processos morfogenéticos. As lâmpadas incandescentes não são recomendadas, pois emitem nas faixas do vermelho e vermelho distante e, este último não é adequado.

A região do azul é crítica para indução de parte aérea e a iniciação de raízes adventícias é estimulada por luz vermelha. Em *Helianthus tuberosus*, a iniciação de raízes adventícias em secções de tubérculo, foi efetiva quando as culturas foram expostas a luz emitida próximo a 600nm (Letouze e Beauchesne, 1969).

A luz vermelha também pode inibir a iniciação de raízes laterais, enquanto que a infravermelha pode reverter este efeito (Furuya e Torrey, 1964). A diferenciação de raízes laterais e adventícias parecem ter exigências diferentes.

Logo, em cultura de tecidos, quando se objetiva a multiplicação de plantas, as lâmpadas devem conter emissões adequadas nas regiões da luz azul e vermelho, pois ambas estão envolvidas na iniciação de parte aérea e raiz.

Muitas das lâmpadas disponíveis foram desenhadas para serem utilizadas em casa de vegetação, onde a fotossíntese é importante, mas em cultura de tecidos a fotossíntese não é tão limitante.

As lâmpadas fluorescentes devem ser trocadas a cada seis meses.

Período de exposição diária á luz

Fotoperíodo

As exigências em fotoperíodo devem ser satisfeitas. O início de determinado processo morfogênético só se manifesta quando as culturas estão expostas à adequado comprimento do dia. Em geral, 16 horas de iluminação tem se mostrado satisfatório várias espécies, utilizando-se lâmpadas fluorescentes branco fria ou Gro lux. A manutenção das culturas sob iluminação constante não é recomendada.

Quantidade total de energia

Deve-se considerar a intensidade luminosa e o número de horas de exposição por dia. Em fumo não há exigência de fotoperíodo, mas, máxima formação de parte aérea ocorre com 16 horas de fotoperíodo e,  $30-50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de intensidade luminosa.

B. Temperatura

As exigências de temperatura para desenvolvimento da planta em condições naturais devem ser consideradas como ponto de partida para estabelecer cultivo *in vitro* da espécie em questão. Deve-se ter sempre em mente que os requerimentos são um reflexo do que ocorre *in vivo*. Espécies oriundas de *habitat* tropical, temperado e desértico têm diferentes temperaturas ótimas para crescimento e desenvolvimento.

C. Umidade relativa

Em condições de clima seco pode-se usar tapas algodão, pois estas permitem boa troca gasosa, entretanto, o meio pode secar mais rápido em condições de baixa umidade relativa. Quando em clima úmido cuidados devem ser tomados com relação as contaminações. As tampas de algodão podem ser usadas com cautela, e deve-se usar um desumidificador na câmara de crescimento.

D. Trocas gasosas

A cultura de tecidos é um sistema fechado. A acumulação de  $\text{CO}_2$  em altas concentrações conduz à anaerobiose, fermentação e produção de álcoois. Em alguns casos, altas concentrações de gás carbônico induzem distúrbios no crescimento e desenvolvimento da planta *in vitro*. Deve-se observar a sensibilidade da planta a voláteis. A maneira de fechar o frasco é bastante importante. Em cultura de tecidos de *Solanum tuberosum*, nunca se deve vedar os frascos com parafilm, devido ao acúmulo de altas concentrações de  $\text{CO}_2$  e etileno (Calbo e Torres, 1989), fazendo com que os propágulos apresentem anomalias caracterizadas pelo entumescimento do caule, folhas ausentes ou pequenas, iniciação de raízes adventícias em vários pontos do caule, e o efeito indireto da necrose do ápice caulinar (deficiência nas trocas gasosas reduz a transpiração e a translocação do cálcio é dificultada). Em laboratórios comerciais de produção de batata-semente livre de viroses não é recomendado a vedação das culturas.

Em locais onde há muita poluição ambiental recomenda-se o uso de filtro de carvão ativado.



## Esterilização do meio de cultura

Tabela 2. Tempo mínimo necessário, recomendado para esterilização de meio para cultura de tecidos de plantas (Catálogo da Sigma, 1990).

Tempo mínimo de autoclavagem de meio em cultura de tecidos de planta*	
Volume de meio por recipiente (ml)	Tempo mínimo de autoclavagem
25	20
50	25
100	28
250	31
500	35
1000	40
2000	48
4000	63

\*121°C e 1,05 Kg/cm<sup>2</sup>

## REFERÊNCIAS

BALL, E. Hydrolysis of sucrose by autoclaving media, a neglected aspect in the technique of culture of plant tissue. **Bull. Torrey Bot. Club**, v. 80, p. 409-411, 1953.

CALDAS, L.; HARIDASSAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J.A. (Eds). **Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. 509 p.

CORNEJO-MARTIN, M. J.; MINGO-CASTEL, A. M.; PRIMO-MILLO, E. Z. **Pflanzenphysiol**, v. 94, p. 117-123, 1979.

DALTON, C. C.; IQBAL, K.; TURNER, D. A. Iron phosphate precipitation in Murashige e Skoog media. **Physiol. Plant.**, v. 57, p. 472-476, 1983.

DEKHUIJZEN, H.M. Sterilization of cytokinins. In: VAN BRAGAT, J.; BRAGT, J. V.; MOSSEL, D. A. A.; PIERIK, R. L. M.; VELDSTRA, H. (Eds). **Effects of Sterilization on Components in Nutrient Media**. Wageningen: Kniphorst Scientific Bookshoop, 1971. p. 129-132.

FUJIMURA, T.; KOMAMIME, A. Z.. **PflanzenPhysiol**, v.99, p. 1-8, 1980.

GAMBORG, O.L. Callus and cell culture. In GAMBORG, O.L.; WETTER, L.R. (Eds). **Plant Tissue Culture Methods**. Wat. Res. Council of Canada. 1975.

GAMBORG, O. L.; MURASHIGE, T.; THORP, T. A.; VASIL, I. K. Plant Tissue Culture Media. **in vitro**, v. 12, n. 7, p. 473-478, 1976.

GAMGORG, O. L. Media preparation. **Plant Tissue Culture Manual A1**:1-24, 1991.

Gautheret, R. J. Investigations of the root formation in the tissues of *Helianthus tuberosus* cultured *in vitro*. **Am. J. Bot.** 56:702-712, 1969.

- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant. Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories.** Exegetics Limited, 1984.
- HUANG, Li-Chun; MURASHIGE, T. Plant tissue culture media: major constituents, their preparation and some applications. **TCA Manual**, v.3, n. 1, p. 539-548, 1976.
- KAMADA, H.; HARADA, H. **Z. Pflanzenphysiol**, v.91, p. 255-266, 1979.
- LOEWUS, F.A.; LOEWUS, M. W. Myo- inositol: it's biosynthesis and metabolism. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 34, p. 137-167, 1983.
- MARGARA, J. Étude des facteurs de la néoformation de bourgeons en culture *in vitro* chez le chou-fleur (*Brassica oleracea* L. Var. Botrytis) **Ann. Physiol. Veg.**, v.11, p.95-112, 1969.
- MOSSEL, D. A. A.; PIERIK, R. L. M.; VELDSTRA, H. (Eds): **Effects of Sterilization on Components In Nutrient Media.** Wageningen, The Netherlands: Knipphorst Scientific Bookshop, 1971.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- MURASHIGE, T. The role of gibberellin in shoot differentiation in tobacco tissue culture. In: WHITE, P. R.; GROVE, A. R. (Eds). **Plant Tissue Culture.** McCutchan Pub. Corp., Berkeley, 1963. p. 401-409.
- MURASHIGE, T. Sample preparations of media. In. KRUSE, P. F.; Patterson, Jr, N.K. (Eds). **Tissue Culture Methods and Applications.** Academic Press, 1973. p. 698-703.
- MURASHIGE, T. Manipulation of organ initiation in plant tissue culture. **Bot. Bull. Academia Sinica**, v. 18, p. 1-24, 1977.
- NABORS, M. W.; HEYSER, J. W.; DYKES, T. A.; Demott, K. J. Long-duration, high - frequency plant regeneration from cereal tissue cultures. **Planta**, v.57, p. 385-391, 1983.
- PEER, H. G. Degradation of sugars and their reactions with amino acids. In: VAN BRAGT, J.; MOSSEL, D. A. A.; PIERIK, R. L. M.; VELDSTRA, H. (Eds): **Effects of Sterilization on Components in Nutrient Media.** Wageningen, The Netherlands: Knipphorst, p. 105-113, 1971.
- PIERIK, R. L. M. **In Vitro Culture of Higher Plants.** Dordrecht: Boston, Martinus Nijhoff Publishers, Lancaster, 1987. 344p,
- STENPAN-SARKISSIAN, G. Selection of media for tissue and cell culture. In: POLLARD, J. W.; WALKER, J. M (Eds). **Plant Cell and Tissue Culture.** Clifton, New Jersey: Human Press, 1990, 597p.
- Posthumus, A. C. Auxins. In: VAN BRAGT, J., MOSSEL, D.A. A., PIERIK, R.L.M.; VELDSTRA, H. (Eds): **Effects of Sterilization on Components in Nutrient Media.** Misc. Papers 9 (1971) Landbouwhogeschool Wageningen: The Netherlands, 1971. p. 125-128.
- SMITH, R. H. **Plant Tissue Culture.** Techniques and Experiments. , San Diego: Academic Press, 1992, 171p.
- STREET, H. E. Nutrition and metabolism of plant tissue culture. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 19, p. 467-485, 1957.

TENLTAM, E.J. Vitamins. In: VAN BRAGT, J.; MOSSEL, D. A. A.; PIERIK, R. L. M.; VELDSTRA, H. (Eds): **Effects of Sterilization on Components In Nutrient Media**. Misc. Papers 9 (1971) Wageningen. The Netherlands: Landbouwhogeschool, 1971. p. 121-123.

THURSTON, K.C.; SPENCER, S. J.; ARDITTI, J. Phytotoxicity of fungicides and bactericides in orchid culture media. **Amer. J. Bot.**, v. 66, n. 7, p. 825-835, 1979.

TORRES, A.C.; BARBOSA, N.V.R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M.P.; FERREIRA, C.F.; PAIVA, S.A .V. **Meio e condições de incubação para cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2001.20p. (Circular técnica n.24).

VAN BRAGT, J.; PIERIK, R.L.M. The effect of autoclaving on the gibberellins activity of aqueous solutions containing gibberellins A3. In: VAN BRAGT, J.; MOSSEL, D.A.A.; PIERIK, R.L.M.; VELDSTRA, H. (Eds): **Effects of Sterilization on Components in Nutrient Media**. Misc. Papers 9 (1971), Wageningen, The Netherlands: landbouwhogeschool, 1971. p. 125-123.

YAMAKAWA, T.; KURAHASHI O.; ISHIDA, K.; KATO, S.; KODAMA, T.; MINODA, Y. Stability of indole-3-acetic acid to autoclaving aeratioin and light illumination. **Agric. Biol. Chem.**, v. 43, n.4, p. 879-880, 1979.

**PALAVRAS CHAVES:**

Cultivo *in vitro*, meio de cultura.

## Who's still breeding flowers?

Schiva, T.<sup>1</sup>; Mercuri, A.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>C. R. A.- Istituto Sperimentale per la Floricoltura-Corso Inglese 508, 18038-Sanremo (IM), 0184694829, e-mail: [t.schiva@istflori.it](mailto:t.schiva@istflori.it)

*To be clear  
start with the conclusion.  
w. shakespeare*

### POSITION OF THE PROBLEM

The flower sellers' customers, the only qualified to judge the value of the plant, are chiefly in search of beauty, and flowers, as subject of inspiration, cannot be less than perfect. The beauty in flowers means perfection and for applied researchers, faultless quality, result in a more pragmatic goal.

However in the living matter beauty fades quickly, so durability is the second main feature essential to gaining competitive market value.

In this time (years 2007) the beauty and the durability are not enough;

incidentally growers but also customers wish plants producing a continuous flowering: in short a "flower machine".

The international flowers market show worries caused by overproduction and money shortage to spend for flowers

Modern people wish plants enjoying the everyday life, making more comfortable stress relievers work places, air purifiers environment, symbols of feelings, friendship, in short for the well being and beautification of life. Definitely multi purposes plants, diversify in using, are the future strategy to face the market answering this tomorrow needs (ex. adorn diner table, etc).

The western European customer, is continuously questing for novelties, new varieties, setting in this way a basic conflict in the ornamental production research conservative strategies as for instance those based on the F1 hybrid .

In fact a continuous fast flow of plants varieties with new features new colour, design, pattern and shape, always diverse from the pre existing types may set a questionable matter about the high costs of the biotech research and the transgene technologies, in particular.

Many ornamental species should be reconsidered under this point of view, taking in account of course the large natural genetic variability existing in these genomes still waiting to be explored and exploited with conventional methods, less expensive (low energy) and plain, not requesting sophisticated equipment and high specific competences and last but not least the issue of genes patents, banning the free utilization on genome, and subtracting the free access to the gene plant resources.

The basic goal, for ornamentals is to implement a continuous flows of varieties assortment only possible having a large germplasm core collection, representing the genetic variability actual and potential of the specie plant genome. So the basic aspect for the breeding work, is to maintain, preserve, improve and exploit a effective sexual reproductive system inside of a most large differentiated germplasm.

Growing collections of eligible germplasm, eventually in different locations allow to exploit interaction from genotype / environment, a phenomena well know by breeding firms that deliver different catalogue accordingly the different enviromental conditions (roses, gerbera, alstroemeria are just some example this differential reaction). In this task private collectors , gardens amateurs, nurseries, can play a dramatic role supplying the plant material to the breeders. The English network of appointed nurseries, specialised for one or few species answer this needs in a very cost-effective system.

Parent performance and their evaluation in general and specific combining ability is the first step in the breeding work. This design, if well organised permit to develop long planning and future strategies making possible to fit promptly the new unpredictable trend of the market. This plant material should be considered a open source germplasm, where no Patent (genes) act to limit the access to the gene pool.

Furthermore, there is no needs of labs and/or special expensive competence to manage this basic germplasm.

Main constraints for the breeder may come from the lacking of fertility in his germplasm collection. Some time, sterility factors may be bypassed by the stilum fecundations, as demonstrated effectively in breeding liliium intercrossing program in Netherlands.

But usually recalcitrant or poor effective mother plants should be promptly withdrawn from the crosses design to avoid to carry inside bad genes for sterility. The presence of sterility factors (gene) of sporophytic or gametophytic may hamper dramatically the success of selection strategies.

Sterility some time depend to the ploidy level of the genotype that produce unbalanced and/or steril gametes. In this case the application of aploids protocols /strategies can allow the recovering fertile genotypes endowed of special useful genes.

Allogamous natural populations are often affected by lethal and sub-lethal genes due to the eterozygote or polyploid status that hamper dramatically the inbreeding progress. Indeed in some species as Gerbera, Roses, the auto-fecundation are impracticable cause the serious shortage of the offspring cause by genetic load.

Size of populations of core collection should be planned accordingly the amount of genetic variability of germplasm after a statistical estimation of genetic variability

#### HOW TO DEVELOP THE POTENTIAL GENETIC VARIABILITY:

Still today the interspecific, -in some way forcing the evolution trend- represent the most effective methods to enlarge genetic variability obtaining gene combination otherwise absent inside of the single species. Examples refer to the most important popular flowers: rose, carnation, liliiums, chrisantemum, orchids, dahlia, hibiscus, gerbera, freesia, gladiolus, etc

By *in vitro* manipulation embryo of special interest can be rescued and developed obtaining plants with special combination genes.

The Pollen selection is another long term strategy just recently reconsidered also by international breeding firm. In fact, gene expressed in the pollen (Gametophyte) are round to 60-70% of gene expressed in the sporophyte (Plant). So we can imagine to apply a strong selection pressure on the million pollen grain and so pollinate with pollen screened for some factor. Just for example the pollination in the cool months foster naturally and selection of the most microterm gamete, and so year after year we will get microterm plants.

Pollen selection was applied in carnation to get genotype Fusarium resistant. The system really work effective but is under applied because it require an efficient reproduction system, often lacking in our species,

So, also in this case, it is important to build a population with high frequency of favourable alleles and free of genetic load.

The sampling of starting germplams issue, remain the central task to get before organise a selection design. In short, we must improve the genetic structure of population building a elite high frequency sound allele population through screening out worse genes and moving towards the high frequency the best parental combinations. This core collection should be continuously will be improved by new elite accessions.

Considering F1 hybrid design not strategic cause the continuous flow of varieties assortment requested from the market, for our allogame and very eterozygote plant material, an effective system is to organize a diallelic design to test de combining ability. The best combining parent selected will be crossed and the best progenies cloned (*vivo* or *vitro*) afterward tested.

#### FOLLOW UP

The implementation of a pool genotypes with a great genetic variability (actual and potential) will allow to exploit (to extract) the variability ( new varieties) year after year, accordingly input of market (customer, seller, grower, dealer, carrier) that remain largely unpredictable.

It need to organise a gene stock plants "in vivo" materials bred on site (possibly in different environmental area) and continuously improved by accession of new genotype.

The Micropropagation may set the cost issue: in fact often the added value of the clone from *in vitro* can't afford the cost of "in vitro" multiplication. Gladiolus hybrids is just one example.

Furthermore non all genotypes fit the micropropagation protocols: some time it needs to select stable genotype, free of transposon (mobile elements) that, cause the hormone application may provoke instability in "in vitro" propagate plant material.

For this reason, aiming self-rooting genotypes to lowering costs of lab/micropropagation is always a sound strategy.

Finally, the use of Molecular Markers for plant/parent assessment and parental lineage to manage the breeding program appear nowadays unavoidable

## BIOLOGICAL/TECHNICAL FEATURES

An efficient reproductive system both sexual and asexual is the first step of the work.

Aim to get genotypes fit to accept intensive growing system and flower production (schedule cropping attitude is very important in ornamentals cause the calendar of market request)

The good reaction (development) after pruning is very important for the management of the plant size and flower flow.

Look for low energy (heat/cool/hand powers/chemicals, etc) varieties and consider the plant as "flower machine" ( es. rose, gerbera, anthurium)"

## COMMERCIAL FEATURES

The test for durability/conditioning/air travelling/quality / perfection/beauty/ size, fit for delivering.

Plan for new and creative purposes, sunny colour, not trapping light.

Consider the modern trends: people has not time and wish flower in bunches bought in supermarket "ready to get".

Look for the future trends, more than ornamental purpose: able to answer different use: beautification and enjoying life: ex. air purifier, medicinal, edible, cosmetic, insect repellent etc?

## SOME HISTORY CASE:

### 1) Pollen selection in Carnation for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi.

Mercuri, T. Schiva, G. Baratta, G. Fenoglio and G. Burchi

Acta Horticulturae 307, 1992 Carnation Culture

## ABSTRACT

Pollen grains of 8 commercial varieties of Carnation were cultured "in vitro" on a germination medium with increasing concentrations (0%, 7,5%, 15%, 30%) of axenic culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f.sp. dianthi pathotypes II and IV. The pollen response to the filtrate was observed as germination percentage and tube growth. The effect of the culture filtrate was also studied on sporophyte (seedlings coming from different crossings). The results show that the screening of resistant cultivars through pollen assay appears feasible.

## REFERENCES

BEHNKE, M., 1980. General resistance to late blight of *Solanum tuberosum* regenerated from callus resistant to culture filtrates of *Phytophthora infestans*. **Theor. Appl. Genet.** v. 56: p. 151-152.

MULCAHY, D.L., MULCAHY, G.B. and OTTAVIANO, E. Further evidence that gametophytic selection modifies the genetic quality of the sporophyte. **Soc. Bot. Fr. Act. Bot.** 1-2: 57-60,1978.

OTTAVIANO, E., SARI GORLA, M. and PE, E. Male gametophytic selection in maize. **Theor. Appl. Genet.** v. 63, p. 249-254, 1982.

OTTAVIANO, E., SARI GORLA, M. and MULCAHY, D.L. Pollen Selection: Efficiency and Monitoring. In: **Isozymes: Structure, Function, and Use in Biology and in Medicine.** pp 575-588, 1990.

SCHIVA, T., DALLA GUDA, C., D'AQUILA, F., BIANCHINI, C. and GARIBALDI, A. Garofano: selezione per la resistenza a *Fusarium oxysporum* f.sp. dianthi. **Annali Istituto Sperimentale Floricoltura** XIII v.1, p. 115-132 1982.

SCHIVA, T., Dalla GUDA, C. and MERCURI, A. Analisi genetica della resistenza a *Fusarium oxysporum* f.sp. dianthi (Prill et Del) Snyd et Hans nel garofano "Ecotipo Mediterraneo". **Annali Istituto Sperimentale Floricoltura** XVI v. 1, p. 23-38, 1985.

## 2) Interspecific crosses on alstroemeria

A.F.C. Tombolato, G. Burchi, A. Mercuri, C. Bianchini & T. Schiva

Proc. of the XVIIth Eucarpia Symposium "Creating Genetic Variation in Ornamentals".Sanremo, 1 - 5 March, 1993.

### ABSTRACT

Alstroemeria (Alstroemeriaceae family) is a species from South America which is cultivated for cut flower production and for pots. It shows a high market potentiality for the future because of its agronomical and commercial characteristics.

At the Aalsmeer market, in Holland, one of the biggest flower trade centers in the world, Alstroemeria sales increased four times between 1979 and 1988, from 17,749,130 to 74,749,130 stalks sold per year (Martorell, 1992). In the last years Alstroemeria is among the first ten cut flower species in the market.

The main Alstroemeria cultivars, nowadays available for the growers, have been selected in Holland with conditions of low temperature, low light and high humidity. So, many of these cultivars are not suitable for tropical and sub-tropical environments.

An Alstroemeria breeding program was established in collaboration between the Instituto Agronômico at Campinas - SP (Brazil) and the Istituto Sperimentale per la Floricoltura of Sanremo (Italy), aiming to cross new Brazilian and Chilean species and commercial varieties, and to select new hybrids for the cultivation in subtropical climates from a pool of less known species (Tombolato *et al.*, 1992).

A review of the genera Alstroemeria was published by Bayer (1987) in a work on the Chilean group. In this paper 31 species and 19 subspecies native from Chile are described.

Therefore, the Brazilian species remain unknown and there is a big confusion in their nomenclature. Traub (1973) emphasized the importance, for the breeders, of a correct description of native species. Aker & Healy (1990) cited 29 different epithets for Brazilian species, but it is possible that there are synonyms and certainly there are new unlabelled species. It is impossible to affirm if they are more or less numerous than the Chilean ones. In this manner, the plants in the collections, specially the Brazilian ones, are maintained by their collecting numbers and the Brazilian species are mentioned in this article just by their numbers.

The main characteristics of the parental genotypes involved in the breeding program are:

- Brazilian species; vigorous and rustic plants, mostly evergreen with large leaves and non stop flowering all the year around; they are usually diploids ( $2n=16$ )
- Chilean species; plants present interesting flower shapes, usually with big size of the tepals and in almost all colours; they are also usually diploids
- Commercial varieties; they were mainly originated from crosses between Chilean species. Brazilian species were rarely involved in their origin. Plants show interesting agronomical characteristics, specially high productivity of very long and flowered stems. The plants can be di-, tri- or tetraploids, and also aneuploids (Tsuchiya *et al.*, 1987).

Interspecific hybridization, specially between the Chilean and the Brazilian groups, presents many difficulties like crossings-barriers and embryo abortion which justify the employ of *in vitro* techniques (De Jeu *et al.*, 1992).

Mutation is also reported to be applied for *Alstroemeria* improvement. Several tens of varieties in cultivation are solid induced X-rays mutants (Broetjes, 1981 and Malluszynski *et al.*, 1992).

Cariotype analysis is very important for the breeding of *Alstroemeria* because of the different ploidy levels (Tsuchiya, 1987) and also to understand the plant origin in the case of old cultivars (Buitendijk, personal communication).

#### REFERENCES

AKER S. & HEALY W.. The phylogeography of the genus *Alstroemeria*. **Herbertia** v. 46, n.2, p.76-87, 1990.

TOMBOLATO A.F.C., MERCURI A., BURCHI G., BIANCHINI C. & SCHIVA T. Miglioramento genetico della *Alstroemeria*. In: **Convegno Annuale della Società Italiana di Genetica Agraria**, 36., Metaponto, Italy, p. 133-134, 1992.

### 3) Breeding of *Alstroemeria* through interspecific crosses and embryo-rescue

Gianluca Burchi, Antonio Mercuri, Tito Schiva

Proc. Of the 2nd Int. Symp. on Ornamental Palms and other Monocots from the Tropics. Eds. M. Caballero Ruano Acta Hort. 486,: ISHS 1999

#### ABSTRACT

At present, with more than 130 cultivars, *Alstroemeria* shows one of the best trends in the international market for cut flower production. Most of these cultivars have been selected in the Netherlands, in cultural conditions of relatively low temperature and light, and high humidity. In the Italian environmental conditions, most of these genotypes show a poor flowering ability in the winter season (the most important for cut flower production): for these reasons a breeding program, utilising Brazilian and Chilean species, was established. The ultimate goal is to select new genotypes suitable for cultivation in the Mediterranean area and to obtain new colors and new architectures of inflorescences. The major constraint in this goal is the presence of genetic barriers that provoke embryo abortion in interspecific hybridization, in particular between the Chilean and the Brazilian genotypes. To overcome this obstacle, an "in vitro" protocol for embryo-rescue of recalcitrant crosses was developed. The results of this breeding activity, reported in this paper, show that it is possible, through "in vitro" embryo-rescue procedures, to recover interspecific hybrids from botanical species usually unable to produce progeny when crossed.

#### REFERENCES

DE JEU M.J. - Interspecific hybridization in *Alstoremeria*. Book of Abstracts of Eucarpia Congress "The methodology of plant genetic manipulation: criteria for decision making" (Jones P.V., Cassels A.C. eds.), p 20, 1994.

GOEMANS J.A.M. - Breeding of *Alstroemeria*. Journ. Royal T Hort. Soc. v. 87, p. 282-284 1962.

TOMBOLATO A.F.C., BURCHI G., MERCURI A., BIANCHINI C., SCHIVA T.- Interspecific crosses on *Alstroemeria*. In: Proc. of the XVIIth EUCARPIA Symposium "Creating Genetic Variation in Ornamentals" (Schiva T., Mercuri A. eds.), pp 301-307, 1993.

### 4) Use of rapd analysis for genotype identification in *Alstroemeria*

L. De Benedetti, G. Burchi, A. Mercuri and T. Schiva

Proc. 19th International Symposium Improvement Ornamental Plants. Ed A. Cadic Acta Hort. 508, ISHS 2000

#### ABSTRACT

*Alstroemeria* is a monocot ornamental crop originating from South America, with two centres of diffusion in Chile (highlands of Andes) and in eastern Brazil (tropical zones). *Alstroemeria* cultivars



are being developed through interspecific hybridization (using in some cases embryo rescue techniques to overcome crossing barriers), selection of sports and/or polyploidization (Broertjes and Verboom, 1974; Bridgen *et al.*, 1989).

The development of genetic markers for the characterization and identification of genotypes and early detection of interspecific hybrids may be very useful for breeding programmes and in protecting the rights of the breeders. In recent years, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers have become widely used for genotype identification in plants including ornamentals (Wolff *et al.*, 1993; Weising *et al.*, 1994).

RAPD analysis was performed on *Alstroemeria* samples with the aim to discriminate, identify and characterize new genotypes obtained through a breeding programme started in 1991 in our Institute in collaboration with the Instituto Agronomico of Campinas (Brazil).

## REFERENCES

MERCURI, A., G. BURCHI, C. BIANCHINI, R. BREGLIANO, and T. SCHIVA. Ibridi interspecifici di *Alstroemeria*. **Colture Protette**, v. 2, p 79-81, 1998.

TOMBOLATO, A. F. C., G. BURCHI, A. MERCURI, C. BIANCHINI, and T. SCHIVA,. Interspecific crosses on *Alstroemeria*. In: T. Schiva and A. Mercuri (eds.), Proc. **XVIIth EUCARPIA Symp. Creating Genetic Variation in Ornamentals**, pp 301-307, 1993.

YAMAGISHI, M., Detection of section-specific random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in *Lilium*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 91, p. 830-835, 1995.

### **5) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for the verification of hybridity in interspecific crosses of *Alstroemeria***

L. De Benedetti, G. Burchi, A. Mercuri, N. Pecchioni, P. Faccioli and T. Schiva  
*Plant Breeding* 119, 443-445 (2002)

## ABSTRACT

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used to verify interspecific hybridization in *Alstroemeria*. Five putative inter-specific hybrids and their parents were analysed by means of four pre-selected RAPD primers. The putative parentage was confirmed in four hybrids and was excluded in one that showed completely different RAPD patterns from its putative parents and a different phenotype. Our results demonstrated that this molecular technique is a powerful tool for verifying hybridity rapidly if the putative parents are given. This tool will allow screening of small immature seedlings for verification of hybridity and should improve the efficiency of breeding programs.

## REFERENCES

BURCHI, G., A. MERCURI, C. BIANCHINI., L. GUGLIERI, and T. SCHIVA,,: *Alstroemeria*: incroci interspecifici e recupero degli embrioni in vitro. **Colture Protette**, v. 9, p. 113-118, 1997.

DUBOUZET, J. G., N. MURATA, and K. SHINODA,,: RAPD analysis of genetic relationships among *Alstroemeria L.* cultivars. **Sci. Hortic**, v. 68, p. 181-189, 1997.

### **6) New interspecific hybrids of *Alstroemeria* obtained through *in vitro* embryo-rescue**

G. Burchi, A. Mercuri, C. Bianchini, R. Bregliano and T. Schiva  
Proc. 19th International Symposium Improvement Ornamental Plants  
Ed. A. Cadic Acta Hort. 508, ISHS 2000

## ABSTRACT

Most of *Alstroemeria* species have their center of origin in Chile, Brazil, Peru, Argentina, Venezuela, Paraguay and Bolivia (Wilkins and Heins, 1976), in latitudes ranging from 23° to 55°, in semi-desertic tropical zones up to the highlands of Andes, over 3000 m altitude.

Breeding of *Alstroemeria* via hybridization and X-ray mutation of rhizomes was done in England, in the Netherlands and in the USA (Goemans, 1962; Broertjes and Verboom, 1974). The commercial cultivars are interspecific hybrids with unreported parentage between Andean Chilean species and most of them are sterile triploids from crosses of spontaneous tetraploids with diploids (Heins and Wilkins, 1979). These cultivars have been selected in cultural conditions of relatively high humidity and low temperature and light. In the Italian environment, these genotypes show a poor flowering ability in the winter season because of the lack of cool soil conditions, essential to induce flowering (Aker and Healy, 1990).

The Brazilian genotypes were rarely involved in breeding programs. They have vigorous plants, mostly evergreen with large leaves, non-stop flowering all around the year and they are well adapted for cultivation in subtropical and mediterranean conditions (Tombolato *et al.*, 1993). In 1991, the Istituto Sperimentale per la Floricoltura of Sanremo (Italy) and the Instituto Agronomico of Campinas-SP (Brazil) planned a breeding program crossing wild Brazilian species with Chilean species and commercial varieties, with the goal to select new genotypes suitable for the Mediterranean area. In this work, the first results of this activity are discussed.

## REFERENCES

AKER S., HEALY W. The phytogeography of the genus *Alstroemeria*. **Herbertia**, v.46, n. 1-2, p. 76-87, 1990.

BURCHI G., MERCURI A., BIANCHINI C., GUGLIERI L., SCHIVA T. *Alstroemeria*: incroci interspecifici e recupero degli embrioni in vitro. *Colture Protette*, v. 9, p. 113-118, 1997.

DE BENEDETTI L., BURCHI G., MERCURI A., SCHIVA T. In press on *Acta Horticulturae* - XIX Eucarpia Symposium, Angers 1998

MERCURI A., BURCHI G., BIANCHINI C., BREGLIANO R., SCHIVA T. 1998. Ibridi interspecifici di *Alstroemeria*. **Colture Protette**, v. 2, p. 79-81.

TOMBOLATO A.F.C., BURCHI G., MERCURI A., BIANCHINI C., SCHIVA T. (1993). Interspecific crosses on *Alstroemeria*. In: Proc. of the XVIIth EUCARPIA Symposium "**Creating Genetic Variation in Ornamentals**" (Schiva T., Mercuri A. eds.), pp. 301-307.

WILKINS H.F., HEINS R.D.. *Alstroemeria* general culture. **Florist Review**, v.159, n. 4121, p. 30-31, 1976

### **7) Results of a Breeding Activity on *Limonium* spp.**

G. Burchi, E. Mercatelli and M. Maletta A. Mercuri, C. Bianchini and T. Schiva  
Proc. XXII Int. Eucarpia Symp. (Sect. Ornamentals) on Breeding for Beauty Eds. A. Mercuri and T. Schiva Acta Hort. 714, ISHS 2006

## ABSTRACT

A breeding activity on *Limonium* was carried out in Sanremo and Pescia since 1998. Wild species and commercial varieties were utilized in an incomplete diallelic cross design with the aim to obtain new varieties suitable for cultivation in Mediterranean conditions with low energy requirements. A first group of selected progenies derived from crosses among *L. latifolium*, *L. gmelinii*, *L. caspia*, *L. bellidifolium*, *L. otolepis* and *L. serotinum*. The first inter- and intra-specific hybrids were evaluated since 2001 in different environments. They were cultivated with minimum tillage and low input of fertilisers and pesticides showing, in these conditions, productivity and commercial quality comparable or also higher than the commercial control cultivars. A second group derived from the cross *L. bonduelli* x *L. sinuatum* (Statice). *L. bonduelli* is a Mediterranean wild species that needs

to be improved in relation to productivity, flower colour and stem architecture. Selected hybrids were evaluated in comparison with commercial cultivars of *Statice*. They showed a significantly higher production, significantly shorter and harder stems than *L. bonduelli*, a number of branches per stem significantly higher than *L. sinuatum* and commercial varieties, and different colour combinations of calyx and corolla. A third group derived from selected progenies of *L. tataricum* obtained from free pollination. These genotypes were characterized by good production, high number of flowers per stem and very attractive architecture. The last group derived from crosses among *L. aureum*, *L. sinensis*, *L. tetragonum*, *L. fortunei* and commercial cultivars. The new hybrids showed the valuable agronomical and ornamental traits of the parental cultivars and the stress tolerance of the botanical species.

## REFERENCES

BRUNA, S., BURCHI, G., DE BENEDETTI, L., MERCURI, A., PECCHIONI, N., BIANCHINI, C. and SCHIVA T. Molecular analysis of *Limonium* genus through RAPD markers. **Agricoltura Mediterranea**, v. 1, p. 52-58. 2005

BURCHI, G., MERCURI, A. and SCHIVA, T. 2000. Sviluppo di nuovo germoplasma nel miglioramento genetico del *Limonium*. **Flortecnica**, v.5, p. 82-87.

BURCHI, G., MERCURI, A., BRUNA, S., DEBENEDETTI, L., BIANCHINI, C., BREGLIANO, R., FOGLIA, G. and SCHIVA, T. Nuove varietà di *Limonium* spp. ottenute mediante incroci interspecifici e trasformazione genetica. In: **Florovivaismo tra innovazione e qualità**, Regione Campania, Napoli, pp.93-97 2003a.

BURCHI, G., MERCURI, A., BRUNA, S., DEBENEDETTI, L., BIANCHINI, C., BREGLIANO, R., FOGLIA, G. and SCHIVA, T.. "SOI 50": una nuova varietà di *Limonium tataricum* ottenuta dall'Istituto Sperimentale per la Floricoltura e dedicata al 50° anniversario della fondazione della S.O.I. **Italus Hortus**, v. 4, p. 56-59, 2003b.

BURCHI, G., MERCATELLI, E., BRUNA, S. and MERCURI, A. Valorizzazione di risorse vegetali spontanee: valutazione agronomica di nuovi ibridi di *Limonium bonduelli* x *L. sinuatum*. Proc. 7° **Convegno Nazionale Biodiversità**. Catania, Italy 30 March-2 April. p.191, 2005.

FARINA, E., BURCHI, G., PATERNIANI, T., NESI, B. and PALAGI, M. Valutazione agronomica di germoplasma originale di *Limonium* ibrido per fiore reciso. **Proc. VII Giornate Scientifiche S.O.I.** Napoli, Italy 4-6 May, p.1003-1005, 2004

## 8) Use of RAPD Markers for the Genetic Characterization of *Limonium* Species

S. Bruna, L. De Benedetti, A. Mercuri and T. Schiva

Proc 21st IS on Breeding ornamentals, Part II Eds: G. Forkmann & S. Michaelis

Acta Hort 651, ISHS 2004

## ABSTRACT

The genus *Limonium* (fam. *Plumbaginaceae*) consists of about 300 species of mostly herbaceous perennials, some low shrubs, and annuals. Most botanical species are endemics in the Mediterranean region, but many species have their center of origin in Caucaso, Turkestan, Caspian Sea, Russia, Iran, China, South Africa. *Limonium* is grown in several regions of the world for use as a cut flower for both fresh and dry-flower arrangements.

In this work, RAPD analyses were used for the study of genetic relationships in *Limonium*. Thirteen wild species were tested with 10 primers. A total of 244 bands were scored and used for the analysis of genetic distances. The dendrogram obtained from cluster analysis showed high similarity among three species that some authors report as synonymous and that appeared very similar from our previous phenotypic observations (*L. caspia*, *L. bellidifolium* and *L. otolepis*). In order to clarify the genetic relationships, further analyses were carried out on several genotypes

belonging to the three species. The new dendrogram, obtained scoring 151 RAPD bands, show that the genotypes did not group in clear clusters. Analysis of molecular variance (AMOVA) confirmed this trend: the highest genetic variation resulted among genotypes and only 6,58 % of the total variation resulted among the species. These results suggest that the species can be considered synonymous. The use of RAPD markers in our case was thus useful for clarifying the highly probable identity of the three *Limonium* species, in a plant genus that is notably of difficult interpretation.

## REFERENCES

ARRIGONI, P.V., and DIANA, S.. Karyology, chorology and bioecology of the genus *Limonium* in Sardinia. **Plant Biosystems**, v. 133, p. 63-71, 1999.

PALACIOS, C., and GONZALEZ-CANDELAS, F. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (Plumbaginaceae). **Mol Ecol**, v. 6, p.1107-1121, 1997a.

PALACIOS, C., and GONZALEZ-CANDELAS, F.. Lack of genetic variability markers in the rare and endangered *Limonium cavanillesii* (Plumbaginaceae) using RAPD markers. **Mol Ecol**, v. 6, p. 671-675, 1997b.

SNEATH, P.H.A. and SOKAL, R.R.. **Numerical taxonomy**. W.H. Freeman, San Francisco, CA, USA, 1973.

SCHNEIDER, S., ROESSLI, D. and EXCOFFIER, L.: A software for population genetics data analysis. **Genetics and Biometry Laboratory**, University of Geneva, Switzerland, 2000

### 9) *Hibiscus rosa sinensis* L.: AFLP Markers for Genetic Improvement

S. Bruna, L. Braglia, V. Casabianca, A. Mercuri, L. De Benedetti and T. Schiva  
International Whorkshop on Ornamantals plants, 8-11- Jan 2007 Chiang Mai Thailand  
Proc. In press

## ABSTRACT

The commercial varieties of *Hibiscus rosa sinensis* came from the interspecific crossing work carried out in the past, involving tropical and subtropical species: *H. arnottianus*, *H. kokio*, *H. denisonii* and other unknown plant sources. This explain the great variability expressed in morphological and agronomical features. The use of molecular markers in ornamental plant breeding is very considerable for several applications. We have used the AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) technique with the aim to characterize a collection of commercial varieties of *Hibiscus rosa sinensis* and to determine genetic similarities within them. 64 varieties of *Hibiscus rosa sinensis* and 4 genotypes of *Hibiscus syriacus*, included to assess the efficiency of AFLP method, were analyzed with 8 selected primer combinations. All cultivars were clearly distinguished by their molecular fingerprints; a total of 213 polymorphic bands were detected and used to construct a similarity matrix by means of Jaccard coefficient. The UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) derived tree separated the cultivars into two main branches: the first one included all *H. rosa sinensis* samples, the second one properly grouped *H. syriacus* genotypes. Several sub-clusters were observed. These data confirmed the large genetic variability of our *Hibiscus rosa sinensis* germplasm collection. The AFLP markers applied in a larger genotype assortment could be useful to perform a more efficient breeding design.

## REFERENCES

GAST, R.H. *Hibiscus around the world*. American Hibiscus Society, Venice, FL, USA, 1980.

LANTERI, S., ACQUADRO, A., QUAGLIOTTI, L. and PORTIS, E.. RAPD and AFLP assessment of genetic variation among and within populations of a landrace pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in north-west Italy. **Genet. Resour. Crop Ev.**, v. 50, n. 7, p.723-735, 2003.

LAWTON, B.P. Hibiscus, Hardy and Tropical Plants for the Garden. **Timber Press**, Portland, OR, USA, 2004.

MUELLER, U.G. and WOLFENBARGER, L.L.. AFLP genotyping and fingerprinting. **Trend in Ecology and Evol.**, v. 14, p. 189-394, 1999.

VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REJANS, M., VAN DE LEE, T., HORNES, M., FRIJETRS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M. and ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**. v. .23, p. 4407-4414, 1995.

#### KEY WORDS

Carnation; Alstromeria; Limonium; Hibiscus Breeding

## Biofábrica de Plantas Ornamentais.

Segeren, Monique Inês<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pro-Clone Pesquisa e Comércio de Produtos de Biotecnologia Ltda. Rua dos Girassóis, 70- centro, Holambra–SP, Cx. Postal 157, CEP: 13825-000, fone: (19) 38021787, email: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br)

### INTRODUÇÃO

A técnica de cultura de tecidos vegetais “*in vitro*” de flores e plantas ornamentais visando a sua propagação clonal foi desenvolvida, inicialmente, na Inglaterra e na França na década de 60. As orquídeas, o crisântemo e o cravo dominaram a fase inicial. De fato o processo de propagação “*in vitro*” de orquídeas a partir de protocórmios, foi o que mais entusiasmou os colecionadores e empresários, pois foi o que comprovou que é possível obter milhares de cópias filhas sob condições assépticas (Morel, 1960).

A propagação clonal em escala maior de outras flores e plantas ornamentais foi possível após trabalhos de Holdgate & Aynsley (1977) e Murashige (1974).

Atualmente a multiplicação clonal “*in vitro*”, também denominada micropropagação “*in vitro*”, tem causado grande impacto na produção, em escala de flores plantas ornamentais. Estas são, geralmente, espécies herbáceas e arbustivas, propagadas tradicionalmente por via vegetativa. Neste processo estão sujeitas, muitas vezes, a “estresses” ambientais e ao ataque de pragas e doenças, que podem comprometer seriamente a qualidade do produto final, que é o principal objetivo dos produtores tanto para a comercialização no mercado interno como para atender o exigente mercado de exportação.

Diversos agentes patogênicos (bactérias, fungos e vírus) afetam seriamente a produtividade e a qualidade das flores e plantas ornamentais. As bactérias e fungos podem ser geralmente, controlados com eficiência com a aplicação de defensivos agrícolas. Entretanto, os vírus, por sua ocorrência sistêmica, são de difícil controle. Felizmente, a cultura de meristemas “*in vitro*”, tem promovido a limpeza de inúmeros vírus, resultando em matérias básicos.

Além disso, os sistemas de certificação de mudas, flores e plantas ornamentais, são altamente dependentes da manutenção de materiais básicos, nos quais a sanidade constitui exigência fundamental. Dependendo do(s) patógenos que afeta(m) os clones, as técnicas de cultura de meristema, podem ser associadas a outras complementares, como a termoterapia ou a quimioterapia. Ao final da indexação, obtém-se o material básico do qual selecionadas as matrizes registradas, fornecedoras de sementes, estacas, gemas, escamas ou mudas para multiplicação em escala.

A multiplicação clonal “*in vitro*” apresenta inúmeras vantagens, em relação à propagação vegetativa tradicional, enumeradas a seguir:

a) *Uniformidade de produto final*: produção, a partir de uma planta matriz selecionada, de inúmeros indivíduos idênticos a ela, o que facilita enormemente a sua condução posterior em casas de vegetação e comercialização final.

b) *Rapidez de multiplicação*: possível obtenção, em um único ano, de até um milhão de plantas-filhas idênticas à planta original, desde que todas as fases do processo tenham sido previamente, bem definidas e cumpridas.

c) *Controle efetivo de doenças*: diversas doenças, principalmente, as de origem virótica podem inviabilizar, totalmente, a produção econômica de flores e plantas ornamentais. Para a maioria delas, não existem controles químicos e/ou culturais eficientes. O processo de micropropagação “*in vitro*”, por ser realizado em condições assépticas, a partir de plantas-

matrizes previamente testadas quanto a sanidade, permite a obtenção, em escala, de mudas sadias.

d) *Facilidade de manuseio e transporte*: embora exigindo embalagens e cuidados especiais o manuseio e o transporte dos materiais obtidos “*in vitro*” é de custo relativamente reduzido.

Por outro lado, os principais obstáculos ao emprego generalizado da técnica tem sido os seguintes:

a) Custo elevado das instalações, equipamentos e materiais (vidraria e reagentes). Um laboratório padrão para micropropagação “*in vitro*” necessita de:

- Sala de preparo de meio de cultura;
- Sala de transferência (repique);
- Sala de cultura;
- Sala de lavagem de vidraria.

Na sala de preparo de meios de cultura os seguintes equipamentos devem estar presentes: autoclave, destilador e/ou deionizador de água, balança de precisão, forno microondas, geladeira e pHmetro. Na sala de transferência (repique) é necessária uma câmara de fluxo laminar e uma lupa estereoscópica. Na sala de cultura, além de ar condicionado, central ou não (controle de temperatura), é necessária a instalação de prateleiras com lâmpadas fluorescentes especiais. Finalmente, a sala de lavagem deve conter, no mínimo, uma estufa de secagem apropriada.

- Necessidade de limpeza absoluta de todas as dependências e dos materiais utilizados. Em caso contrário, pode ocorrer contaminação generalizada por fungos e bactérias, de difícil controle.

- Necessidade de pessoal altamente especializado para as operações em câmara de fluxo laminar e de preparo dos meios de cultura.

- Acesso difícil e confiabilidade à plantas indexadas para viroses.

## CARACTERÍSTICAS DAS PLANTAS-MATRIZES PARA INICIAR UMA CULTURA DE TECIDOS “IN VITRO”

Plantas-matrizes bem nutridas e supridas com água suficiente durante todo o seu período de crescimento, até a retirada dos explantes, são as que dão as melhores respostas. O estágio fisiológico da planta-matriz, por ocasião da retirada dos “explantes”, influi muito no crescimento e na qualidade de mudas obtidas livres de vírus.

A retirada dos meristemas, em geral, deve ser realizada a partir de brotos novos, e que se formaram durante a fase ativa do crescimento da planta-matriz. A condição fitossanitária da planta-matriz é importante para facilitar a descontaminação do explante. Plantas mantidas no campo estão exposta a poeira e insetos que deixam ferimentos, permitindo entrada de microorganismos.

A manutenção das plantas-matrizes em casa de vegetação permite o controle do fotoperíodo, umidade e da intensidade luminosa, além do seu estado nutricional.

Os principais explantes utilizados em flores e plantas são os meristemas, bulbos, folhas e sementes. Entretanto o material meristemático é o mais indicado por possuir maior capacidade morfogênica e apresentar as menores chances de mutação.

## OUTROS FATORES IMPORTANTES

Para o sucesso da cultura de tecidos vegetais, temos os seguintes fatores decisivos:

- A indexação das mudas matrizes para viroses;
- Manipulação correta da planta matriz;
- Condições ambientais e microambientais (dentro do frasco de cultura);
- Procedimentos e forma do corte nos subculivos;
- Fotoperíodo, intensidade luminosa e o regime de temperatura diurna/noturna ;devem atender às exigências da espécie em estudo.
- E finalmente, é fundamental, o conhecimento detalhado das condições de aclimação.

Todas as etapas dominadas até aqui podem ser perdidos caso não se conheça adequadamente as regras da aclimação.

## GERENCIAMENTO E PLANEJAMENTO DE UMA BIOFÁBRICA

Para que uma biofábrica possa atender com precisão, uma demanda específica (terceirizado) ou entregar milhares de plantas, dentro de um cronograma e planejamento de um produtor, há necessidade de um bom gerenciamento.

A seleção e treinamento de pessoal com habilidades especiais para execução dos repiques de plantas em capelas de fluxo laminar é a base para se ter sucesso neste tipo de empreendimento.

Automação em certos processos é possível, na forma de enchimento automático de potes plásticos e para certos grupos de plantas: os biorreatores.

Não podem ser descartados, todavia, o valor que há em uma atuação de profissional (de equipes) com experiência e “tempo de janela”, pois o processo que envolvem uma biofábrica de plantas, envolve inúmeras variáveis de difícil controle tais como: interação de cada genótipo vegetal com os componentes do meio de cultura, temperatura, fotoperíodo, luminosidade, tipos de substrato para aclimação de mudas e outros. A baixa repetibilidade dos resultados obtidos e problemas de ordem fisiológica inerentes a técnica empregada (juvenildade, vitrificação e oxidações) podem inviabilizar um planejamento e destruir a credibilidade de uma biofábrica que opera para atender demandas de mercado.

A conclusão que se pode chegar é que valores que agregam a experiência, conhecimento, além de criatividade e bom censo podem assegurar objetivos propostos na hora de abrir uma biofábrica.

## MERCADO E CONCLUSÃO

O Setor de flores e plantas ornamentais nos últimos anos ganhou um impulso muito grande. O mercado externo saltou de 13,2 milhões para quase 30 milhões de dólares em cinco anos (2001-2007). Ao contrário de países como Costa Rica e África (Quênia) que exportam toda produção de flores, no Brasil há 150 milhões de pessoas com potencial de consumo de flores. O projeto Flores São Paulo com apoio do SEBRAE está estimulando e incentivando o aumento de consumo e tornar o hábito de utilizar flores naturais em datas festivas ou mesmo como na Europa, onde mesmo em dias comuns as flores constituem um item de consumo.

A nossa parcela de participação no acesso ao mercado mundial de US\$ 64 bilhões para flores está associado a um bom desenvolvimento tecnológico e de mudas matrizes padronizadas e certificadas. A garantia de quantidade de produção com precisão na entrega são itens obrigatórios associados à exportação.

O alto custo do processo que envolve as etapas de micropropagação, ocasionado principalmente por produção por sistemas de autoclavagens artesanais, as quais demandam grande consumo de energia e tempo, aliado a falta de recipientes específicos que possibilitem trocas gasosas em substituição aos vidros utilizados nas autoclavagens, prejudicam a constância na entrega de volume de qualidade em quantidades num determinado tempo (produtividade), impossibilitando assim, a atuação das biofábricas brasileiras em mercados maiores e mais lucrativos, inclusive no mercado de exportação.

Para transpormos tais barreiras, é importante olharmos o processo produtivo como um todo incorporando a ele o conhecimento de base tecnológica disponível no meio



acadêmico nacional, desde o elo inicial da cadeia (obtenção de matrizes brasileiras de qualidade através de programas de melhoramento genético) até a otimização no ganho de escala e produtividade no processo de micropropagação. A Proclone fabricou um sofisticado equipamento, ou seja, uma máquina de esterilização de meio, para substituir o processo de autoclavagem, com menos gasto de energia elétrica, e uma forma mais confiável de produzir grandes volumes de meio de cultura. Outra inovação é o desenvolvimento de um pote para meio de cultura que possa ser usado inclusive para exportação, em substituição ao atual que foi uma adaptação para substituir os vidros usados na autoclavagem. Tal pote - projetado de forma a possibilitar uma troca de CO<sub>2</sub> e etileno com O<sub>2</sub> de dentro do pote com o ar ambiente externo. Tal medida possibilitaria à planta um desenvolvimento melhor e mais rápido, melhorando a produtividade do setor de micropropagação. Dentro deste contexto, a contribuição a este projeto se concentrou no auxílio ao desenvolvimento e comparação de protocolos específicos (protocolo de esterilização de explantes meristemáticos e métodos para o isolamento dos mesmos; protocolo de composição e pH dos meios de cultura) para micropropagação de espécies e cultivares de *Zantedeschia spp.* utilizando diferentes frascos (potes e vidros). Também foi testado o sistema de esterilização por autoclave e o sistema de esterilização plasma. Indiscutivelmente, a micropropagação aliada ao melhoramento genético é estratégia a ser investigada, tanto no setor de floricultura, horticultura e em toda a ampla biodiversidade brasileira a ser trabalhada para melhorias na indústria oleoquímica (fármacos, fitoterápicos e biodiesel).

## BIBLIOGRAFIA

MOREL, G. Producing vírus-free Cymbidium. **Am. Orchid Soc. Bull.**, v. 29, p.495-497, 1960.

HOLDGATE, D.P.; AYNLEY, J.S. The development and establishment of a commercial tissue culture laboratory. **Acta Hortic.**, v. 78, p. 31-36,1977.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Ann Rev. Plant Physiol.**, v. 25, p. 135-166, 1974.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plan**, v. 15, p. 473-497, 1962.

## OUTRAS REFERÊNCIAS

**FOLHA INOVAÇÃO.** Edição Especial 20, Brasiltec julho de 2003 – Informativo da Finep.

**COMO EXPORTAR-** Países baixos- Ministério das Relações Exteriores - Departamento de Promoção Comercial - divisão de Informação comercial, Brasília, 2002.

**IBRAFLOR – RELATÓRIO SETORIAL INTEGRADO DE EXPORTAÇÃO DE FLORES E PLANTAS ORNAMENTAIS.** Mercado Internacional de Flores e Plantas Ornamentais: características de mercado e do exportador brasileiro.

“**MÁQUINA** de esterilização de meio de cultura e distribuição automática em alíquotas em recipientes descartáveis” (Projeto realizado por programa PIPE-FAPESP sob Coordenação da Dra. Monique Inês Segeren na empresa ProClone. (Concluído).

**Desenvolvimento** de um Programa Inédito no Brasil de Melhoramento Genético para *Zantedeschia spp.* com o auxílio de marcadores moleculares, visando a obtenção de novos cultivares comerciais -Projeto de Programa PIPE-FAPESP.

PALAVRAS CHAVES:

Biofábrica, cultura *in vitro*, ornamentais.

## Uso da luz natural na micropropagação.

Silva, Adriano Bortolotti da<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Professor, Doutor, Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Rodovia MG 179, Km 0, Caixa Postal 23, CEP 37130-000 Alfenas, Minas Gerais, fone (35) 3299-3119, email: [bortolot@bol.com.br](mailto:bortolot@bol.com.br).

### INTRODUÇÃO

Novas técnicas para tornar mais eficiente a propagação *in vitro* têm sido desenvolvidas. Laboratórios têm usado sofisticados meios para regulação ambiental da temperatura, umidade, luminosidade, ventilação natural ou forçada (Cui et al., 2000; Kanechi et al., 1998; Khan et al., 2003), as quais proporcionam algumas vantagens para o crescimento das culturas em sistemas de micropropagação. Contudo, inovações tecnológicas nem sempre estão disponíveis e sua adoção pode representar aumento nos custos de produção das mudas nestes sistemas.

As lâmpadas fluorescentes, bastante comuns em salas de crescimento de laboratórios, são citadas em 90% dos trabalhos com pesquisas em cultura de tecidos, como a principal fonte de luz utilizada (Dooley, 1991). O custo referente à iluminação em sala de crescimento pode atingir 65% do total de gastos com energia elétrica (Standaert de Metsenaere, 1991). Este fator apresenta um dos maiores custos na produção de mudas em laboratório, sendo superado apenas pelos gastos com mão-de-obra (Dooley, 1991). A utilização de luz natural apresenta vantagens, como redução dos gastos com luz artificial, instalações simplificadas e, menor estresse à planta durante a aclimatização (Erig & Schuch, 2005).

O emprego de luz natural pode ser uma forma de aproximar a micropropagação convencional e o sistema de micropropagação fotoautotrófica, ou seja, possibilitando que as plantas cultivadas *in vitro* possam aumentar sua taxa fotossintética pela maior densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (Kodym & Zapata-Arias, 1998; Kozai et al., 1997).

A alta irradiância pode afetar diretamente o desenvolvimento das plantas *in vitro*, apresentando efeito sobre a lamina foliar e modificando características, tais como espessura foliar, diferenciação do mesofilo, divisão celular e desenvolvimento dos estômatos (Lichtenthaler et al., 1981; Terry et al., 1983, citados por Lee et al., 1988). O fator luz também influencia a fotossíntese, a concentração de clorofila e a estrutura dos cloroplastos em plantas cultivadas *in vitro* (Lee et al., 1988).

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo apontar algumas considerações relativas a viabilidade do emprego da luz natural em sistemas de micropropagação, bem como as alterações na anatomia foliar nos vegetais cultivados *in vitro* em ambiente de alta irradiância.

### MICROPROPAGAÇÃO FOTOAUTOTRÓFICA E USO DA LUZ NATURAL

A micropropagação fotoautotrófica pode ser definida como a produção de micropropágulos sem a adição de sacarose no meio de cultura (Kubota & Tadokoro, 1999). Este conceito é ainda recente e está relacionado com o fornecimento de condições ambientais adequadas para que os tecidos vegetais cultivados *in vitro* possam realizar fotossíntese, fazendo com que as plantas micropropagadas apresentem crescimento fotoautotrófico sustentável. No intuito de atingir esse objetivo, torna-se necessário o aumento da disponibilidade de CO<sub>2</sub>, o aumento dos níveis de radiação e a redução da umidade relativa nos recipientes de cultivo, conferindo às plantas capacidade de crescimento e multiplicação em meio sem suprimentos orgânicos (Borkowska, 2001; Fischer & Alfermann, 1995; Kanechi et al., 1998; Khan et al., 2003; Seko & Nishimura, 1996). Em

adição, favorece também a transpiração da planta, beneficiando a absorção de água e sais minerais (Kozai et al., 1997).

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas com o intuito de fornecer condições ambientais que promovam o aumento na capacidade fotossintética do material micropropagado e favoreçam a aquisição de fotoautotrofia *in vitro*, sendo as principais:

- a) *Sistema de ventilação natural* – recipientes com filtros de membrana, que promovem o aumento das trocas gasosas, com o ambiente sob concentrações normais de CO<sub>2</sub> (Zobayed et al., 2002);
- b) *Sistema de ventilação forçada* – recipientes com filtros de membrana em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> (Khan et al., 2003; Vyas & Purohit, 2003);
- c) *Aumento do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA)* – troca das lâmpadas comuns por lâmpadas de halogênio (Kozai et al., 1997);
- d) *Uso de iluminação natural* (Kodym & Zapata-Arias, 1999).

O uso dessas alternativas em conjunto ou de forma isolada pode apresentar vantagens para o crescimento e desenvolvimento *in vitro* de diversas espécies por reduzir as desordens fisiológicas e morfológicas, aumentando a sobrevivência, promovendo o rápido e vigoroso desenvolvimento das plantas durante a aclimatização (Kozai et al., 1997; Khan et al., 2003).

A utilização de luz natural pode representar menor gasto com luz artificial, além de redução nos custos de manutenção, requerendo instalações mais simplificadas (Kodym & Zapata-Azarias, 1998). Entretanto, a disponibilidade de luz pode variar com as condições climáticas, como estações do ano e hora do dia. Este fator pode ser limitante em algumas regiões, principalmente aquelas com baixa intensidade luminosa e grande mudança climática durante o ano, como em áreas de clima frio.

O fator luz também influencia a fotossíntese, a concentração de clorofila e a estrutura dos cloroplastos em plantas cultivadas *in vitro*, entretanto, isso não causa limitação durante o processo de aclimatização (Lee et al., 1988). Provavelmente, maiores limitações de sobrevivência e adaptação a um novo ambiente das plântulas transplantadas estão relacionadas com a perda excessiva de água causada pelo baixo desenvolvimento de cera epicuticular com extensos espaços intercelulares no mesofilo (Wetzstein & Sommer, 1982) e também a estômatos com reduzida funcionalidade (Wetzstein & Sommer, 1983).

O estresse hídrico tem sido relatado como a principal causa de choque no transplântio, tendo como resultado a perda excessiva de água pelas plântulas (Brainerd & Fuchigami, 1981). A alta umidade relativa do recipiente de cultivo (próxima de 100%) e a baixa irradiância são os principais fatores que provocam alterações na estrutura e no funcionamento dos tecidos, causando a baixa capacidade das mudas produzidas *in vitro* de controlar a perda de água quando submetidas às condições do ambiente natural, com aumento da demanda evaporativa (Fuchigami et al., 1981; Preece & Sutter, 1991).

As plantas cultivadas em sistemas fotoautotróficos apresentam melhores características morfoanatômicas (Adelberg et al., 1999) como melhor desenvolvimento do sistema radicular, maior diferenciação do parênquima paliçádico, cutículas mais espessas, redução na densidade de estômatos e melhor funcionamento destes (Serret et al., 1996; Dimassi-Theroui & Bosabalidis, 1996; Khan et al., 2003).

## CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS

As desordens estruturais e funcionais das folhas de plantas são o resultado dos complexos fatores ambientais encontrados no ambiente de cultivo *in vitro*. A consequência é uma baixa taxa de sobrevivência das plantas, quando transferidas para condições *ex vitro* (Ziv, 1987). As modificações manifestadas nas folhas de plantas micropropagadas afetam os principais processos executados por estas, ou seja, a fotossíntese e as trocas gasosas (Debergh & Maene, 1984).

As plantas micropropagadas apresentam folhas com aspectos diferenciados, quando comparadas com plantas que cresceram em ambientes naturais, tais como pouca cera cuticular e estômatos pouco funcionais, reduzida diferenciação do mesofilo com grandes espaços intercelulares, além de uma fraca conexão vascular entre o sistema radicular e a parte aérea, o que pode limitar os processos de aclimatização (Brainerd et al., 1981; Grout & Aston, 1978; Pierik, 1990; Wetzstein & Sommer, 1983).

Donnelly & Vidaver (1984), trabalhando com anatomia foliar de framboesa, observaram que as folhas *in vitro* apresentavam-se menores, mais finas e com células paliçádicas e células do mesofilo menos compactas em relação às plantas crescendo em ambiente natural.

Comparando a anatomia de bétula branca desenvolvida *in vitro* com material mantido em casa de vegetação, Smith et al. (1986) verificaram que as células paliçádicas em corte transversal tomavam 38% do total da espessura nas plantas em casa de vegetação, porém, somente 21% nas dos materiais *in vitro*.

Lee et al. (1985), trabalhando com *Liquidambar*, mostraram que diferenças no fluxo quântico podem modificar o desenvolvimento *in vitro*. A elevação nos níveis de luz produziu folhas mais espessas *in vitro*, com diferenciação do tecido paliçádico no mesofilo. A anatomia foliar destas plântulas apresentou-se mais próxima de folhas de mudas em aclimatização do que o material *in vitro* crescendo em baixa irradiância.

A estrutura e o funcionamento do estômato têm sido implicados pela falta de controle da entrada e saída de água mostrada pelas plantas micropropagadas quando removidas do meio de cultura. Em todas as espécies observadas, os estômatos estavam totalmente abertos quando em cultivos *in vitro*. A densidade estomática *in vitro*, medida por número de estômatos por mm<sup>2</sup>, foi maior em macieira (Blanke & Belcher, 1989) e roseira (Capellades et al., 1990), mas menor em ameixeira (Brainerd et al., 1981), quando comparadas com plantas que cresceram em casa de vegetação.

A morfologia e a densidade dos estômatos podem ser alteradas *in vitro* por mudanças das condições ambientais. Em roseiras que cresceram em condições *in vitro*, o aumento na irradiância de 25 para 80  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e decréscimo da umidade relativa de 100% para 75%, resultou em estômatos muito similares àqueles formados em plantas em casa de vegetação. Os estômatos foram mais elípticos e em menor número (Capellades et al., 1990).

O tempo de fechamento dos estômatos durante a transferência das plantas *in vitro* para casa de vegetação pode ser determinante para a sua sobrevivência durante a aclimatização. Esse tempo pode ser variável de acordo com a espécie e as condições *in vitro*. Na verdade, a maioria dos estômatos fecha entre 12 e 24 horas após a retirada da planta do meio de cultura. Shackel et al. (1990) calcularam que a perda de água após 24 horas supera duas ou três vezes o peso inicial das plantas. Esses dados revelam que a demanda transpiratória pode resultar em severo estresse hídrico por meio da resposta de fechamento de estômatos à baixa umidade relativa.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora seja certo que a alteração do ambiente de cultivo possa favorecer a capacidade fotoautotrófica, a dificuldade tem sido determinar qual o grau de fotoautotrofia atingida pela planta em determinada condição de cultivo, principalmente em função das metodologias disponíveis para esses estudos (Serret et al., 1996). Além disso, uma única característica da planta ou único fator ambiental não podem expressar um processo tão complexo (Decchetti, 2004).

É evidente que qualquer metodologia que cause a aproximação da micropropagação convencional, em relação aos sistemas fotoautotróficos, pode trazer benefícios interessantes, como economia do processo e proporcionar plantas produzidas *in vitro* mais rústicas e resistentes aos estresses do processo de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELBERG, J.; FUJIWARA, K.; KIRDMANEE, C.; KOZAI, T. Photoautotrophic shoot and root development for triploid melon. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 57, n. 2, p. 95-104, 1999.

BLANKE, M. M.; BELCHER, A. R. Stomata of apple leaves cultured in vitro. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 85-89, 1989.

BORKOWSKA, B. Morphological and physiological characteristics of micropropagated strawberry plants rooted *in vitro* or *ex vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 195-206, July 2001.

BRAINERD, K. E.; FUCHIGAMI, L. J. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 4, p. 515-518, July 1981.

BRAINERD, K. E.; FUCHIGAMI, L. J.; KWIATKOWSKI, C. S. Leaf anatomy and water stress of aseptically cultured 'Pixy' plum grown under different environment. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 2, p. 173-175, Apr. 1981.

CAPELLADES, M.; FONTARNAU, R.; CARULLA, C. DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue culture *Rosa multiflora*. **Jornal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 1, p. 141-145, Jan. 1990.

CUI, Y. Y.; HAHN, E. J.; KOZAI, T.; PAEK, K. Y. Number of air exchanges, sucrose concentration, photosynthetic photon flux, and differences in photoperiod and dark period temperatures affect growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets *in vitro*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 62, n. 3, p. 219-226, 2000.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. Pathological and physiological problems related to in vivo culture of plant. **Parasitica**, Gebloux, v. 40, n. 1, p. 69-75, 1984.

DECCETTI, S. F. C. **Ambiente de cultivo e respostas morfofisiológicas durante o processo de micropropagação de *Annona glabra* L.** 2004. 93 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DIMASSI-THERIOU, K.; BOSABALIDIS, A. M. Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordercht, v. 47, n. 2, p. 127-134, 1996.

DOOLEY, J. H. Influence of lighting spectra on plant tissue. In: METTING OF AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, 1991, Chicago. **Proceedings...** Chicago: [s. n.], 1991.

DONNELLY, D. J.; VIDAVER, W. E. Leaf anatomy od red raspberry transfered from culture to soil. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 109, n. 2, p. 172-176, Mar. 1984.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e uso de luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p. 961-965, jul-ago, 2005,

FISCHER, U.; ALFERMANN, A. W. Cultivation of phoautotrophic plant cell suspensions in biorfeactor: influence of culture conditions. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 19-28, July 1995.

FUCHIGAMI, L. H.; CHENG, T. Y.; SOELDNER, A. Abaxial transpiration of water loss in aseptically cultured plum. **Journal of the american society of horticultural science**, Alexandria, v. 106, n. 4, p. 519-522, July 1981.

GROUT, B. W. W.; ASTON, M. J. Modified leaf anatomy of cauliflower plantlets regenerated from meristem culture. **Annals of Botany**, London, v. 42, n. 180, p. 993-995, 1978.

KANECHI, M.; OCHI, M.; ABE, M.; INAGAKI, M. N.; MAEKAWA, S. The effects of carbon dioxide enrichment, natural ventilation, and light intensity on growth, photosynthesis, and transpiration of Cauliflower plantlets cultured *in vitro* photoautotrophically and photomixotrophically. **The Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 123, n. 2, p. 176-181, Mar. 1998.

KHAN, S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, O. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia plantarum**, Copenhagen, v. 46, n. 2, p. 161-166, 2003.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata*) cv. Grande Naine. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1998.

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, n. 1, 49-56, 1997.

KUBOTA, C.; TADOKORO, N. Control of microbial contamination for large-scale photoautotrophic micropropagation. **In vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, New York, v.35, p. 296-298, 1999.

LEE, N.; WEZSTEIN, Y.; SOMMER, H. E. Quantum flux density effects on the anatomy and surface morphology of *in vitro* and *in vivo* developed sweetgum leaves. **Journal of the american society of horticultural science**, Alexandria, v. 113, n. 1, p. 167-171, Jan. 1988.

PREECE, E.; SUTTER, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 72-93.

SEKO, Y.; NISHIMURA, M. Effects of CO<sub>2</sub> and light on survival and growth *in vitro* on sugar-free medium. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 257-264, Sept. 1996.

SERRET, M. D.; RILLAS, M. I.; MATAS, J.; ARAUS, J. L. Development of photoautotrophic and photoinhibition of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 1-16, Apr. 1996.

SHACKEL, K. A.; NOVELLO, V.; SUTTER, E. G. Stomatal function and cuticular conductance in whole tissue cultured apple plants. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 3, p. 468-472, Apr. 1990.

SMITH, M. A. L.; PALTA, J. P.; McCOWN, B. H. Comparative anatomy and physiology of microcultured, seedling, and greenhouse-grown asian White birch. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 11, n. 3, p. 437-442, May 1986.

STANDAERT-DE-METSANAERE, R. E. Economic considerations. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation – technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 131-140.

VYAS, S.; PUROHIT, S. D. In vitro growth and shoot multiplication of *Wrightia tomentosa* Roem et Schult in a controlled carbon dioxide environment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 75, n. 3, p. 283-286, Dec. 2003.

WETZSTEIN, H. Y.; SOMMER, H. E. Leaf anatomy of tissue-cultured *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) during acclimatization. **American Journal of botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1579-1586, Oct. 1982.

WETZSTEIN, H. Y.; SOMMER, H. E. Scanning electron microscopy of in vitro cultured *Liquidambar styraciflua* plantlets during acclimatization. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 3, p. 475-480, May 1983.

ZIV, M. In vitro hardening and acclimatization of tissue culture plants. In: WITHERS, L. A.; ALDERRSON, P. G. (Ed.). **Plant tissue culture and its agricultural applications**. London: Butterworths, 1987. p. 187-196.

ZOBAYED, S.M.A. Physiology of Eucalyptus plantlets grown photoautotrophically in scaled-up vessel. **In vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, New York, v.37, p. 807-813, 2001.

PALAVRAS CHAVES:  
Micropropagação, luz natural.



## **RECIFLORA – da produção de flores e plantas ornamentais para o consumo interno à exportação.**

Teixeira, Maria do Carmo Ferraz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>RECIFLORA - Rua Djalma Farias, 444 – Torreão – Recife-PE – CEP 52 030-190, Fone: 81 3438 5684 – 3241 4031 – 9972 1961, e-mail: [mariadocarmo@florestropicais.com.br](mailto:mariadocarmo@florestropicais.com.br)

### HISTÓRICO

A RECIFLORA foi criada em 1994, fruto do IX Congresso da Sociedade Brasileira de Flores e Plantas Ornamentais realizado em Recife em 1993. Nesse Congresso houve a apresentação pelo Prof. Carlos Eduardo Castro, do IAC, de um Seminário abordando o cultivo das flores tropicais, o mercado emergente na Europa, e a condição climática natural que o Nordeste teria de produzi-las.

Burlemax já havia introduzido em Recife algumas variedades na década dos trinta quando da sua permanência como paisagista na Prefeitura do Recife. As praças projetadas e construídas por Burlemax guardam ainda hoje essa memória. Muitas mansões e casas de campo adotaram também as plantas tropicais nos seus jardins. Surgiram depois os colecionadores.

Assim, a semente plantada pelo Congresso em 1993 caiu num terreno muito fértil e receptivo.

Após o Congresso alguns participantes e outros interessados passaram a se reunir visando à formação de uma associação cujo objetivo seria a produção e exportação de flores tropicais.

Em 1994 foi fundada a RECIFLORA, envolvendo 22 pessoas interessadas em tocar esse projeto. Podemos dizer que foi uma aventura levada pelo entusiasmo, mas uma aventura muito gratificante e que no final deixou resultados. As dificuldades foram imensas e ainda são. Alguns produtores desistiram, outros persistem até hoje. O movimento continuou atraindo novas pessoas com interesse em produzir. E o mercado interno - Recife especialmente - mostrou-se muito receptivo ao consumo das tropicais.

A associação estava nascendo do nada, numa situação em que o produto (como flor de corte) era desconhecido, a fonte era desconhecida, o mercado precisava ser feito, e os produtores eram despreparados profissionalmente.

### O INICIO – PESQUISA

As primeiras ações da RECIFLORA foram:

- Mobilização dos produtores para reunir o maior número possível de variedades junto aos colecionadores, em jardins particulares e nas matas, em Recife;
- Buscar mais variedades em outras regiões do Brasil e no exterior;
- Identificar e trazer literatura sobre o assunto – principalmente dos EUA;
- Participar de Congressos no Brasil e no Exterior;
- Pesquisar e selecionar as variedades mais adequadas para corte;
- Transferir esse conhecimento para os associados.

### DIVULGAÇÃO

- Após 1 ano foi organizado o I WORK SHOP DE FLORES TROPICAIS em Recife, mobilizando os decoradores locais e a imprensa para uma apresentação, durante 3 dias de trabalhos, de arte floral utilizando as flores tropicais;
- Manutenção da divulgação na TV e jornal das ações dos produtores através de noticiários;
- Oferecimento de cursos de decoração ao consumidor em geral, com profissionais locais e de outros estados;
- Buscar apoios institucionais.

## APOIOS INSTITUCIONAIS

Até 1997 as ações foram exclusivas da Associação e seus produtores.

A primeira ação de apoio partiu da Delegacia Regional do Ministério da agricultura, promovendo divulgação para as flores tropicais que estavam sendo cultivadas no Estado.

Mas foi a partir de 1998, com o apoio do SEBRAE-PE, que o processo de produção e comercialização das flores tropicais foi alavancado em Pernambuco. O objetivo foi profissionalizar o setor. Foi aprovado junto ao SEBRAE Nacional o Plano de Ação para Desenvolvimento de Todos os elos da Cadeia Produtiva de Flores no Estado de Pernambuco, Esse projeto viabilizou a realização de diversas ações coordenadas pelo SEBRAE-PE:

- Levantamento dos entraves ao desenvolvimento dos trabalhos;
- Cursos de Associativismo, produção, pós-colheita, e gerenciamento;
- Participação em Missões de Prospecção de Mercado na Europa
- Participação em feiras nacionais e internacionais;
- Orientação e participação em Rodadas de Negócios;
- Pesquisa para realização do Diagnóstico da Floricultura em Pernambuco
- Preparação dos Produtores para exportar.

É importante ressaltar que essas ações foram viabilizadas também pela união das duas associações de flores existentes. Em consequência foi criado em 1999 o Comitê de Floricultura, numa ação que reuniria a Associação de Flores Tropicais – RECIFLORA, e a Associação de Flores temperadas, a FLORAPE, e os órgãos intervenientes do assunto:

SEBRAE,  
 MINISTERIO DA AGRICULTURA,  
 SECRETARIA DE PRODUÇÃO DO ESTADO,  
 CEASA,  
 AD-DIPER,  
 UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO,  
 BANCO DO BRASIL  
 BANCO DO NORDESTE.

Contando com esses apoios foi possível a realização da feira anual de flores em Recife – a FLORINVEST - e demais ações do projeto do SEBRAE que envolvia todos os elos da cadeia produtiva.

Hoje existe em Pernambuco diversas associações e Cooperativas de Flores, reunindo cerca de 60 produtores.

Com a extinção do Comitê em 2003 e posteriormente da Comissão de Floricultura as Associações e Cooperativas tiveram suas atividades reduzidas pela falta de apoio institucional.

As principais ações da RECIFLORA hoje são:

- manter os associados informados do que ocorre no setor;
- Estimular e participar das pesquisas realizadas pela UFRPE, fornecendo apoio e material;
- Desenvolvimento de um modelo de Consórcio de Exportação entre os associados, iniciado em 2004 e mantido até a presente data.

As principais dificuldades são:

- Heterogeneidade do grupo em termos de objetivos e de conhecimento;
- Dificuldade financeira para realizar ações independentes;
- Dificuldade na solução do problema de vendas dos associados.
- Em consequência, dificuldade em promover o aumento da produção em volume comercial.

## ATIVIDADES ATUAIS

### PESQUISA

O Laboratório de Floricultura do Departamento de Agronomia da UFRPE vem desenvolvendo pesquisas em parceria com os produtores flores tropicais através do apoio da RECIFLORA desde 1999.

A aprovação de projetos pelo ETENE-FUNDECI e PROMATA-FACEPE permitiu a condução de vários experimentos atendendo a demandas regionais:

- 2002 – Desenvolvimento, Seleção e Avaliação de Espécies de Heliconias em Pernambuco;
- 2003 - Criação do Banco de Germoplasma de Heliconia da UFRPE;
- 2004 – Colheita, Pós-Colheita, e Embalagem de Flores Tropicais em Pernambuco;
- 2005 – Avaliação, Manejo Cultural e Pós-Colheita de Flores Tropicais;
- 2005 – Experiências de Cultivo de Antúrio para Flor de Corte em PE;
- 2006 – Produção de Inflorescências de Alpinia Purpurata na Zona da Mata de Pernambuco;
- 2006 – Desenvolvimento de Inflorescências em Flores Tropicais;
- 2006 – Massa Fresca de Hastes Florais de Alpinia e Heliconia após a Colheita;
- 2006 – Experiência em Container com Atmosfera Controlada a 12°C;
- 2006 – Florescimento de Etilingera spp na Zona da Mata de Pernambuco;
- 2006 – Avaliação do potencial de uso como Folhagem de Corte de Espécies da Família das Aráceas (Pesquisa em Andamento)

Destacamos o grande esforço desenvolvido pela Coordenadora do Departamento de Floricultura da UFRPE, professora Vivian Loges para viabilizar esses trabalhos de pesquisa

com sua equipe e estagiários, contando com recursos mínimos. Para ela e sua equipe os nossos agradecimentos.

## CONSORCIO DE EXPORTAÇÃO

O Consorcio de Exportação – TROPICAL BRAZIL – foi criado em 2004, numa ação que envolveu o SEBRAE e a FECOMERCIO.

Foram realizadas as seguintes ações:

- a. Identificação dos produtores que estariam aptos a exportar (conhecimento e volume);
- b. Contratação de um Consultor de Comercio exterior para acompanhar as ações;
- c. Levantamento das condições de cada consorciado relativo à produção (Qualitativo e quantitativo);
- d. Curso de preparação para exportação de flores para os consorciados, realizado pelo consultor;
- e. Habilitação das Empresas para exportar;
- f. Contatos e vendas realizadas (com o apoio do consultor):
  - Inglaterra
  - França
  - Espanha
  - Alemanha
  - Polônia

Foram cumpridas todas as etapas para formação do modelo de Consórcio e identificadas as dificuldades para sua operacionalidade.

A situação cambial que temos hoje no Brasil não estimula as exportações. Fazemos apenas algumas vendas esporádicas e estimulamos os consorciados a ampliarem o seu mercado interno até que haja mudanças nessa área.

## PALAVRAS CHAVES:

Reciflora, produção, associação, ornamentais.

## **Reduzindo custos em biofábricas.**

Teixeira, Silvio Lopes<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense - CCTA / Laboratório de Fitotecnia - Av. Alberto Lamego, 2.000, CEP: 28015-180, Campos dos Goytacazes, RJ – Tel: (022) 2733-7828, e-mail: [teixeira70@yahoo.com.br](mailto:teixeira70@yahoo.com.br)

Até onde é do conhecimento do autor, a idéia de se utilizar a cultura de tecidos vegetais como técnica comercial para propagação de plantas em larga escala, surgiu após a publicação do artigo “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures” por Murashige & Skoog (1962). Pouco depois desta data já surgiam os primeiros laboratórios comerciais na região de Los Angeles, com a orientação do Dr. Toshio Murashige, então professor da Universidade da Califórnia – Riverside. Inicialmente, foram montados pequenos laboratórios, anexos a viveiros comerciais já existentes, com a finalidade de clonar espécies que oferecem dificuldades neste sentido, ou para as quais a cultura in vitro poderia ser mais vantajosa do que as técnicas convencionais de clonagem, como é o caso de orquídeas, samambaias e outras plantas ornamentais. Em pouco tempo aumentava, tanto o número de laboratórios instalados, quanto o número de espécies clonadas comercialmente in vitro, além da difusão de tais laboratórios para outras regiões.

Inicialmente, os laboratórios instalados com esta finalidade apresentavam estrutura simples, constituindo cópias dos laboratórios de pesquisa das universidades, utilizando utensílios e equipamentos típicos de laboratórios de pesquisa, tais como erlenmeyers, beakers, agitadores magnéticos, além de outros de custo elevado e sensíveis a manuseio por pessoal não habilitado. Com a instalação de laboratórios de maior capacidade, resultou na necessidade da sua sofisticação, devido ao aumento dos riscos de contaminação e a necessidade de uma estrutura e metodologias mais aprimoradas, que permitam maior controle da assepsia. E esta necessidade aumentou à medida que os laboratórios comerciais evoluíram para instalações de grande porte, hoje denominadas “biofábricas”, algumas produzindo até 20.000.000 de plantas por ano, ou mais. Com isto resultou o aumento dos custos e a necessidade de medidas visando a sua redução.

As primeiras iniciativas visando a redução de custos nos laboratórios comerciais já eram vistas nos primeiros laboratórios montados na região de Los Angeles. Um destes laboratórios, visitados pelo autor, na década de 70, já utilizava utensílios de cozinha, de aço inoxidável, no lugar de erlenmeyers e beakers, bem como frascos de conserva de 250 mL como frascos de cultura, em substituição aos tubos de ensaio e erlenmeyers utilizados na época com esta finalidade, além de um misturador comum de restaurante, em substituição ao agitador magnético. Este mesmo laboratório já procurava aumentar o rendimento da mão de obra, fazendo o enchimento dos frascos de cultura com um pequeno dispensador comercial de líquidos, que dosava mecanicamente a quantidade de meio de cultura a ser vertido em cada frasco, dotado de uma extensão que permitia encher até 5 frascos por vez. Em outro laboratório, de maior porte, uma casa de vegetação foi transformada em sala de crescimento, resfriada com aparelhos de ar condicionado. Esta foi certamente a primeira iniciativa destinada a utilizar a energia solar em substituição à luz artificial na sala de crescimento. Desde então, muitas outras modificações vêm sendo adicionadas, algumas delas no sentido da redução de custos e outras visando melhorar a qualidade do produto final.

A redução de custos é essencial para se produzir plantas a custo competitivo com as técnicas convencionais. Mas é preciso que as medidas adotadas neste sentido não resultem em prejuízo à qualidade do produto final e nem resultem em aumento dos riscos de contaminação, já que as perdas por esta causa concorrem para o aumento dos custos.

Devido ao custo elevado de produção nas biofábricas, a maioria das espécies produzidas com esta técnica e destinadas à venda direta ao consumidor final, tem sido de plantas ornamentais, em razão do valor mais elevado deste produto no mercado, se

comparado com plantas produtoras de alimento. Dentre estas últimas, apenas algumas podem ser clonadas economicamente em biofábricas, em razão de características especiais que envolvem as suas técnicas culturais, como é o caso da banana, morango e batata inglesa. Destas, a banana é a única espécie cujos propágulos provenientes da biofábrica podem ser utilizados com vantagem econômica, diretamente para a formação de plantios comerciais. Devido ao problema de patógenos sistêmicos que afetam as duas outras espécies e que reduzem drasticamente a sua produtividade, elas precisam obrigatoriamente ser clonadas *in vitro*, após terem sido submetidas a limpeza clonal, sendo, os propágulos-matrizes provenientes da biofábrica, utilizados para a formação de viveiros conduzidos sob condições controladas, os quais fornecerão propágulos livres de patógenos sistêmicos, a serem empregados nos plantios comerciais. Desta forma, o custo mais elevado dos propágulos provenientes da biofábrica se dilui pelos propágulos produzidos no viveiro e não afeta significativamente os custos de produção do produto final.

A introdução contínua de novos procedimentos de propagação *in vitro*, novos equipamentos, novos utensílios e outros artifícios, vêm permitindo o aumento também contínuo do número de espécies que se tornam aptas a serem clonadas mais economicamente nas biofábricas. Assim, a clonagem de eucalipto em biofábricas por empresas florestais já é uma realidade, através de um artifício que utiliza propágulos provenientes de biofábricas, para a formação de mini-matrizes em viveiros, que por sua vez fornecerão as mini-estacas para enraizamento e produção de mudas para os plantios comerciais.

Para a redução de custos nas biofábricas, a primeira medida a adotar é o cuidado com a localização e o desenho da instalação. Qualquer erro cometido nesta fase, poderá resultar em prejuízos permanentes. Uma instalação propriamente localizada e desenhada adequadamente resulta em menores riscos de contaminação, menor custo com energia e melhor rendimento das operações (Bridgen & Bertok, 1997). Por exemplo, o clima da região pode afetar sensivelmente os gastos com a energia necessária para o resfriamento ou aquecimento da sala de cultura. Segundo Ahloowalia & Prakash (2004), em Nova Delhi, onde as temperaturas do verão são elevadas, o custo com energia, numa biofábrica produzindo 5.000.000 de plantas por ano, é de US\$ 0,80 por mil plantas, enquanto nas regiões de Bangalore e Prune, com clima mais ameno, este custo é de US\$ 0,30. Por isso, das 76 biofábricas da Índia, 52 se localizam em Bangalore e Prune, e apenas 24 em Nova Delhi.

Uma biofábrica instalada em local onde o ar ambiente seja rico em poeira, substâncias químicas, microorganismos e outros contaminantes pode exigir medidas especiais para contornar o problema, o que acarreta gastos extras na construção e manutenção e, conseqüentemente, aumento dos custos.

O desenho da instalação deve levar em conta a separação das atividades do laboratório em salas separadas, de modo a constituir diferentes ambientes dentro da instalação, quanto ao nível de assepsia desejado, ou seja, uma zona com índice elevado de assepsia, formada pela “sala de transferência” e “sala de crescimento”, onde as condições de assepsia são mais rígidas. Uma zona de mediana assepsia, formada pelas salas de preparo e esterilização de meio de cultura e depósito de vidraria limpa. Uma zona ordinária, com nível de assepsia normal, formada pelas demais salas, como sala de limpeza, banheiro, escritório, almoxarifado e área de expedição. Na sala de transferência, a mais exigente em cuidados, é recomendável a instalação de um sistema de pressão positiva. A adoção de energia solar para iluminação da sala de crescimento exige que esta sala se destaque das demais na planta, devendo assim, também ter o seu sistema de pressão positiva.

As operações do laboratório devem se dispor de modo a evitar caminhadas longas e excessivo movimento de pessoas. Isto se consegue dispondo, em ordem, as salas de limpeza, de preparo de meio, de transferência, e de crescimento. É recomendável que as zonas mais assépticas fiquem separadas da zona ordinária por uma porta. As salas de transferência e de crescimento devem ter visores de vidro, para reduzir a entrada de visitantes a estas salas. Ambas salas não devem ter passagem através delas. O banheiro deve se situar logo à entrada da instalação e possuir chuveiros e vestiário, para troca de

roupa e calçados pelos operários logo na entrada. A estrutura se completaria com a instalação de um gerador de emergência, para suprir eventuais cortes de energia pelo menos para a sala de crescimento.

O conjunto destas medidas resulta no desenho de uma estrutura equilibrada, com redução das caminhadas pelos operários dentro do laboratório e um controle eficiente da contaminação, resultando em redução de custos. A não adoção destes cuidados poderá resultar numa estrutura defeituosa e sujeita a perdas irremediáveis e permanentes, com reflexo negativo no custo de produção.

Outras medidas podem ser tomadas com a finalidade de redução de custos, mas vão depender da escala de produção. A automação das operações, com a finalidade de aumentar a escala de produção, tem sido testada mas não tem sido considerada econômica.

De acordo com o Dr. Pedro Orellana, da Universidade de Las Villas, em Cuba (informação pessoal), tem-se considerado como mais econômicas naquele país, biofábricas com capacidade de produção entre 4.000.000 e 5.000.000 de plantas por ano.

Ahloowalia & Prakash (2004) relatam a existência de uma biofábrica na Índia, resultante da transformação de uma casa de três quartos, em laboratório, com a adoção das medidas adequadas de redução de custos, que produz economicamente cerca de 2.500.000 plantas por ano.

A substituição de componentes mais purificados do meio de cultura, por outros com menor grau de pureza, pode constituir uma boa medida para redução de custos numa produção em larga escala. Uma mistura de amido de mandioca + amido de batata + semolina, na proporção de 2 : 1:1 é citado como substituto barato para o Agar (Prakash et al, 2004). Zimmerman (1995) e Stanley (1995) relatam que amido de milho + “Gelrite” na proporção de 50g + 0,5g respectivamente, substituíram vantajosamente o Agar para o cultivo de maçã, pêra, banana, cana-de-açúcar, gengibre e outras espécies. Outros autores relataram o uso do amido de mandioca, de milho e outros, com bons resultados. Melhor ainda seria substituir qualquer agente gelificante por meio líquido. Segundo Prakash et al (2004), o custo do litro de meio de cultura varia em torno de US\$0,18 para meio sólido e US\$0,08 para meio líquido. Os mesmos autores relatam o uso de fibra de algodão no Paquistão e Bangladesh, como suporte em meio líquido para banana, orquídea, crisântemo e batata, tendo a orquídea e banana crescido muito mais rapidamente do que em Agar. Esta é uma substituição altamente vantajosa, já que o Agar tem custo elevado e ainda complica o preparo do meio de cultura, pela necessidade de aquecimento para sua fusão. Outros produtos, como lã de vidro, blocos de espuma de polystireno e outros (Bhattacharya et al, 1994) têm sido usados com sucesso como suporte para a cultura em meio líquido (Prakash et al, 2004), para eliminação do Agar. Já utilizamos blocos de espuma de polystireno com sucesso para a cultura de bromélia.

Outro componente de custo elevado e que se usa em grande quantidade, a sacarose PA, tem sido substituída sem problemas por açúcar refinado, em culturas-estoque das mais diversas espécies, no laboratório de cultura de tecidos da Universidade Estadual do Norte Fluminense.

A água dessalinizada em laboratório tem sido substituída por água de chuva e até mesmo água potável doméstica (Ganapathi et al, 1995; Sharma & Sing, 1995). Em ambos os casos são necessários alguns cuidados na utilização de água destas origens. O emprego de água simplesmente deionizada tem sido usado no laboratório de cultura de tecidos da UENF e funciona perfeitamente, a um custo muito mais baixo do que a destilada.

O protocolo de preparação do meio de cultura é outro fator a considerar, quando o objetivo é reduzir custos. A preparação de grandes volumes de meio de cultura para uso em dias sucessivos não é recomendável, principalmente quando envolve componentes de rápida decomposição, como certos reguladores de crescimento. Pior ainda é armazenar meio de cultura ainda não esterilizado, por período superior a 24 horas. O ideal é a preparação de soluções-estoque concentradas, com todos os componentes, em quantidade que permita o preparo de cinco ou mais litros de meio de cultura, embala-las em sacos

plásticos e congela-las, para uso subsequente. Com esta medida se economiza tempo e mão de obra no preparo dos meios.

Os frascos de cultura hoje existentes abrangem diversos tipos, variando quanto ao volume, formato e material de fabricação. Dentre os mais baratos estão os frascos de conserva de vidro, de até 500 ml, sendo os de 250 ml com tampa de polipropileno, os mais usados. Apresentam a vantagem da durabilidade ilimitada, podendo ser autoclavados indefinidamente sem perda da transparência.

O recipiente denominado Magenta<sup>TM</sup>, muito usado em outros países, além de muito caro, o produto nacional permite contaminação através dos bordos da tampa, que precisam ser envolvidos por filme plástico, o que significa uma exigência extra de mão de obra; além disso, o recipiente perde a transparência com a sucessão de autoclavagens.

Recipientes descartáveis do tipo saco plástico flexíveis, semi-permeáveis a gases, de baixo custo, vêm sendo desenvolvidos atualmente (Ahloowalia, 1995, 1999; Tanaka et al, 1988, 1991), e permitem boa redução de custos, mas ainda não usados no Brasil. São sacos plásticos de 10 x 15 cm), que já vêm esterilizados da indústria e são fechados com uma seladora de sacos plásticos. Assim, não precisam de tampa e podem ficar pendurados, dispensando as tradicionais prateleiras de custo elevado.

Segundo Prakash et al (2004), o emprego de ingredientes e recipientes de baixo custo pode reduzir de 50 a 90% o custo do meio de cultura.

Em países com mão de obra barata como o Brasil, a lavagem dos frascos de cultura e outros recipientes de vidro pode ser feita de maneira mais econômica do que em máquinas de lavar ou instalações automáticas, apenas improvisando uma lavadora consistindo em uma escova adaptada a um pequeno motor elétrico.

O emprego de biorreatores em substituição a outros tipos de frascos de cultura é uma alternativa que promete reduzir substancialmente os custos. Dentre os diferentes tipos de biorreatores, destaca-se o SIT - Sistema de Imersão Temporal, que além de usar meio líquido, o material vegetal não permanece em contato permanente com o meio de cultura, reduzindo assim o problema freqüente de hiperhidricidade, sendo banhado com a solução nutritiva periodicamente, além de fazer a troca periódica da atmosfera do frasco. Tudo isto resulta em melhor crescimento e multiplicação da plantas, além da formação de plantas com anatomia, morfologia e metabolismo mais normais, capazes de sobreviver melhor às condições ex-vitro, sem a necessidade de longo período de aclimatização. Todavia, o seu emprego exige cuidados especiais quanto ao manuseio, para evitar contaminação, o que resulta na necessidade de operários bem treinados. Este fator, associado ao custo elevado dos recipientes, bem como o custo elevado da autoclavagem dos mesmos, tem limitado o seu emprego.

A substituição da autoclavagem por outra técnica de esterilização do meio de cultura permitiria uma economia substancial, já que autoclavagem é uma técnica de custo elevado. Teixeira et al (2006) mostraram a possibilidade de se esterilizar o meio de cultura com hipoclorito de sódio, utilizando um novo protocolo de preparo do meio. O protocolo já foi usado para diversas espécies, como eucalipto, fáfia, sequóia, abacaxi e outras, sem inconvenientes. A taxa de multiplicação e a produção de biomassa do abacaxi no meio esterilizado quimicamente foram duas e meia vezes superiores às do meio autoclavado. Além disso, foi evidenciado que microorganismos contaminantes das culturas-estoque de onde provieram os explantes, ou que caíram dentro dos frascos de cultura no momento da inoculação dos explantes, não sobreviveram às condições do meio esterilizado com hipoclorito de sódio. Assim, a economia com a eliminação da autoclavagem, o maior rendimento da mão de obra para preparação do meio de cultura e a redução da taxa de contaminação resultam em substancial redução dos custos. Em Cuba também se utiliza a esterilização química com uma mistura de dois produtos patenteados.

Um novo conceito em micropropagação que vem sendo desenvolvido ultimamente, é o SCTF - Sistema de Cultura de Tecidos Fotoautotrófico (FTCS - Fotoautotrophic Tissue Culture System), no qual as culturas se desenvolvem em meio nutritivo isento de sacarose e ambiente in-vitro enriquecido com dióxido de carbono. O Sistema permite a utilização de frascos de cultura mais volumosos, meio de cultura mais simples e barato, taxa de



multiplicação mais elevada, além de ser menos sujeito a contaminação e produzir plantas já adaptadas ao ambiente ex-vitro, tudo isto resultando em custos mais baixos. Segundo Prakash et al (2004), com a eliminação da sacarose, o custo do litro de meio de cultura se reduz para US\$0,13 para meio sólido e US\$0,03 para meio líquido.

O gasto com a iluminação artificial da sala de crescimento é um dos mais elevados da biofábrica, além de produzir plantas com morfologia, anatomia e metabolismo alterados (Ahloowalia & Savangikar, 2004), o que as torna frágeis quanto à adaptação ao ambiente ex-vitro, podendo resultar na sua morte ou na exigência de cerca de duas semanas de aclimatização na casa de vegetação. Assim, o emprego da iluminação solar na sala de crescimento é outra medida já consagrada, que reduz os gastos com energia e produz plantas já adaptadas às condições ex-vitro, resultando em maior porcentagem de sobrevivência e redução de mão de obra e de tempo de permanência das plantas na casa de vegetação durante a fase de aclimatização. A opção mais barata para uso da luz solar consiste em se destacar a sala de crescimento do restante do corpo da biofábrica e posiciona-la de tal forma que suas paredes e teto, que são de vidro, formem sempre um ângulo com os raios solares em qualquer parte do dia. Esta alternativa vem sendo usada com sucesso em biofábricas cubanas (Baezas-Lopez, 1995). Uma alternativa menos sofisticada, usada na Índia (Ahloowalia & Savangikar, 2004), para cultura em pequena escala, tem sido o cultivo nos já referidos sacos plásticos especiais, de polypropileno, pendurados na casa de vegetação. Todavia, esta alternativa depende de temperatura ambiente amena e homogênea durante o dia, já que nenhum controle artificial é feito, exceto pelo uso de cortinas, visando evitar a incidência direta da luz solar nos sacos. Alternativa semelhante tem sido tradicionalmente usada no Brasil pelos orquidófilos amadores, com resultados satisfatórios, mantendo os frascos de cultura em telados ou ripados, ou ainda dentro de casa, em cômodos bem iluminados com luz indireta. Economia adicional com energia pode ser conseguida projetando janelas de vidro amplas nos vários cômodos da biofábrica, o que permite dispensar a necessidade de lâmpadas acesas durante boa parte do dia e do ano.

Outro fator a considerar, visando redução de custos, é o gasto com mão-de-obra. Considera-se como boa produtividade do operador na capela de fluxo laminar, 2.500 transferências por dia. Em condições excepcionais, este rendimento pode atingir 5.000 transferências por dia (Ahloowalia & Savangikar, 2004). Utilizando a combinação da fase de multiplicação em biorreator e as fases finais em sacos plásticos, bem como o manuseio mecanizado dos propágulos, alternativas ainda não comumente usadas no Brasil, pode-se reduzir entre 50% e 75% os custos com os trabalhos na capela de fluxo laminar (Savangikar et al, 2002). O uso de música ambiente e a limitação do tempo de trabalho do operador na capela de fluxo laminar para 4 horas diárias aumentam o rendimento do operador. No tempo restante do dia, o operador seria direcionado para outras atividades. Considera-se, também, que o trabalho de mulheres apresenta maior rendimento na sala de transferência e no transplante das plântulas para os vasos na casa de vegetação.

Finalmente, o treinamento adequado dos funcionários e o envolvimento de um especialista bem qualificado no gerenciamento do empreendimento podem, à primeira vista, significar elevação de custos. Contudo, falhas de planejamento, de gerenciamento e procedimentos inadequados podem resultar em grandes perdas por contaminação e por outros motivos. Assim, o não investimento neste sentido, pode resultar em repetidos insucessos, que acabarão por inviabilizar o negócio a longo prazo, com resultados tanto mais desastrosos quanto maior for o volume da produção.

## REFERÊNCIAS

AHLOOWALIA, B.S. Waston module – A new system of plant micropropagation. **Biolink**, v. 2, p. 17, 1995.

AHLOOWALIA, B.S. Production of mini-seed tubers using a modular system of plant micropropagation. **Potato Res.**, v. 42, p. 569-575, 1999.

- AHLOOWALIA, B.S.; PRAKASH, J. Physical components of tissue culture technology. In: **Low cost options for tissue culture technology in developing countries**. Vienna: IAEA, 2004. p. 17-28.
- ALOOWALIA, B.S.; SAVANGIKAR, V.A. Low cost options for energy and labour. In: **Low cost options for tissue culture technology in developing countries**. Vienna: IAEA, 2004. p. 17-28.
- BAEZAS-LOPEZ, P. Cubans enlist the sun in virus-free propagation. **Ceres**, v. 156, p. 15-16, 1995.
- BHATTACHARYA, P., DEY, S.; BHATTACHARYA, B.C. Use of low-cost gelling agents and support matrices for industrial scale plant tissue culture. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**, v. 37, p. 115-123. 1994.
- BRIDGEN, M.P.; BERTOK JR, J.W. Designing a plant micropropagation laboratory. **Proc. Intern. Plant Propagators Soc.**, v. 37, p. 462-467, 1997.
- GANAPATHI, T.R., MOHAN, J.S.S., SUPRASANNA, P., BAPAT, V.A.; RAO, P.S. A low-cost strategy for *in vitro* propagation of banana. **Current Science**, v. 68, p. 646-665, 1995.
- MURAHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PRAKASH, S., HOQUE, M.I.; BRINKS, T. Culture media and containers. In: **Low cost options for tissue culture technology in developing countries**. Vienna: IAEA, 2004. p. 17-28.
- SAVANGIKAR, V.A., SAVANGIKAR, C., DAGA, R.S.; PATHAK, S. Reduction in cost in micropropagation: Achievements and further prospects. **I<sup>st</sup> International symp. liquid system for in vitro mass propagation of plants**, 29 May-2 June 2002. Agricultural Univ. Norway. Norway. 2002.
- SHARMA, T.R.; SINGH, B.M. Simple and cost-effective medium for propagation of ginger (*Zingiber officinale*). **Indian J. Agricult. Sciences**, v. 65, p. 506-508, 1995.
- TANAKA, M., HIRANO, T., GOI, M., HIGASHIURA, T., SASAHARA, H.; MURASAKI, K. Practical application of a novel disposable film culture vessel in micropropagation. **Acta Hort.**, v. 300, p. 77-84, 1991.
- TANAKA, M., JINNO, K., GOI, M.; HIGASHIURA, T. The use of disposable fluorocarbon polymer film culture vessel in micropropagation. **Acta Hort.**, v. 230, p. 73-80, 1988.
- TEIXEIRA, S.L., RIBEIRO, J.M.; TEIXEIRA, M.T. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. **Plant Cell, Tiss. Org. Cult.**, v. 86, p. 375-378, 2006.
- ZIMMERMAN, R.H. Use of starch-gelled medium for tissue culture of some fruit crops. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**, v. 43, p. 207-213, 1995.
- PALAVRAS-CHAVE:  
biofábrica, planejamento, estrutura, administração.

## **Indução de mutação: ampliação da variabilidade genética para o melhoramento de ornamentais.**

Tulmann Neto, Augusto<sup>1</sup>; Latado, Rodrigo Rocha<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professor Associado dp, Laboratório de Melhoramento de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura/USP, CP. 96, 13400-970, CEP 13400-970 Piracicaba-SP, fone (19) 3429-4684, email: [tulmann@cena.usp.br](mailto:tulmann@cena.usp.br); <sup>2</sup>Pesquisador do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis-SP, email: [rodrigo@centrodecitricultura.br](mailto:rodrigo@centrodecitricultura.br)

### INTRODUÇÃO

As ornamentais têm apresentado um aumento contínuo na sua importância econômica mundial, fato este que também tem ocorrido no Brasil (Flora Brasiliis, 2002), embora ainda não representem contribuição expressiva do valor econômico dos produtos agrícolas Brasileiros, como acontece em outros países, dentre os quais a Holanda é um exemplo marcante.

Diante desta importância econômica, os melhoristas têm trabalhado com diferentes métodos para a liberação de cultivares, mas no presente trabalho procurar-se-á destacar o papel da indução de mutações como técnica para ampliação da variabilidade genética, que pode ser utilizada para a obtenção de novas cultivares.

Dados revelam que entre as 2252 cultivares liberadas direta ou indiretamente pelo uso de mutagênicos, cerca de 25,0% foram obtidas em ornamentais, o que demonstra a importância desta técnica (Maluszynski et al., 2000). Dentre as razões apontadas para esse sucesso, citam-se: facilidade para reconhecimento de mutantes; tratamento de materiais altamente heterozigotos; possibilidade de uso de métodos *in vivo* e *in vitro*, sendo que este último possibilita a obtenção de mutantes periclinais ou sólidos num curto espaço de tempo; dificuldades de aplicação dos métodos de melhoramento denominados tradicionais.

Em ornamentais, a observação das características mudadas, na lista de cultivares liberadas aos agricultores revela que, ao contrário do que se poderia esperar, não apenas foram induzidos mutantes para coloração de flores ou de folhas, mas também mutantes com outras características agrônômicas de importância, tais como: maior tamanho de flores, maior número de flores por planta, hábito compacto, hábito ereto, florescimento precoce, maior comprimento da haste, maior adaptabilidade às condições ambientais e etc... (Schum & Preil, 1998; Maluszynski et al., 2000).

### PRINCÍPIOS BÁSICOS DO USO DE INDUÇÃO DE MUTAÇÃO NO MELHORAMENTO

Serão descritos alguns princípios básicos sobre a metodologia apropriada quando um produtor ou pesquisador decidir por utilizar a indução de mutação no melhoramento de ornamentais, mais detalhes podem ser vistos em revisões e ou publicações específicas (IAEA, 1995; Broertjes & Van Harten, 1978 e 1998, Tulmann Neto et al., 1998).

Os agentes responsáveis pela indução de mutação, os mutagênicos, podem ser divididos em físicos e químicos. Na primeira categoria estão incluídos os diferentes tipos de radiações, tais como raios-X, gama, nêutrons, luz ultravioleta e etc... Atualmente os mais empregados são os raios-X, obtidos de aparelhos de raios-X e os raios-gama, obtidos a partir de radioisótopos tais como <sup>60</sup>Co (existente nos dois irradiadores do CENA/USP, um dos quais obtido em 1999 com auxílio da FAPESP) e <sup>137</sup>Cs. Com exceção da luz ultravioleta, os demais têm grande penetrabilidade em todos os tipos de materiais a serem tratados. Em geral, após o tratamento, os materiais tratados podem ser manipulados imediatamente, sem riscos ambientais e para a saúde. Os mutagênicos químicos compreendem uma série de produtos químicos que, ao contrário dos anteriores, podem apresentar baixa penetrabilidade nos tecidos e exigem maiores cuidados na sua manipulação, tanto durante, como após os tratamentos. Dentre os mutagênicos químicos, os

alquilantes tem sido os mais utilizados, destacando-se entre eles o metanossulfonato de etila (EMS). O uso de mutagênicos químicos em associação com a cultura de tecidos tem possibilitado o aumento do emprego de tais tipo de mutagênicos pois, adicionado ao meio de cultivo, o mutagênico químico pode ter a sua penetrabilidade aumentada.

Os mutagênicos podem ser utilizados para tratamentos *in vivo* (sementes, borbulhas, rizomas, bulbos, plantas, folhas e etc...) ou *in vitro* (folhas, suspensões celulares, protoplastos, meristemas, plantas e etc...). Pode-se também fazer combinações entre esses métodos quando, por exemplo, após a irradiação de uma planta, pode-se utilizar o meristema apical que é cultivado *in vitro*, nas fases posteriores da pesquisa. No caso de irradiação de sementes, denomina-se de  $M_1$  a planta obtida após o tratamento mutagênico e de  $M_2$ ,  $M_3$ , e etc... as plantas descendentes da planta  $M_1$ . Quando materiais de propagação vegetativa são irradiados, denomina-se de  $V_1M_1$  a planta ou ramo derivado do tecido ou órgão irradiado e de  $V_2M_1$ ,  $V_3M_1$  e etc... as plantas originadas a partir da multiplicação vegetativa desta.

Após o tratamento com o mutagênico, dois tipos de efeitos podem ser observados: fisiológicos e genéticos. Os fisiológicos, em geral, são prejudiciais, pois causam redução no vigor, altura da planta, diminuição na sobrevivência e etc..., entretanto não causam preocupação pois são restritos as gerações de plantas  $M_1$  ou  $V_1M_1$ . Estes efeitos fisiológicos têm importância na fase de determinação da dose a ser utilizada para o trabalho pois são baseados neles que se faz a seleção da dose, procurando-se eleger uma ou mais doses que não causem efeitos fisiológicos excessivos nos materiais tratados. Em geral têm sido escolhidas doses que causam redução de 30 a 50% na altura ( $GR_{30}$  ou  $GR_{50}$ ) ou sobrevivência ( $LD_{30}$  ou  $LD_{50}$ ) das plantas  $M_1$  ou  $V_1M_1$ . Os efeitos genéticos, as mutações, já podem ser observados a partir das plantas  $M_2$  ou  $V_2M_1$  e os mutantes selecionados devem ser propagados para posteriores observações e avaliações nas gerações  $M_3$ ,  $M_4$ ... ou  $V_3M_1$ ,  $V_4M_1$ .

Dentre os princípios básicos deve-se citar que a mutação é um evento unicelular e que ocorre ao acaso, isto é, não é possível direcionar-se o tratamento para a obtenção de um determinado tipo de mutante. A seleção é que deve ser dirigida para a busca do mutante procurado, de acordo com o objetivo do trabalho. Se um produtor deseja, por exemplo, um determinado tipo de coloração de flor, durante a seleção dos mutantes, a atenção deve ser dirigida prioritariamente para essa característica.

A escolha do material (órgão ou propágulo da planta) a ser tratado é de grande importância para a futura seleção de mutantes. Se a parte da planta a ser tratada for composta por várias células, como a mutação é um evento unicelular, podem ocorrer mutação em uma ou em várias células e não em outras, o que resultará na existência de uma planta quimérica, isto é, uma planta contendo tecidos com células mutadas e células não-mutadas. Nesse caso, quando sementes são tratadas, se ocorrer mutação há o quimerismo na geração  $M_1$ . Então, para se obter o mutante desejado, a seleção deve ser iniciada a partir da geração  $M_2$  na qual ocorre segregação, após a meiose nas plantas  $M_1$ .

No caso de plantas de propagação vegetativa ainda não está definido para todas as espécies o número de multiplicações vegetativas necessárias até se obter plantas mutantes estáveis, entretanto tem sido verificada a necessidade de, no mínimo, três multiplicações antes da estabilização. Como exemplo, se bulbos ou rizomas forem tratados, deve-se avançar as gerações de propagação vegetativa até que se obtenha a geração  $V_3M_1$  (três multiplicações) ou  $V_4M_1$  (quatro multiplicações), para a realização da seleção de mutantes.

Um dos métodos usados para ampliar setores quiméricos é denominado de podas repetidas, o qual consiste na realização de várias podas a partir da geração  $V_1M_1$  antes da realização da seleção. Assim, o avanço rápido das gerações de propagação vegetativa possibilita a ampliação dos setores quiméricos mutados até a sua estabilização.

Em certos casos, é possível evitar-se o quimerismo quando a planta ou nova brotação se origina de uma única célula, a partir do tecido ou da planta tratada com mutagênico. Nesse caso, se a célula sofrer mutação e por mitoses posteriores originar uma planta, todas as suas células terão o mesmo genótipo mutado. Tal situação pode ocorrer, por exemplo, se protoplastos forem tratados (Tulmann Neto et al., 1998) ou se a planta

originar-se de gemas adventícias unicelulares, como pode ocorrer em várias ornamentais (Broertjes et al., 1968).

## ALGUNS RESULTADOS OBTIDOS EM INDUÇÃO DE MUTAÇÃO EM ORNAMENTAIS

Para ilustrar o que se relatou anteriormente serão descritos alguns exemplos de resultados obtidos com indução de mutação em outros países, usando diferentes tipos de ornamentais e diversas metodologias, baseando-se nas revisões de Broertjes & Van Harten, (1978 e 1998). Mutantes de interesse foram obtidos em ornamentais propagadas por tubérculos e bulbos (*Dahlia variabilis*, *Gladiolus*, *Lilium*, *Tulipa* e etc...), flores de vaso (*Anthurium*, *Begonia*, *Saintpaulia* e etc...), folhagens (*Ficus*, *Cyperus* e etc...) e flores para corte (*Alstroemeria*, crisântemo e etc...). Deve-se dizer que a maioria dessas ornamentais é de propagação vegetativa e que, portanto, as técnicas para a indução de mutações devem ser apropriadas para essa situação.

No caso de ornamentais propagadas por bulbos e tubérculos (caso da *Dahlia variabilis*, *Gladiolus*, *Lilium* e *Tulipa*), estes apresentam meristema multicelular. Então, quando são tratados com mutagênicos, um dos problemas para a seleção de mutantes refere-se à baixa taxa de propagação obtida por meio destes bulbos ou tubérculos, o que traz dificuldades para o isolamento de setores quiméricos mutados (Broertjes & Van Harten, 1988). Por isto, para se evitar o quimerismo é importante realizar o tratamento mutagênico no momento certo ou então, se for possível, obter plantas via uso de gemas adventícias, usando métodos *in vitro* para se auxiliar o processo.

Em *Dahlia variabilis* a indução de mutação é de interesse devido a alta heterozigosidade e a presença de grande número de genes que controlam a cor de pétala, por isto uma grande variabilidade para coloração de flor já foi obtida por meio da indução de mutantes (Broertjes & Van Harten, 1988). Uma estratégia que pode ser interessante é a indução de mutantes visando a alteração de poucas características, utilizando-se como material inicial uma cultivar elite, que é o tipo de material indicado para ser tratado. Para trabalhos cujo objetivo é a alteração na coloração de flor por meio de mutagênese induzida, não se recomenda utilizar cultivares de cor branca como material inicial. Entretanto, um mutante espontâneo de coloração rosada foi relatado a partir de um cultivar com coloração branca. Em Dália, a irradiação deve ser feita logo após a colheita dos tubérculos quando as gemas que irão originar os brotos apresentam o menor desenvolvimento e ainda não estão visíveis. Em geral são tratados lotes de 50 tubérculos dormentes, com doses de 20 a 30 Gy de raios-X ou gama. Após o tratamento e plantio, algumas centenas de mudas derivadas do tratamento devem ser observadas visando-se a seleção de mutantes. Utilizando este método foram obtidos cultivares mutantes na Holanda, França e Índia, que apresentavam diferentes tipos de coloração, ampliação no período de florescimento e maior comprimento do talo. Foram observadas plantas completamente mutadas ou não mutadas, em alguns casos, metade da planta apresentava a mutação e noutros casos, apenas parte da planta era mutada, o que indica a eficiência do método. Em geral, as características mutadas são transferidas via tubérculos para a próxima geração vegetativa, mas pode haver perdas da característica mutada, se o setor mutado não tomar parte da formação do novo tubérculo. Neste caso, métodos *in vitro* podem ser usados para que evitar que o setor mutante seja perdido e para que ele se manifeste nas plantas regeneradas.

Em ornamentais comercializadas para vaso e flores de corte existem dezenas de mutantes liberados para o comércio (Broertjes & Van Harten, 1988). Para o primeiro caso, em *Saintpaulia* (violeta), por exemplo, a indução de mutação é facilitada pois existe a possibilidade de propagação *in vivo* por meio de folhas destacadas. Depois do enraizamento, tais folhas originam várias plantas novas na base do pecíolo, o interessante neste caso é que estas plantas são derivadas de uma única célula da epiderme do pecíolo e se desenvolvem por meio de gemas adventícias. Deste modo, após o tratamento com o mutagênico, mutantes sólidos (todas as camadas celulares com um único genótipo) podem ser obtidos, abreviando-se o período de seleção, que pode ser longo quando existe a ocorrência do quimerismo. Em violeta, a metodologia indicada é o tratamento mutagênico de

folhas destacadas (contendo o pecíolo) com radiação gama ou X, usando cultivares com boas características agrônômicas. As doses variam entre 30 e 60 Gy de raios-X ou gama. A seguir as folhas são postas para o enraizamento. Com o desenvolvimento de gemas adventícias na base do pecíolo, novas plantas serão formadas. Estas devem ser destacadas, plantadas e inicia-se o processo de seleção de mutantes. Utilizando-se este método, partindo-se de um cultivar de coloração de flor azul, obteve-se na Holanda a liberação de um mutante de cor púrpura. Ensaios de avaliação do mutante revelaram que apenas houve mudança na coloração da flor, mantendo-se as demais características inalteradas no cultivar original.

No caso de flores de corte tais como o cravo (*Dianthus*), um método *in vivo* bastante utilizado é o da irradiação de mudas com dose de 80 Gy de raios-gama. Deve-se fazer a proteção da base (2-3 cm) das mudas para que os efeitos fisiológicos do tratamento mutagênico não causem nenhum dano as raízes. Os mutantes são selecionados nas novas plantas obtidas a partir destas mudas irradiadas. Por este método foi obtida na Holanda uma família de seis mutantes de cores, as quais variaram de branca a vermelha, a partir do cultivar original Kortina (flor com cor púrpura).

Broertjes & Van Harten (1988) relatam que, em ornamentais, a indução de mutação pode ser usada para a obtenção de mutantes de forma ou de coloração de folhas, como variegações, por exemplo. Em vários casos (*Acalypha*, *Codiaeum*, *Coleus*, *Ficus*) cita-se que o método usado foi o de irradiação de estacas seguido da aplicação das podas repetidas com o objetivo de permitir o desenvolvimento de gemas axilares e obtenção de novos ramos para a realização de seleção. Em *Ficus benjamina*, o uso de tal método na Bélgica propiciou a liberação de um cultivar com folhas variegadas com margens branco-amareladas.

## USO DE INDUÇÃO DE MUTAÇÃO NO MELHORAMENTO DE ORNAMENTAIS NO BRASIL

Ao contrário do que ocorre em vários países, principalmente na Europa, o uso de indução de mutação em ornamentais no Brasil ainda é incipiente. O primeiro trabalho relatado no país foi realizado com crisântemo no CENA/USP em 1993. O sucesso deste trabalho incentivou os pesquisadores e produtores a continuarem trabalhos com esta cultura e o início de trabalhos em outras culturas, tais como: *Calathea*, *Stromanthe*, *Aster* e *Amaryllis*. Como se pretende incentivar e aumentar a utilização deste tipo de trabalho no Brasil, algumas considerações devem ser feitas neste sentido aproveitando-se a experiência já adquirida pela equipe do CENA/USP. nestes trabalhos e os resultados obtidos em outros países.

A semelhança do que ocorre na Europa, considera-se de fundamental importância que a pesquisa inclua uma interação contínua entre os especialistas em indução de mutação e produtores (ou pesquisadores) de ornamentais. Supondo-se que o trabalho seja feito com produtores, reuniões prévias devem ser realizadas para esclarecer bem quais são os objetivos do trabalho, para a escolha da parte da planta e o cultivar a ser tratado, o tipo de mutagênico e a dose a ser utilizada, método de multiplicação *in vivo* ou *in vitro*, os procedimentos pós-tratamento com mutagênico, a seleção e a avaliação dos mutantes. É comum que o especialista em indução de mutação esclareça ao produtor que a probabilidade de sucesso é menor se pequenas populações forem utilizadas e que, mesmo que grandes populações sejam utilizadas, apenas algumas plantas sofrerão mutações. Mas se o trabalho for realizado no campo do produtor, após a etapa de seleção dos mutantes, o produtor poderá comercializar o material não selecionado, sendo, portanto, de baixo custo experimental. Se o produtor não dispuser de grande área para os experimentos, os mesmos poderão ser sub-divididos com a realização em várias épocas durante o ano (ou vários anos), até que se atinja o objetivo almejado. Os tratamentos *in vivo* ou *in vitro*, com mutagênicos químicos ou raios-gama, são feitos no CENA/USP e o material é enviado para o produtor, que deverá seguir a metodologia proposta.

Uma vez que seja selecionado um mutante desejado, este deve ser multiplicado e deverá ser avaliado comparativamente com o cultivar original. Tal avaliação inclui ensaios

com delineamento experimental e várias repetições. O mutante deve ser avaliado de acordo com os padrões estabelecidos que o produtor utiliza para a comercialização da espécie (altura de planta, conservação pós-colheita, ciclo e etc...). Para que se tenha idéia do procedimento descrito, alguns exemplos serão citados em que tal planejamento foi realizado e os experimentos foram executados com sucesso.

Em trabalho feito com crisântemo numa colaboração entre o CENA/USP e uma empresa produtora de ornamentais de Holambra-SP, definiu-se que o objetivo seria a obtenção de mutantes de crisântemo de corte, contendo novas colorações de pétalas. Optou-se por utilizar a cultivar Repin rosa claro, utilizando-se métodos de induções de mutações *in vivo* e *in vitro* (Latado, 1993; Latado et al., 1996; Tulmann Neto & Latado, 1997). Tal cultivar foi escolhido por apresentar boas características agrônômicas, coloração propícia para a obtenção de mutantes e por ser encontrado no mercado em apenas três colorações: rosa claro, bronze e champagne.

Numa primeira etapa do trabalho utilizou-se o método *in vivo*, estacas enraizadas (contendo seis gemas axilares) foram irradiadas e para a seleção da dose foi realizado um ensaio preliminar irradiando-se plantas com doses crescentes de mutagênico. As estacas enraizadas foram levadas para estufas do produtor e 30 dias após, avaliou-se a altura e sobrevivência das plantas  $V_1M_1$ . Baseando-se na redução da altura de plantas escolheu-se a dose de 20 Gy para a continuação do trabalho. No experimento posterior, seiscentas estacas foram irradiadas com esta dose e levadas para a estufa. A irradiação foi feita visando atingir os ápices meristemáticos ou gemas axilares das plantas. Como estes órgãos são multicelulares, o esperado era a ocorrência de quimerismo. Para evitar esta situação e ampliar os setores mutados, aplicou-se nos ramos  $V_1M_1$  obtidos pelo crescimento dos meristemas irradiados, o método das podas repetidas, que consistiu na poda desses ramos para forçamento da brotação das suas gemas axilares, resultando em ramos (geração)  $V_2M_1$ . Tais ramos também foram podados até que se obtivesse as ramificações (geração)  $V_6M_1$ . Os ápices podados nas diversas gerações foram enraizados e levados ao campo para seleção de mutantes. No total, foram avaliadas 7764 plantas, obtendo-se 5,90% de mutantes de coloração e 0,18% mutantes de formato da inflorescência. Os mutantes apresentaram cores tais como: bronze, champanhe, rosa escuro, creme, branco, amarelo e outras. O produtor mostrou interesse em apenas alguns tipos de coloração (creme, rosa escuro e branco) e assim, estes mutantes foram multiplicados vegetativamente.

A seguir, realizou-se um experimento de competição dos mutantes com o cultivar original. Por este experimento concluiu-se que as características básicas do cultivar original foram mantidas e o produtor decidiu-se pela comercialização do mutante de cor rosa escuro (denominado Ingrid) e de cor branca (denominado Cristiane). Estes dois mutantes foram comercializados com sucesso durante um período indeterminado de tempo.

Num experimento adicional, utilizou-se um método de induções de mutações *in vitro*. Neste, pedicelos florais foram destacados de botões florais imaturos e, a seguir, irradiados. Assim como no experimento *in vivo*, houve a necessidade de determinar a melhor dose de mutagênico a ser utilizada. Após a seleção da dose de raios-gama (8 Gy), seiscentos e noventa pedicelos florais imaturos foram irradiados e cultivados *in vitro* no CENA/USP, em meio apropriado para a regeneração das plantas. Após o cultivo *in vitro* e a aclimatização das plantas ao meio ambiente, as mesmas foram levadas para o campo do produtor para serem avaliadas durante o florescimento. Como resultados foram selecionados 6,52% de mutantes de coloração e 0,14% de mutantes de formato da inflorescência. Todos com coloração única. A diferença básica deste método *in vitro*, em comparação com o método *in vivo* é que as plantas regeneradas *in vitro* a partir de pedicelos, originam-se de apenas uma única célula da epiderme. Deste modo, assim como seria esperado, somente foram obtidos mutantes sólidos (com apenas uma coloração), dispensando-se o método das podas repetidas.

O trabalho com crisântemo teve continuidade, com a realização de novos experimentos, passando-se a utilizar como material inicial plantas do mutante denominado Ingrid (cor rosa escuro). Optou-se pelo uso de dois métodos, que consistiram na irradiação de plantas jovens (método *in vivo*) e uso do mutagênico químico metanossulfonato de etila

(EMS), para tratamento de pedicelos (método *in vitro*). Com a irradiação de mudas *in vivo* foram selecionados vários tipos de mutantes de coloração. Dentre eles, quatro mutantes (os de cor vinho, chá-rosa, bronze escuro e variegado) foram avaliados em experimento comparativo com o cultivar controle e despertaram o interesse do produtor para a sua comercialização (Adames, 1998).

É importante ressaltar que o tratamento mutagênico de um clone mutante pode dar origem a uma família de mutantes de interesse comercial, assim como já foi relatado em trabalhos em outros países (Broertjes et al., 1980). No presente caso, a irradiação do mutante de cor rosa escuro, obtido a partir do cultivar original de cor rosa claro, propiciou a obtenção de um mutante de cor bronze escuro, distinto do que era anteriormente cultivado e assim sucessivamente. Esta estratégia pode dar bons resultados e propiciar ao produtor, uma série de novos cultivares que apenas ele dispõe no mercado.

O experimento de indução de mutações com mutagênico químico EMS iniciou-se com um teste preliminar de sensibilidade dos pedicelos ao mutagênico. Neste selecionou-se a concentração de EMS e o tempo de tratamento (0,075M, 1 hora e 45 minutos de tratamento) a ser realizado. As fases seguintes foram: o tratamento mutagênico de um maior número de pedicelos, regeneração de plantas *in vitro*, aclimatização das plantas ao meio ambiente, plantio no campo e seleção de plantas mutantes no florescimento. Como resultado obteve-se vários mutantes para coloração. Neste caso também, a maioria dos mutantes apresentou uma única coloração, indicando que a origem das gemas adventícias de crisântemo *in vitro*, se dá a partir de uma ou poucas células da epiderme (Adames, 1998).

Trabalhos mais recentes incluíram crisântemo de vaso e a cooperação da Empresa Dekker de Wit Ltda de Mogi Guaçu-SP (Boersen, 2003; Tulmann Neto et al., 2005; Boersen et al., 2007). Neste caso a estratégia foi a irradiação de estacas não enraizadas (comprimento de 4,5 cm e com 4 a 5 folhas) da cultivar Cherry Dark, que possui pétalas com cor rosa clara. Devido a limitações na área disponível na casa de vegetação, o trabalho foi realizado em sete épocas (sete experimentos). Em cada experimento as estacas foram irradiadas no CENA/USP com várias doses de raios-gama e, a seguir, eram levadas à estufa do produtor, para proceder ao enraizamento. Após, as mudas irradiadas foram plantadas em vasos, adotando-se os procedimentos usuais para a indução de florescimento, tais como realização da eliminação da gema apical (“pinche”), adubações, tratamentos fitossanitários e etc... Em tais plantas foram realizadas medições de altura, sobrevivência e seleção de mutantes morfológicos e de coloração. Um grande número de mutantes de coloração foi obtido, incluindo-se de cor vermelha, a qual não era encontrada na família Cherry. Como seria esperado, no controle sem irradiação não foram encontrados mutantes.

Os mutantes de interesse foram multiplicados e levados para os ensaios de produção. Nestes pôde-se concluir que nenhum dos mutantes apresentava todas as características necessárias a sua liberação para plantio comercial. Apesar disto, a pesquisa serviu para consolidar a metodologia que pode ser aplicada para indução de mutação em crisântemo de vaso. Verificou-se que a dose de raios-gama que causou redução de crescimento de 50% (GR<sub>50</sub>) nas plantas V<sub>1</sub>M<sub>1</sub> foi de 18,17 Gy e que se o objetivo for indução de mutação para coloração de inflorescências, doses ao redor ou menores que a GR<sub>50</sub> devem ser as recomendadas. Essas doses, além de propiciarem elevadas freqüências de mutações e ampla variação nos diferentes tipos de colorações de inflorescência, resultaram em alta % de mutantes periclinais, isto é, com todas as inflorescências mutadas de uma mesma coloração. No entanto, se o objetivo é conseguir induzir mutantes morfológicos (tamanho e número de pétalas), as doses devem ser maiores do que a GR<sub>50</sub>.

Nestes trabalhos com crisântemo realizados no Brasil ficou constatada a importância da escolha correta do material inicial para o sucesso do programa de melhoramento, principalmente da coloração da inflorescência deste, quando o objetivo for a indução de mutantes de coloração. De fato, Latado & Tulmann Neto (1998), trabalhando com cultivar de cor branca de crisântemo, conseguiram apenas mutantes de cor amarela. Em sua revisão, Schum & Preil (1998) apresentam uma boa discussão sobre este assunto.



Noutra pesquisa, contando com a colaboração de uma empresa de Rio Claro, foram realizados trabalhos visando-se a obtenção de mutantes na folhagem de *Stromanthe* e *Calathea* (Tulmann Neto & Latado, 1996; Latado & Tulmann Neto, 1996). O planejamento utilizado foi o mesmo para o caso do crisântemo. Nestas ornamentais propagadas por rizomas, após a seleção da dose (25 e 30 Gy para *Calathea* e 30 e 40 Gy para *Stromanthe*), rizomas foram irradiados no CENA/USP e enviados ao produtor. O ápice meristemático das plantas foi podado para induzir a brotação lateral, ampliar os possíveis setores mutados e produzir novas mudas, que correspondem às gerações  $V_2M_1$ ,  $V_3M_1$  e etc... Após a seleção de mutantes contendo padrões de colorações de folhagens distintos das cultivares originais, tais mutantes foram multiplicados para observação da manutenção da estabilidade da cor mutada. Após estes testes, o produtor se interessou para possível comercialização e iniciou a multiplicação de um mutante de *Calathea* contendo folha variegada e um mutante de *Stromanthe* com a nervura central mais larga, com coloração cinza.

Realizou-se também um trabalho com outra espécie ornamental, o *Aster sp.*, visando-se a obtenção de mutantes com novas colorações em cultivares com boas características agrônômicas. Tal pesquisa envolveu duas empresas privadas, ambas situadas em Holambra - SP. Este projeto se constituiu num outro exemplo de interação da pesquisa com o setor produtivo. Plantas *in vitro* de *Aster sp.* foram enviadas ao CENA/USP para irradiação. A seguir, na empresa foram feitas várias multiplicações *in vitro* das plantas objetivando o avanço das gerações ( $V_2M_1$ ,  $V_3M_1$ ). Após a aclimatização ao meio ambiente, as plantas foram enviadas ao campo de produção para proceder à seleção de mutantes. Alguns mutantes com alteração na coloração de pétala e outros, com maior número de pétalas, foram obtidos.

Como já descrito acima no exemplo de trabalho com crisântemo, em ornamentais trabalhos de associação de cultura de tecidos com indução de mutação podem ser de interesse. Em *Heliconia bihai*, Rodrigues et al. (2005) determinaram que a dose a ser utilizada para indução de mutação *in vitro* se situa entre 30 e 40 Gy de raios-gama. O primeiro autor relata (Rodrigues, comunicação pessoal, 2007) que utilizando raios-gama e avançando quatro gerações *in vitro*, obteve em *Heliconia* mutantes com florescimento mais precoce e de porte menor. Diante disto a metodologia será utilizada para a obtenção dos mesmos tipos de mutantes em *Heliconia bihai* cv. chocolate.

Uma questão adicional é que trabalhos de mutagênese induzida envolvendo a cultura de tecidos podem propiciar uma fonte de variabilidade genética adicional, devido a possibilidade da ocorrência de variação somaclonal, por causa da cultura de tecidos. No Brasil já existem algumas referências sobre o assunto, como por exemplo: o trabalho de abacaxi ornamental (Rodrigues et al., 2007) e na revisão de Schum & Preil (1998) em que os autores citam alguns exemplos de novas cultivares de ornamentais, obtidas por meio da variação somaclonal e já liberadas para cultivo comercial.

Em certos casos, todo o procedimento (indução, seleção, multiplicação) pode ser realizado *in vitro*. Como exemplo pode-se citar um trabalho iniciado com a PROCLONE, envolvendo a mini-rosa, variedade que é comercializada em tubos de ensaio. A cultivar em questão apresenta cor vermelha e plantas *in vitro* foram irradiadas com várias doses de raios-gama, objetivando-se a seleção, a ser realizada também *in vitro*, de mutantes de outra coloração. Uma vez obtido o mutante, gemas axilares podem ser retiradas dessas plantas e multiplicadas *in vitro*. Evidentemente que este é um caso extremo pois, em geral, a cultura de tecidos é utilizada em uma ou poucas fases experimentais, tais como: para o avanço de geração após o tratamento mutagênico ou para a seleção *in vitro*.

Recentemente um outro projeto de pesquisa foi iniciado em que se visa a indução de mutantes em *Amaryllis sp.* e *Gladiolus*, em colaboração com outra empresa de Holambra - SP e a UNESP, Ilha Solteira-SP. Tais ornamentais são propagadas por bulbos e sendo assim, para a obtenção de mutantes estáveis será necessário após a irradiação dos bulbos, avançar as gerações de propagação vegetativa. Para *Amaryllis*, um dos métodos que se pretende usar será semelhante ao descrito por Broertjes & Van Harten (1988), na Holanda, que relataram que os melhores resultados foram obtidos com a irradiação de bulbos, seguido da multiplicação vegetativa pelo método de corte desses bulbos em escamas e

germinação em substrato apropriado. Plantas serão obtidas a partir das escamas e estas serão conduzidas até o florescimento, período apropriado para a seleção de mutantes. Uma outra possibilidade seria a irradiação de bulbos, plantio e obtenção de novos bulbos a partir desses, para permitir uma ampliação de possíveis setores mutados. Neste caso, experimentos preliminares já indicaram que a dose a ser utilizada em bulbos pequenos (de primeiro ciclo) estaria ao redor de 8,0 Gy de raios-gama (Pereira et al., 2007).

## CONCLUSÕES

Como ocorreu em outros países, também no Brasil verifica-se um aumento da importância das ornamentais. As ornamentais, por uma série de razões, apresentam certas dificuldades na aplicação dos chamados métodos tradicionais de melhoramento. Por outro lado, em vários países, por meio de mutações induzidas têm sido liberadas centenas de novos cultivares envolvendo distintos tipos de ornamentais.

No Brasil, ainda é reduzido o número de trabalhos envolvendo os chamados métodos tradicionais de melhoramento de plantas ornamentais assim como reduzidos também são os trabalhos envolvendo indução de mutações.

O Laboratório de Melhoramento de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), por meio de financiamentos obtidos da FAPESP e com a colaboração de produtores, tem obtido sucessos em trabalhos com indução de mutações *in vivo* e *in vitro*, envolvendo plantas ornamentais. Em 1999, com auxílio da FAPESP, o Laboratório de Melhoramento de Plantas do CENA/USP adquiriu um novo irradiador de raios-gama, que tem tido grande utilidade nestes trabalhos. Este equipamento tem sido colocado à disposição, sem nenhum ônus, para os pesquisadores, produtores e instituições públicas ou privadas de vários Estados Brasileiros. Portanto, espera-se que haja no Brasil uma utilização mais intensa das facilidades existentes nesta área e que um maior número de projetos de pesquisa sejam iniciados visando a indução de mutações em ornamentais, quer seja para a ampliação da variabilidade genética ou para a obtenção de novas cultivares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMES, A. H. **Metodologia in vivo e in vitro na mutagênese de crisântemo com o uso de raios-gama e metanossulfonato de etila (EMS) visando o melhoramento.** 1998. 129f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1998.
- BOERSEN, M.A.; SANTOS, P.C. **Indução de mutação por raios-gama a partir de mudas de crisântemo de vaso visando-se a obtenção de novas cultivares.** 2003. 152f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2003.
- BOERSEN, M.A.; TULMANN NETO, A.; LATADO, R. R.; SANTOS, P.C. Efeitos de doses de raios-gama na obtenção de mutantes de coloração de inflorescência de crisântemo (*Dendranthema grandiflorum*). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental.** v.12, n. 2, p.126-123, 2007.
- BROERTJES, C.; HACCIUS, B.; WEIDLICH, S. Adventitious bud formation on isolated leaves and its significance for mutation breeding. **Euphytica**, Wageningen, v.17, p.321-44, 1968.
- BROERTJES, C.; VAN HARTEN, A. M. **Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops; an interpretative literature review.** New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. 316p.

BROERTJES, C.; KOENE, P.; VAN VEEN, J. W. H. A mutant of a mutant. Irradiation of progressive radiation-induced mutants in a mutation breeding programme with *Chrysanthemum morifolium* Ram. **Euphytica**, Wageningen, v.29, n.3, p.525-30, 1980.

BROERTJES, C.; VAN HARTEN, A. M. **Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops**. New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1988. 313p.

FLORA BRASILIS. **Relatório do diagnóstico da produção de flores e plantas ornamentais**. Campinas: IBRAFLORES/APEX, 2002.CD-Rom

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Manual on mutation breeding**. 2.ed. Vienna: IAEA, 1995. 288p.

KAMPF, A. N. A floricultura brasileira em números. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.2, p.1-7, 1997.

LATADO, R. R. **Indução e uso de mutações *in vivo* e *in vitro* no melhoramento do *Chrysanthemum morifolium* Ram.** 1993. 103f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1993.

LATADO, R. R.; TULMANN NETO, A. Use of gamma rays in mutation breeding of *Calathea louisae* cv Albertii. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.19, n.3, p.197, 1996. Suplemento. /Apresentado ao 42. Congresso Nacional de Genética, Caxambu, 1996 – Resumo/

LATADO, R. R.; TULMANN NETO, A.; MENDES, B. M. J. Melhoramento de crisântemo CV Repin Rosa através de indução de mutação *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.10, p.743-52, 1996.

LATADO, R. R.; TULMANN NETO, A. Use of gamma-rays to induce color mutations in chrysanthemum cv. White Tinsel. **Multiciência**, São Carlos, v. 3, n.1, p.142-7, 1998.

MALUSZYNSKI, M.; VAN ZANTEN, L.; ASHRI, A.; BRUNNER, H.; AHLOOWALIA, B.; ZAPATA, F. J.; WECK, E. Mutation techniques in plant breeding. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Induced mutation and molecular techniques for crop improvement**. Vienna: IAEA, 1995. p. 489-504.

MALUSZYNSKI, M.; NICHTERLEIN, L.; VAN ZANTEN, L.; AHLOOWALIA, B. Officially released mutant varieties –The FAO/IAEA database. **Mutation Breeding Review**, Vienna, v.12, 2000. 84p.

RODRIGUES, P.H.V.R.; TULMANN NETO; DUTRA, M.F.B. Gamma Radiation LD50 determination in *Heliconia bihai* (Heloconiaceae) explants. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. v.11, n.1, p.78-81, 2005.

RODRIGUES, P.H.V.R.; DUTRA, M.F.B.; FARIA, O. A.; LIMA, A.M.P. Variação somaclonal em mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental, *Ananas bracteus* Schultes var. *striata* (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. v.12, n.2, p.122-125, 2007.

SCHUM, A.; PREIL, W. Induced mutation in ornamental plants. In MOHAN JAIN, S.; BRAR, D.S.; AHLOOWALIA, B. (Eds.). **Somaclonal variation and induced mutations for crop improvement**. Kluwer Academic Publishers, 1998, p.333-366.

TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; MENDES, B. M. J. Ampliação da variabilidade genética em algumas frutíferas através da indução de mutação. In: 1., SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE ESPÉCIES HORTÍCOLAS, Campinas, 1989. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1990. p.148-67.

TULMANN NETO, A.; LATADO, R. R. Mutation breeding in *Stromantha sanguinea* by gamma radiation. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.19, n.3, p.197, 1996. Suplemento. /Apresentado ao 42. Congresso Nacional de Genética, Caxambu, 1996 – Resumo/

TULMANN NETO, A.; LATADO, R. R. Indução de mutação *in vivo* no melhoramento de crisântemo CV. Repin Rosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.11, p.1153-1158, 1997.

TULMANN NETO, A.; MENDES, B. M. J.; ANDO, A. Progressos e uso de mutações *in vitro*. In: TORRES, A. C.; CALDAS, S. L.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação**, 1998, p.459-506.

TULMANN NETO, A.; BOERSEN, M.A.; LATADO, R. R.; SANTOS, P.C. Efeitos de doses de raios-gama na obtenção de mutantes de coloração e morfológicos na inflorescência de crisântemo de vaso (*Dendranthema grandiflorum*). 3., Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, **Anais...** Gramado, 2005.

PALAVRAS CHAVE:

Ornamentais, melhoramento, indução de mutação

## **Optimizing and retaining product quality in the supply chain: for whom and who profits?**

Kooten, Olaf van<sup>1</sup>; Schepers, Hans<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Chair of Horticultural Production Chains group, Wageningen University, Marijkeweg 22, NL-6709 PG Wageningen, The Netherlands, email: [olaf.vankooten@wur.nl](mailto:olaf.vankooten@wur.nl)

### 1.1 INTRODUCTION

Present day retail groups are demanding extremely high quality and safety measures from their suppliers. The large retail chain called Tesco's in the UK recently demanded a logistic performance from its suppliers of 99.8% as a minimum! The main retail chain of the Netherlands has demanded that its fruit and vegetable supplier will source globally for all its products resulting in great difficulties when it comes down to maintaining the residue levels of agrochemicals within acceptable limits. It is evident that a production and supply chain consisting of different companies operating on the spot market cannot meet these requirements. A recent change in the policy of the German government, making the tests for residue levels of agro-chemicals in fruits and vegetables public, resulted in a switch in policy of discount retail groups like Aldi and Lidl to stop buying their fruits and vegetables on the spot market and start sourcing from preferred suppliers through contracts. This allows for the build up of steady supply chains that can cope with the high demands on safety, logistics and quality. These chains need to innovate to cut costs and to speed up their processes in order to maintain their competitive edge. However through the close intermingling of the vertical chain partners it is not evident any more that when one invests in an innovation the profit of that investment can also be reaped by the investing party. Very often an investment in one part of the chain results in a profit in another part of the chain. A good example is the drive towards a longer shelf life of fresh products. Through investments in breeding this has led to an increase of shelf life of many fresh products. However the breeders got their profit through a competitive advantage, the growers got no profit, but the traders reaped the main profit through enhancement of their ability to speculate on the spot market. This can work as an inhibitory effect on the drive to innovate. It is therefore adamant that innovations in such complex interdependent vertical production and supply chains are set up in a strategic context. Chain partners should develop innovation strategies together and discuss the possible profits and costs in advance in order to negotiate the division of costs and benefits to create a win-win situation for all participants. This necessitates a means to predict possible profit and cost distributions among the participants across the entire supply chain. Therefore it is necessary to predict dynamic consumer responses in relation to product performance in the market. Here we need to interface consumer science with product physiology, both on a product level as well as on a batch level.

### 1.2 THE CONSUMER MODEL

A simple dynamic model for consumer behavior is devised through ordinary differential equations. This model takes the total population of consumers and divides them up in three groups: the non-users (N), the low-users (L) and the high-users (N). Through 'promotions' in retail stores the non-users can be enticed to try out the product and thereby become low-users. The low-users can fall back to non-users if they don't particularly like the product. However if the product quality is of such that the consumer likes it, it will induce the low-users to become high-users and start to repeatedly buy the product. If the product doesn't change over a longer period then the high-users start to get fed up with it and fall back into low-users. This model is depicted in fig. 1.

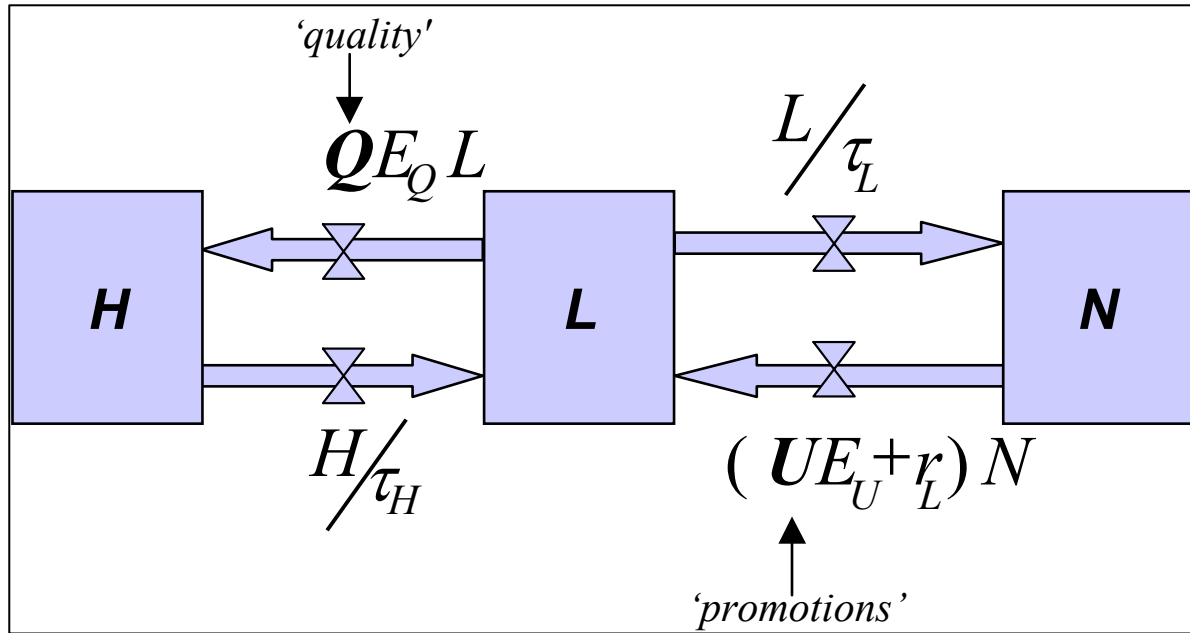


Figure 1. Consumer dynamic model for the transition of non-users (N) into low-users (L) and the transition of low-users into high-users (H). The parameters  $\tau_H$ ,  $\tau_L$ ,  $QE_Q$ ,  $UE_U$  and  $r_L$  have not been experimentally determined and are estimated for the purpose of this story.

This model leads to the following differential equations:

$$N(t) = Z - L(t) - H(t)$$

$$\frac{dL}{dt} = -(QE_Q L - H/\tau_H) + (UE_U + r_L)N - L/\tau_L$$

$$\frac{dH}{dt} = QE_Q L - H/\tau_H$$

Where Z is the total population of consumers and N(t), L(t) and H(t) are the time dependent populations of non-, low- and high-users respectively. These coupled ordinary differential equations can be solved and for steady state situations the following solution can be found:

$$\frac{L}{Z} = \frac{1}{1 + [(r_L + UE_U)\tau_L]^{-1} + QE_Q\tau_H}$$

From this formula the different populations can be calculated depending on the product properties and the ways of marketing the product.

### 1.3 THE PRODUCT MODEL

When products like fruits or vegetables are harvested they are collected in a batch. As the new Food Law of the EU demands all products should be traceable to their source within 24 hours. This means all products should stay in batches from the source till the point of sale to the consumer, unless other means of traceability are created. However at present the method of keeping the product in batches until the moment of packaging on the consumer level is more or less standard practice. The advantage of this is that the products within the batch have a uniform climate and management treatment, while they are all of the same cultivar. This implies that the variation in quality related attributes solely comes from age differences between the individual products, caused by differing rates of maturation within the crop. We have shown that the distribution of maturity (age) within a batch after harvest is uniform, i.e. Gaussian, and that it's the median  $\mu$  moves with time but it's variance  $\sigma$  does not change at constant temperature. This means that when the distribution in age or 'ripeness' is determined, its development over time can be predicted. Through consumer research the period of acceptability of the product can be determined, given as the 'Liking' curve in fig. 2.

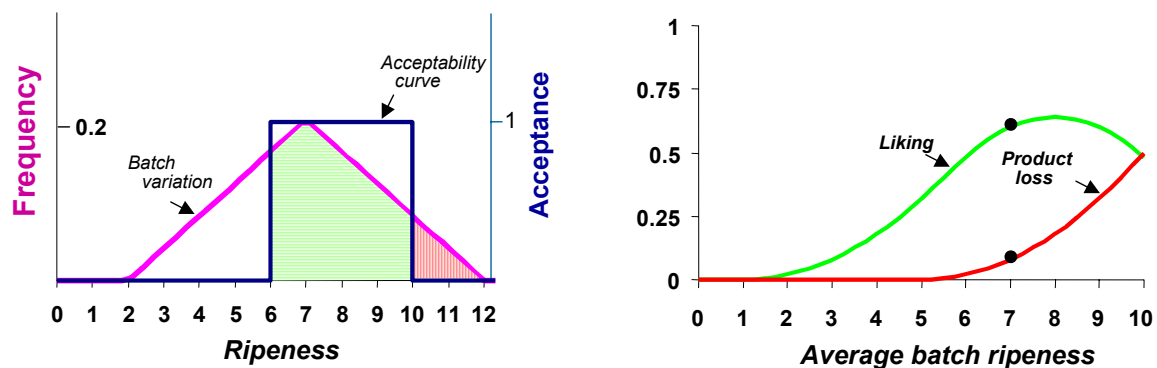


Figure 2. On the left the frequency distribution of a batch of products is given in the ripeness of the individual products. The acceptability curve shows which ripeness are acceptable for the consumer. If the variance is large then there will always be a part of the batch that is unripe and a part that will be overripe. When the median of the batch moves through time the acceptance of the batch by the consumer rises on a 'Liking' curve (right figure), however at a certain point in time part of the batch will become overripe and the product loss curve will start to rise. It is always possible to define an economic optimum given by the dots.

For example with tomatoes and for cucumbers we have determined such a model<sup>1</sup> and we have developed partial models for strawberries, apples and cherries. We can now use these models for strategic evaluation of different aspects of the innovations for food safety and quality in fruits and vegetables.

### CONCLUSION

It is now possible to combine product properties, e.g. safety or quality, with consumer preferences to optimize the production and supply chain in such a way that it is clear who profits from these innovations. This allows strategic chain partners to negotiate the differentiation of the return on investments based on the expected distribution of profit among these partners.

<sup>1</sup> Schouten, R.E., Jongbloed, G., Tijskens, L.M.M., van Kooten, O., 2004. Batch variability and cultivar keeping quality of cucumber. *Postharvest Biol. Technol.* 32, 299-310.

Rob E. Schouten, T.P.M. Huijben, L.M.M. Tijskens and Olaf van Kooten. 2007 Modelling the acceptance period of truss tomato batches. *Postharvest Biol. Technol.* In press

## **Geração e transferência de biotecnologias para a cadeia produtiva de plantas frutíferas e ornamentais.**

Zaffari, Gilmar Roberto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), Estação Experimental de Itajaí, CP 277, CEP 88.301-970, Itajaí, SC, Brasil – Professor da Universidade do Vale do Itajaí, (UNIVALI), CTTMar, CP 360, CEP 88.302-202, Itajaí, SC, Brasil; E-mail: [gzaffari@epagri.sc.gov.br](mailto:gzaffari@epagri.sc.gov.br)

A Biotecnologia pode ser definida como o conjunto de conhecimentos, técnicas e métodos de base científica ou prática, que permite a utilização de seres vivos, ou de suas partes funcionantes, no processo de produção industrial e de bens e serviços (JONAS, 1994).

A biotecnologia pode ser classificada como uma síntese das ciências fundamentais constituídas pela Biologia, Química e a Engenharia.

A área de Biotecnologia Vegetal tem contribuído muito em duas grandes sub-áreas: a de Biologia Celular e Molecular e a de Cultura de Tecidos de Plantas.

O desenvolvimento de sistemas eficientes de propagação massal de plantas pode ser baseado nos modelos da oferta e da demanda de geração e transferência de biotecnologias.

### Modelo da oferta (espontâneo):

- quando o pesquisador (ou empresa pública ou privada) oferta tecnologias a partir da sua análise / interpretação da realidade do setor.

### Modelo da demanda (induzido):

- quando o pesquisador participa, conhece e interage com o setor discutindo as demandas e ou quando o produtor/cliente diz que produto precisa.

O modelo onde o pesquisador formula e gera novos conhecimentos e biotecnologias a partir de percepções da análise da realidade local, regional e nacional da cadeia produtiva de determinado produto, nem sempre alcança o resultado desejado. Por outro lado, quando a busca por conhecimentos e biotecnologias tem origem dentro da cadeia produtiva e é compartilhado com pesquisadores de instituições públicas e/ou privadas, geralmente o resultado é a aplicação imediata.

Dois modelos de geração e transferência de biotecnologia foram vivenciados dentro de uma instituição pública – a Epagri. O modelo **da oferta** desenvolveu-se a partir de 1991, na área da Fruticultura/bananicultura. A produção de mudas de bananeira era realizada por meio da propagação vegetativa a campo por meio de rizomas; mudas do tipo pedaço de rizoma, chifrinho e chifre. Este método exigia área para a manutenção e crescimento das matrizes, mão-de-obra intensiva, tempo demasiado e tratamento fitossanitário, e as mudas ainda poderiam apresentar pragas como nematóides e broca. A produção não ultrapassava 30 mil mudas. Além disso, a empresa tinha necessidade de aumentar a captação de recursos financeiros para subsidiar as pesquisas do Projeto de Fruticultura Tropical e da Estação Experimental de Itajaí/Epagri. Desta forma, os trabalhos iniciaram-se regidos pela visão unilateral “da oferta” dos pesquisadores da área, que detinham o conhecimento teórico-prático da produção “in vitro”.

No caso da Floricultura o processo ocorreu de forma inversa, caracterizando o segundo modelo **da demanda**. Em 2001, produtores de flores e plantas ornamentais, organizados numa associação estadual – APROESC – solicitaram através do CEDERURAL/Câmara Setorial de Flores e Plantas Ornamentais da Secretaria de Estado da Agricultura e Desenvolvimento Rural de Santa Catarina, que a Epagri participasse das reuniões com os produtores e a partir das demandas do setor designasse técnicos e pesquisadores para atuar na área afim. Depois de algumas reuniões com os produtores, visitas as áreas de produção e participações em eventos



da área (exposições, feiras, seminários e congressos) iniciamos os trabalhos de geração e transferência de biotecnologias para a cadeia produtiva da Floricultura.

Os modelos de oferta e demanda de geração e transferência de biotecnologias vivenciados na Epagri foram baseados nas seguintes premissas:

1. Geração de biotecnologias: origem da demanda; desenvolvimento da pesquisa, resultado da pesquisa, validação dos resultados;
2. Transferência de biotecnologias: visão do pesquisador; difusão do resultado; validação do resultado;
3. Adoção da biotecnologia gerada e transferida para o setor (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição das fases da Geração e Transferência de Biotecnologias a partir dos modelos de oferta e demanda.

<b>Fases da Geração e Transferência de Biotecnologia</b>	<b>Modelo da Oferta (Espontâneo)</b>	<b>Modelo da demanda (Induzido)</b>
<b>1. Geração</b>		
Origem da demanda de pesquisa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- condicionada pelos propósitos e valores vigentes nas organizações a que estão vinculados os pesquisadores;</li> <li>- fundamentada no conhecimento teórico e na experiência dos pesquisadores em Instituições de Pesquisa e Universidades;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- condicionada pelas necessidades e desejos do produtor/cliente;</li> <li>- fundamentada no conhecimento prático da realidade do setor, da cadeia produtiva e do mercado por parte do produtor/cliente;</li> </ul>
Desenvolvimento da pesquisa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- depende da motivação do pesquisador;</li> <li>- depende da infraestrutura física e de recursos humanos e financeiros;</li> <li>- disponibilidade de conhecimento científico e tecnológico;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- depende das necessidades do produtor/cliente em resolver problemas ou aprimorar o produto;</li> <li>- acompanhamento e interação do produtor com o pesquisador;</li> <li>- depende da infraestrutura física e de recursos humanos e financeiros, o que muitas vezes conta com o subsídio do produtor;</li> <li>- disponibilidade de conhecimento científico e tecnológico;</li> </ul>
Resultado da pesquisa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- confirma ou não a hipótese da pesquisa;</li> <li>- fatores que contribuíram para o sucesso ou insucesso da pesquisa;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- se a biotecnologia /produto definitivo é possível de se obter;</li> <li>- qual o custo da tecnologia /produto;</li> <li>- vantagens e características específicas da tecnologia/produto;</li> </ul>
Validação do resultado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ensaios na instituição ou propriedade do produtor;</li> <li>- aceitação ou confirmação por outros pesquisadores e técnicos de outras instituições;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- qualidade final do produto;</li> <li>- produção em larga escala e em curto período de tempo;</li> <li>- vantagens da tecnologia/produto em relação ao sistema convencional;</li> <li>- modificações compatíveis no processo produtivo;</li> </ul>

## 2. Transferência

Visão do pesquisador	- comunicar o resultado da pesquisa em eventos científicos, acadêmicos e aos produtores;	- comunicar os resultados parciais da pesquisa ao produtor; - comunicar o resultado final da pesquisa ao produtor/cliente;
Difusão do resultado	- apresentar em congressos e publicar em revista científica; - comunicar em reuniões técnicas dentro e fora da Instituição; - dia de campo com o produtor;	- contato permanente com o produtor/cliente de forma pessoal e via as organizações; - utilização da biotecnologia/produto pelo produtor no sistema convencional; - dia de campo com os produtores interessados; - apresentar em congressos e publicar em revista científica; - comunicar em reuniões técnicas dentro e fora da Instituição; - dia de campo com o produtor;
Validação do resultado	- pesquisa de opinião sobre o nível de adoção;	- fazer ajustes na biotecnologia/produto; - avaliar custo/benefício da biotecnologia; - adoção plena pelo produtor; - aceitação do produto pelo mercado; - repasse do conhecimento teórico e/ou tecnológico da geração da biotecnologia a outras instituições e laboratórios;

## 3. Adoção da biotecnologia

Adoção da biotecnologia	- pesquisa qualitativa e quantitativa para avaliar o nível de adoção; - discussão entre os pesquisadores e técnicos da Instituição e da cadeia produtiva;	- utilização imediata da biotecnologia/produto no processo produtivo; - modificações no processo produtivo em função da biotecnologia; - nível de satisfação do produtor;
-------------------------	--	---

---

Segundo Byerlee & Collinson (1980) as tecnologias geradas pela pesquisa agropecuária só trazem benefícios à sociedade a partir do momento em que são adotadas pelo produtor.

Uma instituição de pesquisa agropecuária e extensão rural, à semelhança de qualquer indústria, tem como metas, criar produtos e ou serviços para os seus clientes. Para definir o que pesquisar, é necessário realizar uma “pesquisa de mercado” e, para que o produto gerado seja aceito (adotado), é mister que se conheça profundamente o sistema que se pretende beneficiar e se faça o produto à **conveniência do seu consumidor**.

A decisão de adoção de uma tecnologia gerada, mesmo que resolva problemas, depende de muitos fatores, como por exemplo: políticas macroeconômicas, necessidades de

investimentos, risco da atividade, expectativas de preços futuros e objetivos familiares (nas unidades familiares de produção os objetivos familiares e empresariais se confundem).

Peixoto et al. (2002), constataram que, normalmente, as demandas tecnológicas são definidas a partir de uma construção social da realidade, permeada por uma concepção das possíveis mudanças que as tecnologias podem acarretar no sistema produtivo e nas relações sociais, sendo tal construção elaborada em conformidade com os interesses dos grupos que ocupam posições hegemônicas. Consideram ainda, que o modo como os agentes institucionais, encarregados da execução dos serviços de extensão e de pesquisa, compreendem a realidade, objeto do estudo, e o papel que devem desempenhar para sua transformação, encontra-se condicionada pelos propósitos e valores vigentes nas organizações a que estão vinculados.

Afirmam que, tradicionalmente, a definição dos problemas de pesquisa está fundamentada no conhecimento técnico dos pesquisadores e em sua experiência com atividades desenvolvidas em estações experimentais. Neste modelo, os objetivos são suficientemente alcançados quando se estuda o sistema agrícola relativo à agricultura patronal, no entanto, tal fato não se observa, com relação à agricultura familiar, organizada, de modo geral, a partir de severas limitações, tais como: baixa disponibilidade de capital, pequenas áreas ocupadas, baixo nível de escolaridade, entre outros.

Em relação aos serviços públicos de geração e transferência de biotecnologias, somente a clara identificação das demandas pode assegurar as condições necessárias à geração e transferência de tecnologias que correspondem às reais necessidades do produtor/cliente.

Ramalho & Contini (1987), analisaram, sob o ponto de vista teórico, os principais aspectos relativos ao mercado de tecnologias agropecuárias. Identificaram como fatores determinantes da oferta de tecnologias: a) os objetivos da sociedade; b) as motivações dos pesquisadores; c) a infraestrutura de pesquisa (física, de recursos humanos e financeiros); d) a disponibilidade de conhecimentos científicos e de tecnologias; e) a concorrência organizacional e interpessoal. Do lado da demanda foram identificados como principais fatores: a) o desejo de lucro; b) o nível do capital do agricultor; c) o custo de oportunidade das novas tecnologias; d) a capacidade administrativa do agropecuarista; e) as pressões dos grupos de agricultores, consumidores e da agroindústria; f) as condições edafoclimáticas; g) a política governamental.

Muniz & Neves (1998) discutiram a hipótese relacionada ao hiato existente entre o sistema de C&T e as necessidades tecnológicas locais dos produtores rurais. Declararam que, enquanto os pesquisadores são determinados por um sistema de C&T, os produtores rurais tem, na “experiência vivida”, um sistema determinante diferenciado. Concluíram que os produtores rurais são incapazes de introduzir as inovações tecnológicas e o sistema de C&T não tem oferecido alternativas para mudar a situação, pois ele se fundamenta na universalidade dos princípios e não na localidade das restrições socioeconômicas.

A produção massal de mudas micropropagadas, na área da fruticultura e da floricultura, independentemente dos modelos de geração e transferência de biotecnologias adotados, têm provocado muitas discussões internas na Instituição. Muitos pesquisadores, técnicos e administradores pensam e afirmam que as demandas de grupos de produtores podem desviar a missão da Epagri, de atender o pequeno produtor rural. Outros afirmam que somente a pesquisa com origem no cliente consolidado trará inovação e tecnologia e o consequente desenvolvimento da cadeia produtiva. O tema é bastante polêmico, porém cabe salientar que nossa missão como empresa pública é a busca por sistemas de produção mais eficientes, ambientalmente seguros e socioeconômica e culturalmente aceitáveis, isto é, biotecnologias que contribuam para o desenvolvimento sustentável.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BYERLEE, D.; COLLINSON, M. (Eds.). **Planning technologies appropriate to farmers: concepts and procedures**. Economic Program, México: CIMMYT(Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo): 1980.71p.

JONAS, R. O que é biotecnologia? In: VIEIRA, P.F.; GUERRA, M.P. (Org.). **Biodiversidade, biotecnologias e ecodesenvolvimento**. Florianópolis: UFSC, 1995. p.53-60.

MUNIZ, J. N.; NEVES, A do C. O sistema de C&T e a experiência vivida dos produtores rurais. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v.15, n. 3, p.83-102, 1998.

PEIXOTO, S.E.A.A.; CERQUEIRA, J.H.A.; SILVA, T.M. Posição social e percepção de prioridades de pesquisa para a agricultura familiar: levantamento das demandas no Estado da Bahia. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 19, n.1, p. 69-98, 2002.

RAMALHO, J.P.; CONTINI, E. Considerações teóricas sobre o mercado de tecnologias agropecuárias. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 4, n. 1, p. 39-57, 1987.

## PALAVRAS CHAVES:

Biotecnologia, cadeia produtiva, frutíferas, ornamentais.

## **PROJETO: PLANTAS ORNAMENTAIS PARA O FUTURO - REGIÃO CENTRO-OESTE**

Antonio Fernando Caetano Tombolato  
Pesquisador Científico VI  
NPD Jardim Botânico  
Instituto Agrônômico, IAC  
Cx. Postal 28  
13001-970 Campinas SP, Brazil  
[tombolat@iac.sp.gov.br](mailto:tombolat@iac.sp.gov.br)

Este projeto foi patrocinado pelo Ministério do Meio Ambiente, e durante onze meses grupos de investigadores e profissionais das cinco regiões brasileiras - sul, do sudeste, Centro-oeste, nordeste e norte - estudou o potencialidade das plantas brasileiras nativas de acordo com suas características principais para usos humanos como medicinal, ornamental, alimento, etc.

Os critérios para a eleição da espécie foram estabelecidos por cada grupo de cada região, e não foram necessariamente os mesmos para todas as regiões. Em todo o caso, foi considerado que o produto novo deve ser introduzido na cadeia produtiva em resposta a uma demanda existente para ser uma novidade. Para ornamentais, considera-se o fato que o grupo necessitou tratar de um ponto delicado que é o conceito subjetivo da beleza, como a expressão do apelo atrativo do produto. Outras limitações poderiam ser também a facilidade de propagação e cultivo, a necessidade de domesticação, pré-melhoramento, melhoramento e transformação genética, estudos de nutrição e fisiologia da espécie do cerrado e manejo.

Como um exemplo, mostra-se abaixo os critérios usados para ornamentais do Centro-oeste. As ornamentais são representadas por uma diversidade grande de produtos, previamente as diferentes categorias de plantas foram listadas como árvore, palmeira, folhagem, flor cortada, flor seca, planta de vaso e bromélia – nas quais as espécies selecionadas foram introduzidas.

Os critérios foram:

1. Representatividade na região Centro-oeste:
  - a) restrita ao Centro-oeste
  - b) com alta diversidade (famílias, variedades) no Centro-oeste
  - c) com alta frequência de ocorrência (espécies, variedades) no Centro-oeste

As limitações para este critério foram o endemismo, que significa que as populações poderiam ser extremamente restritas, e a falta da informação sobre a espécie.

2. Situação atual de uso:
  - a) cultivada

- b) extractivismo
  - c) não explorada
3. Variação floral
- a) boa
  - b) média
  - c) fraca
4. Durabilidade pós-colheita e pós-produção
- a) boa
  - b) média
  - c) fraca
5. Potencial de mercado
- a) local (regional)
  - b) nacional
  - c) internacional

Em consequência da reunião desse grupo, algumas sugestões para a política pública foram deliberadas como: estimular a preservação das características regionais da paisagem em especial no Central-Oeste, orientar o manejo sustentável das populações nativas das flores secas em áreas públicas.

Nas tabelas 1 e 2, encontram-se listadas as plantas ornamentais eleitas em dois níveis de prioridade.

Tabela 1. Lista prioritária de espécies ornamentais nativas e seu principal uso – região Centro-oeste.

<b>Uso</b>	<b>Espécie</b>
Folhagem	<i>Calathea flava</i> (Marantaceae) <i>Philodendron bipinnatifidum</i> , <i>P. affinis williamsi</i> (sp. Novum) <i>P. imperialis</i> , (Araceae) <i>Peperomia cincinnata</i> <i>P. campinasana</i> . (Piperaceae)
Árvore	<i>Jacaranda ulei</i> , <i>J. caroba</i> , <i>J. cuspidifolia</i> (Bignoniaceae) <i>Physocalymma scaberrimum</i> (Lythraceae) <i>Sterculia striata</i> (Sterculiaceae) <i>Tabebuia impetiginosa</i> , <i>T. aurea</i> , <i>T. roseo-alba</i> , <i>T. serratifolia</i> (Bignoniaceae)
Flor de corte	<i>Costus spicatus</i> , <i>C. spiralis</i> (Zingiberaceae) <i>Oncidium varicosum</i> (Orchidaceae)
Flor seca	<i>Actinocephalus bongardii</i> (Eriocaulaceae) <i>Axonopus aureus</i> , <i>Loudetiopsis chrysothrix</i> , <i>Paspalum</i>

	<i>stellatum</i> (Poaceae)
	<i>Paepalanthus acanthophyllus</i> <i>P. elongates</i> , <i>P. giganteus</i> , <i>Syngonanthus nitens</i> (Eriocaulaceae)
	<i>Rhynchospora globosa</i> (Cyperaceae)
	<i>Wunderlichia crulsiana</i> , <i>W. mirabilis</i> (Asteraceae)
	<i>Xyris paradisiacal</i> <i>X. schizachne</i> (Xyridaceae)
Palmeira (Arecaceae)	<i>Butia purpurescens</i> , <i>B. capitata</i> <i>Mauritia flexuosa</i> <i>Mauritiella armata</i> <i>Syagrus coccooides</i> <i>Oenocarpus distichus</i>
Bromélia (Bromeliaceae)	<i>Bromelia villosa</i> , <i>B. macedoni</i> <i>Dyckia marnier-lapostollei</i> , <i>D. goerhiengii</i> <i>Ananas ananassoides</i>
Planta de vaso	<i>Mandevilla ilustris</i> (Apocynaceae)

Tabela 2. Lista de espécies ornamentais nativas da região Centro-oeste, em segunda prioridade, em ordem alfabética.

---

**Espécie**

*Acrocomia aculeata*, *Acrocomia* sp., *Allagoptera*, *Alstroemeria* sp., *Anemopaegma arvense*, *Apeiba tibourbou*, *Arachis* sp., *Aristida riparia*, *Astrocephalocereus stevensii*, *Bletia catenulata*, *Butia paraguayensis*, *Cambessedesia glaziovii*, *Diplokeleba floribunda* (Sapindaceae), *Cattleya walkeriana*, *C. bicolor*, *C. nobilior*, *Cavanillesia arborea*, *Combretum fruticosum*, *Cuphea linarioides*, *Cuphea melvilla*, *Cyrtopodium brandonianum*, *C. poecilum*, *C. virescens*, *Dejanira* sp., *Desmoncus cuyabensis*, *Diplusodon marginatus*, *D. burchellii*, *D. decussatus*, *Dipterix alata*, *Evolvulus* sp., *Filgueiraria arecaba*, *Hippeastrum* sp., *Houletia juruenensis*, *Irlbachia* sp., *Kielmeyera*, *Lagenocarpus rigidus*, *Lupinus velutinus*, *Microlicia* sp., *Norantea* sp., *Oncidium jonesianum*, *Paratheria prostrata*, *Portulaca* sp., *Qualea ingens*, *Reimarochloa acuta*, *Reimarochloa brasiliensis*, *Schefflera morototoni*, *Tabebuia alba*, *Tibouchina papilifera*, *Vellozia* sp. and *Vochysia haenckeana*

---

## **Plantas do futuro do NE: plantas ornamentais, produtoras de fibras e com sementes ornamentais.**

**Roxana Cardoso Barret<sup>1</sup>; Alcina Maria Barbosa Viana<sup>1</sup>; Ana Cecília Ribeiro de Castro<sup>2</sup>; Natália de Jesus Vinhas<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE. e-mail: rocabarreto@hotmail.com; alcinav@pop.com.br; nataliavinhas@gmail.com; <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Fortaleza, CE, e-mail: [cecilia@cnpat.embrapa.br](mailto:cecilia@cnpat.embrapa.br).

### **1. INTRODUÇÃO**

Através da oportunidade oferecida pelo grande projeto nacional para o estudo de plantas nativas com potencial econômico, neste capítulo são apresentadas aquelas consideradas ornamentais, produtoras de fibras e com sementes ornamentais que ocorrem na região Nordeste do Brasil.

A importância da pesquisa deve-se à constatação de que apesar da destacada diversidade vegetal encontrada no Brasil, a maioria das espécies tradicionalmente utilizadas são exóticas que passaram por processos de adaptação e que não raramente interferem no ambiente, além de sofrerem também alterações em seus ciclos biológicos. Contudo, o uso das exóticas é facilitado por se tratarem de plantas em cultivo e, na maioria dos casos, já melhoradas geneticamente, resultando em modificações morfológicas e fisiológicas que propiciam a produção de floração mais intensa, folhas e flores com coloração variada, entre outros aspectos. Além disso, no caso das plantas ornamentais, existe a herança dos paisagistas europeus cujos jardins foram copiados por muito tempo até o surgimento de Roberto Burle Marx, paisagista brasileiro que adotou o uso da vegetação tropical, criando jardins temáticos que valorizam as espécies do Brasil e remetem o observador a ambientes como a caatinga, a Mata Atlântica e a Amazônia.

Uma de suas contribuições, por exemplo, está no cultivo das helicônias e bromélias que passaram a ser valorizadas mundialmente. Portanto, para que o uso de algumas espécies nativas seja introduzido e intensificado, torna-se necessário que se conheça métodos de propagação mais eficientes, bem como seja trabalhada a durabilidade das flores e folhas. Pelo exposto, verificou-se que o nicho ocupado pelas espécies nativas ainda é bastante reduzido diante do potencial existente.

A floricultura brasileira, que responde por um mercado de dois bilhões de dólares, incluindo varejo, está sendo fortalecida com vários programas oficiais como o PROFLORES e FLORA BRASILIS, que visam aumentar a exportação de flores, sobretudo as tropicais (Aki & Perosa, 2002). O crescimento observado na comercialização de flores tropicais no mercado internacional ocorre em função do aumento da área de produção nos países da América Central e da América do Sul, o que proporciona maior oferta do produto e conseqüente divulgação (Castro, 1995).

O mercado mundial de ornamentais nativas apresentam elevado potencial econômico, uma vez que os consumidores de países de clima temperado consideram este produto exótico, sendo correlacionado com regiões tropicais e este ser um negócio movido por novidades. As exportações brasileiras de flores e plantas cresceram mais de 124% entre 2001 e 2006, mantendo crescimento real de pelo menos 10% ao ano.

A adequação climática e pouca variação de temperatura durante o ano, o que não exige investimento com estufas, e a posição geográfica mais próxima da Europa e EUA, maiores centros consumidores, tornam o cultivo das flores tropicais viável economicamente para a região Nordeste, fazendo com que os preços sejam mais competitivos, resultando em mais uma fonte de renda e empregos.



Além de ser pioneiro na produção de flores tropicais, o Estado de Pernambuco destaca-se como sendo um dos maiores produtores de helicônias, principalmente na Zona da Mata, com aumento de 1.200% na área plantada nos últimos anos (Aki & Perosa, 2002).

Sampaio et al. (2002) publicaram um livro sobre a vegetação e flora da caatinga, indicando o uso de plantas que requerem seleção e coleta na vegetação nativa além de analisarem a ocupação do espaço com agricultura e com pastagens e tratarem da produção de lenha e carvão a partir das espécies da caatinga. Neste trabalho, os autores indicaram fibras extraídas no bioma caatinga com base no censo do IBGE de 1995/1996, sendo citadas a palha do buriti, caroá, tucum, piaçava e carnaúba. Entre as nativas usadas na arborização de ruas, praças e jardins pelo seu caráter ornamental, ressaltaram a importância das palmeiras, de um modo geral, assim como os ipês e cássias, além de mencionarem o comércio reconhecido das orquídeas e bromélias, embora tenham salientado a falta de uma listagem das espécies nativas com tal potencial, especialmente com estudos sobre a seleção e melhoramento das mesmas.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), através da Pró-Reitoria de Extensão (PROEXT), criou o projeto “Imaginário Pernambucano” visando promover o desenvolvimento sustentável, a cultura e a inclusão social em treze diferentes localidades do Estado de Pernambuco.

Este projeto, realizado em parceria com outras instituições como o SEBRAE, Associação Plantas do Nordeste (APNE), Associação Quilombola de Conceição das Crioulas (AQCC) e Centro de Cultura Luiz Freire, está voltado para o desenvolvimento da produção e venda de artesanato, estimulando a geração de trabalho e renda nas comunidades através de oficinas de gestão de qualidade e consultorias de design. Como exemplos, são destacados aqui três subprojetos pelo uso de fibras e sementes.

No Município de Salgueiro está localizada a comunidade de Conceição das Crioulas, onde havia originalmente o cultivo e a fiação do algodão e hoje se confecciona artesanato com barro, caroá, palha e imbirá que levaram a AQCC à conquista do I Prêmio Banco Mundial de Cidadania em reconhecimento ao projeto de valorização do artesanato da comunidade.

Entre os Municípios de Ibimirim e Inajá vivem os Kambiwá, povo indígena que utiliza a fibra do caroá, a palha do ouricuri, a madeira e as mais variadas sementes para a produção de esculturas, cestos, colares, pulseiras, bolsas e outros produtos, tendo o projeto proporcionado a melhoria dos processos produtivos, desde a extração das matérias-primas até a finalização dos produtos, promovendo também o fortalecimento e a mobilização do grupo de artesãos para o trabalho cooperado e colaborado na valorização da cultura e da identidade do povo Kambiwá.

No Município de Sertânia, encontra-se o povoado de Caroalina, onde até a década de 60, a fibra de caroá era produzida e fornecida pela comunidade rural a grandes indústrias, sendo substituída pelo agave e pela fibra sintética, enquanto hoje através da produção artesanal, a mesma matéria-prima ressurgiu como uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do local.

Outro projeto dedicado ao incentivo da produção de artesanato com matéria-prima obtida na natureza, chamado “Arquitetando Arte”, foi criado pelo SEBRAE e conta com a participação de arquitetos locais que contribuem na elaboração das peças através da orientação do design e divulgação dos produtos. Exemplos destas parcerias podem ser encontrados em algumas comunidades que se especializaram no uso de diferentes matérias como a palha do ouricuri e sementes, no Aldeamento Indígena Fulni-ô, a taboa, pelo Grupo de Mulheres de Santa Terezinha, a renda de coqueiro, fibra de madeira, barbantes de caroá e de juta, usados pela Arte Reveste – João Lopes.

As espécies selecionadas como ornamentais foram escolhidas a partir de critérios que levaram em consideração a sua beleza, porte, coloração, resistência, floração, frutificação, relativa facilidade de reprodução, utilidade paisagística e comercialização, neste caso, lembrando que existem plantas produtoras de flores de corte e folhagens de corte que têm sido exploradas intensamente, inclusive alcançando altos preços no mercado interno e

externo, surgindo como novas opções, além daquelas já utilizadas tradicionalmente há décadas.

Quanto às espécies consideradas como produtoras de fibras, a sua escolha foi realizada principalmente através da observação de utensílios utilizados no cotidiano e dados bibliográficos. Sabe-se que existe atualmente uma grande valorização do uso de objetos confeccionados a partir de elementos naturais e esta tem sido constatada em exposições de artesanatos, mostras de decoração ou simplesmente em estabelecimentos comerciais, onde são encontrados tradicionalmente diversos objetos feitos com fibras naturais. Nesta pesquisa, algumas famílias vegetais, conhecidas normalmente pelo seu potencial ornamental, são indicadas como produtoras de fibras de qualidade.

Assim como as fibras, as sementes também representam um produto com elevado potencial econômico. Aproveitando toda a tendência atual da utilização de materiais encontrados na natureza, surgiram com grande destaque as “jóias” produzidas com sementes e fibras naturais, chamadas de “biojóias”, que têm alcançado altos preços no comércio. Portanto, os adornos utilizados pelos índios que chegaram ao mundo moderno como elementos decorativos de baixo preço alcançam agora vitrines elegantes de lojas sofisticadas.

A lista de espécies elaborada para o projeto Plantas do Futuro resultou de um levantamento bibliográfico somado à seleção de espécies úteis relacionadas em bancos de dados já existentes. O banco de dados PNE-Checklist da APNE-CNIP serviu de base para a listagem inicial das plantas, no qual eram indicadas apenas 24 espécies ornamentais e duas produtoras de fibras. Os bancos de dados, originados a partir de coletas realizadas nesta região do país em projetos anteriores de levantamentos florísticos da caatinga e de resquícios de Mata Atlântica também serviram como fonte de pesquisa. Os herbários locais foram consultados para o levantamento de espécies e suas respectivas áreas de ocorrência registradas nas fichas das exsicatas. O material herborizado também foi utilizado para medições e observação da morfologia das espécies descritas neste capítulo.

Feiras e exposições foram visitadas para a observação de objetos confeccionados com produtos naturais ali expostos e/ou comercializados. Uma pesquisa também foi realizada ao sul da Bahia, entre Porto Seguro e Santa Cruz de Cabrália, onde existe grande diversidade de espécies, tanto produtoras de fibras como de sementes ornamentais, utilizadas no artesanato que ali é muito vendido, considerando a intensidade de turistas brasileiros e estrangeiros que visitam a região. As visitas incluíram entrevistas feitas com os artesãos para a seleção das produtoras de fibras e sementes ornamentais mais utilizadas na fabricação dos artesanatos.

A seleção das espécies com potencial ornamental, produtoras de fibras e com sementes ornamentais foi uma tarefa difícil, diante da grande riqueza observada na vegetação nordestina e para tal escolha, alguns critérios foram considerados de acordo com a real utilidade dos vegetais, desconhecimento de seu potencial econômico, originalidade da escolha, facilidade com que são encontrados na natureza e, sobretudo, na possibilidade de reprodução dos mesmos. Inicialmente, foi organizada uma lista contendo 316 espécies de plantas consideradas ornamentais, 56 escolhidas como produtoras de fibras e 13 cujas sementes são utilizadas na confecção de ornamentos como colares, pulseiras, brincos, bolsas, etc. Estas listas contêm vários descritores que incluem dados relacionados ao local de ocorrência das espécies, seus nomes populares, época de floração e frutificação, duração da floração, preferências ambientais, diferentes formas de uso, entre outros. As espécies foram mais uma vez selecionadas, chegando-se a 45 consideradas ornamentais, 38 produtoras de fibras e 13 com sementes ornamentais. Durante a realização de um seminário regional foram finalmente definidas as espécies consideradas prioritárias de acordo com todos os critérios estabelecidos pelo grupo de trabalho, incluindo 32 ornamentais, 15 produtoras de fibras e permanecendo com as 13 espécies que produzem sementes ornamentais, sendo todas descritas neste capítulo.

## 2. LISTA DE ESPÉCIES

### 2.1. Plantas ornamentais

Família	Nome científico	Nome popular	Usos
Araceae	<i>Anthurium affine</i>	milho de urubu	Folhagem de corte e paisagismo.
Araceae	<i>Monstera pertusa</i>	costela-de-adão	Folhagem de corte e paisagismo.
Arecaceae	<i>Mauritiella armata</i>	caraná	Paisagismo urbano.
Arecaceae	<i>Syagrus botryophora</i>	patioba	Paisagismo urbano.
Arecaceae	<i>Syagrus cearensis</i>	catolé	Paisagismo urbano e rural.
Bignoniaceae	<i>Jacaranda caroba</i>	carobinha	Paisagismo urbano.
Bignoniaceae	<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	caroba	Paisagismo urbano.
Bignoniaceae	<i>Tabebuia aurea</i>	craibeira	Paisagismo urbano e rural.
Bignoniaceae	<i>Tabebuia chrysotricha</i>	ipê-amarelo	Paisagismo urbano e rural.
Bignoniaceae	<i>Tabebuia impetiginosa</i>	ipê-roxo	Construção; carvão; paisagismo urbano e rural.
Bignoniaceae	<i>Tabebuia serratifolia</i>	pau-d'arco	Paisagismo urbano e rural.
Bromeliaceae	<i>Canistrum alagoanum</i>	gravatá	Cultivo em vasos ou chão de jardins.
Bromeliaceae	<i>Canistrum aurantiacum</i>	gravatá	Cultivo em vasos ou jardins.
Bromeliaceae	<i>Cryptanthus burle-marxii</i>	gravatá	Cultivo em vasos ou jardins.
Bromeliaceae	<i>Cryptanthus zonatus</i>	gravatá	Cultivo em vasos ou jardins.
Bromeliaceae	<i>Portea leptantha</i>	gravatá	Cultivo em vasos ou jardins.
Bromeliaceae	<i>Tillandsia bulbosa</i>	medusa	Cultivo em vasos para ornamentação de ambientes.
Cactaceae	<i>Melocactus bahiensis</i>	coroa-de-frade	Cultivo em vaso ou jardins.
Commelinaceae	<i>Dichorisandra tyrsiflora</i>	trapoeraba	Paisagismo.
Commelinaceae	<i>Tradescantia ambigua</i>	trapoeraba	Paisagismo.
Costaceae	<i>Costus spiralis</i>	cana-de-macaco	Flores de corte e paisagismo.
Fabaceae	<i>Bowdichia virgilioides</i>	sucupira	Paisagismo urbano e rural.
Heliconiaceae	<i>Heliconia bihai</i>	helicônia	Flores de corte e paisagismo.

Heliconiaceae	<i>Heliconia psittacorum</i>	paquevira	Flores de corte e paisagismo.
Lythraceae	<i>Physocalymma scaberrimum</i>	pau-de-rosas	Paisagismo urbano.
Mimosoideae	<i>Calliandra brevipes</i>	esponjinha	Paisagismo, cercas vivas.
Mimosoideae	<i>Calliandra leptopoda</i>	esponjinha	Paisagismo, cercas vivas.
Orchidaceae	<i>Cattleya granulosa</i>	orquídea	Flor de corte e planta de vaso.
Portulacaceae	<i>Portulaca grandiflora</i>	onze-horas	Forrações em jardins.
Rubiaceae	<i>Richardia grandiflora</i>	poia-rasteira	Forrações em jardins.
Xyridaceae	<i>Xyris platystachia</i>	cabeça-de-negro	Flores desidratadas.
Xyridaceae	<i>Xyris roraimae</i>	botão-de-ouro	Flores desidratadas.
Zingiberaceae	<i>Renealmia exaltata</i>	Pacova	Flores de corte.

## 2.2. Plantas Produtoras de Fibras

Família	Nome científico	Nome popular	Usos
Araceae	<i>Heteropsis longispathacea</i>	heteropsis	cestaria
Araceae	<i>Philodendron cordatum</i>	cipó-trapiá	Raízes fibrosas para cordoalha e amarrilhos grosseiros.
Arecaceae	<i>Astrocaryum vulgare</i>	tucum	Confecção de redes, cordas para arcos, linhas de pesca, esteiras, chapéus etc.
Arecaceae	<i>Copernicia prunifera</i>	carnaúba	Confecção de esteiras, chapéus e outros artefatos além da cera.
Arecaceae	<i>Desmoncus orthacanthos</i>	titara	Fabricação de cestos artesanais
Arecaceae	<i>Mauritia flexuosa</i>	buriti	Confecção de esteiras, cordoalhas, redes, chapéus etc.
Arecaceae	<i>Syagrus coronata</i>	ouricuri	Cobertura de casebres e confecção de artefatos como chapéus, esteiras e abanos.
Bromeliaceae	<i>Ananas lucidus</i>	ananás	Artesanato e flor de corte
Bromeliaceae	<i>Ananas sativus</i>	abacaxi	Confecções finas, como rendas, mantilhas, cortinas e artigos similares.
Bromeliaceae	<i>Neoglaziovia variegata</i>	caroá	Confecção artesanal de cordas e barbantes. Forrageira e indústria têxtil.

Cyperaceae	<i>Eleocharis interstincta</i>	junco	Artesanato em geral.
Dilleniaceae	<i>Dolioscarpus dentatus</i>	cipó-michila cipó-de-fogo	Artesanato em geral.
Malvaceae	<i>Urena lobata</i>	guaxuma-roxa	Confecção de redes, cordoalhas, barbantes, linhas de pescar e tecidos grosseiros.
Marantaceae	<i>Ischnosiphon arouma</i>	guarimã	Cestos, esteiras, peneiras e outras obras traçadas.

### 2.3. Plantas com Sementes Ornamentais

Família	Nome científico	Nome popular	Usos
Araliaceae	<i>Didymopanax morototoni</i>	Morototó	Produção de adornos.
Arecaceae	<i>Euterpe oleracea</i>	Açaí	Vinho, sucos, geléias, doces, etc.
Arecaceae	<i>Syagrus coronata</i>	aricuri, ouricuri, licuri	Ornamental; fibras; construções rústicas; cera; alimentos para animais silvestres.
Bignoniaceae	<i>Arrabidaea chica</i>	pariri	Melífera; propriedades medicinais.
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	tiririca	Ornamental; medicinal; confecção de colares; brincos e pulseiras.
Fabaceae	<i>Abrus precatorius</i>	olho-de-pombo	Forrageiros; medicinais e ornamentais.
Fabaceae	<i>Mucuna urens</i>	olho-de-boi	Ornamental, medicinal.
Lythraceae	<i>Lafoensia pacari</i>	pacari	Construção; arborização urbana; melífera e no paisagismo.
Malpighiaceae	<i>Byrsonima verbascifolia</i>	muriá	Alimentação humana; madeira; apícola, medicinal e sementes ornamentais.
Mimosaceae	<i>Adenantha pavonina</i>	tento-vermelho	Medicamentos; ornamental; arborização de ruas e praças, sombreamento e artesanato.
Mimosaceae	<i>Parkia pendula</i>	Juerana, visgueiro	Ornamental. Arborização e artesanato.
Poaceae	<i>Coix lachryma</i>	milagre	Artesanato
Sapindaceae	<i>Sapindus saponaria</i>	sabão-de-macaco	Artesanato

### AGRADECIMENTOS

Menção especial à pesquisadora Gardene Maria de Sousa (UFPI), pelas informações relevantes sobre a família Bromeliaceae e agradecimentos aos pesquisadores Ademir Reis (UFSC), Alonso da Mota Lamas (AFLORAL), Cláudio Urbano Pinheiro (UFMA), Rita de

Cássia Pereira Galindo (IPA), Vivian Loges (UFRPE), que contribuíram para a seleção das espécies prioritárias e indicação de formas de utilização e comercialização das mesmas.

### 3. LITERATURA CONSULTADA

ANDRADE-LIMA, D. **Plantas da Caatinga**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989. 243p.

AKI, A.; PEROSA, J. M. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Rev. Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 8, n.1/2, p.13-23, 2002.

BARRETO, R.C. 1985. **Estudos taxonômicos sobre a família Lauraceae Lindley no Estado de Pernambuco – Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BARRETO, R.C. 1997. **Levantamento das espécies de Commelinaceae R. Br. nativas do Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

BARROS, C. da S.S. 1998. **Araceae da Reserva Particular do Patrimônio Natural de Vera Cruz, Município de Chã Preta – AL**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

BARROSO, G.M. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.1. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 1978. 255p.

BARROSO, G.M. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.2. Viçosa: Ed. Univ. Federal de Viçosa, 1984. 377p.

BARROSO, G.M. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.3. Viçosa: Ed. Univ. Federal de Viçosa, 1986. 326p.

BARROSO, G.M. et al. **Frutos e sementes - Morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Ed. Univ. Federal de Viçosa, 1999. 443p.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste: especialmente do Ceará**. 5. ed. Mossoró: Fundação Guimarães Duque, 2001. 540p.

CASTRO, C.E.F. de. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: MAARA-SDR-FRUPEX/SPI, 1995. 44p. (FRUPEX - Publicações Técnicas).

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926. v.1.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1931. v.2.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura; Serviço de Informação Agrícola, 1952. v.3.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura; IBDF, 1969. v.4.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura; IBDF, 1974. v.5.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura; IBDF, 1975. v.6.

CORREA, M.P. **Fibras têxteis e celulose**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Indústria e Comércio; Imprensa Nacional, 1919. 276p.

CHIEA, S.A.C.; SILVA, T.R.S. Malvaceae. 1992. p.9-13. In: M.M. da R.F. de Melo et al. (Eds.). **Flora fanerogâmica da Ilha do Cardoso**. v.2. Instituto de Botânica, São Paulo.

FERRI, M.G.; MENEZES, N. L. de; MONTEIRO, W.R. **Glossário Ilustrado de Botânica**. São Paulo: Editora Nobel, 1981. Reimpressão 2001. 197 p.

GENTRY, A.H. Bignoniaceae – Part II (Tribe Tecomeae). p.1-370. In: **Flora Neotropica**, Monograph 25(II). New York: The New York Botanical Garden; Organization for Flora Neotropica, 1992.

GIULIETTI, A.M. et al. Estudos em “sempre-vivas”: taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**. v.10, n.2, p.329-377, 1996.

JOLY, A. B. Botânica: **Introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Editora Nacional, 1998. 777p.

KAMER, H.M. de; MAAS, P.J. Costaceae. 2003. Pp.63-65. In: WANDERLEY, M. das G.L. et al. (Coords.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v. 3. FAPESP: RiMa, São Paulo.

KIYUNA, I.; ANGELO, J.A.; COELHO, P.J. **Floricultura: Comportamento do comércio exterior brasileiro no primeiro trimestre de 2004**. Instituto de Economia Agrícola. Abril 2004. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1352&PHPSESSID=> Acesso em 30 set.2004.

LINS, C. J. C. **Programa de Ação para o Desenvolvimento da Zona da Mata do Nordeste**. Recife, SUDENE/DPO/SER, 1996. 169p. il.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2.ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum , 1992. 2.v.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. de; **Plantas ornamentais do Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001. 1.088p.

LORENZI, H. et al. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2004. 416p.

LORENZI, H.; MELLO FILHO, L.E. **As plantas tropicais de R. Burle Marx**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001. 488p.

MAAS, P.J.M. Renealmia (Zingiberaceae – Zingiberoideae) Costoideae (Additions – Zingibiberaceae). p.1-218. In: **Flora Neotropica**, Monograph 18. New York: The New York Botanical Garden; Organization for Flora Neotropica, 1977.

MEDEIROS-COSTA, J.T. As espécies de Palmeiras (Arecaceae) do Estado de Pernambuco, Brasil. 2001. p.229-236. In: TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (Orgs.). **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, Editora Massangana, Recife.

- RENVOIZE, S. A. **The grasses of Bahia**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1984. 301p.
- RIBEIRO, T.R.; LOPES, G.G.O.; VIANA, F.D. **Produção de mudas e flores de plantas ornamentais tropicais**. Petrolina, PE: Embrapa/Serviço de Negócios para a Transferência de Tecnologia, 2002. 41p. (Circular Técnica).
- RIZZINI, C.T.; MORS, W. B. **Botânica Econômica Brasileira**. 2. ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1995. 241p.
- SAMPAIO, Y.; SAMPAIO, E.V.S.B.; BASTOS, E. **Parâmetros para pesquisa agropecuária**. Recife: PIMES-UFPE, 1987. 224p. (Série Estudos 15).
- SAMPAIO, E.V.S.B. et al. (Eds.). **Vegetação & Flora da Caatinga**. Recife: Associação Plantas do Nordeste – APNE; Centro Nordestino de Informações sobre Plantas – CNIP, 2002. 176p.; il.
- SIQUEIRA FILHO, J.A. Bromélias em Pernambuco: diversidade e aspectos conservacionistas. 2001. p.219-228. In: TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (Orgs.). **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, Editora Massangana, Recife.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). p. 663-1492. In: **Flora Neotropica**, Monograph 14(II). New York: The New York Botanical Garden; Organization for Flora Neotropica, 1977.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Bromelioideae (Bromeliaceae). p. 1493-2142. In: **Flora Neotropica**, Monograph 14(III). New York: The New York Botanical Garden; Organization for Flora Neotropica, 1979.
- STANNARD, B.L. (Ed.). **Flora of the Pico das Almas – Chapada Diamantina – Bahia, Brazil**. Kent – Great Britain: Whitstable Litho Ltd., 1995. 853p.
- WANDERLEY, M. das G.L. 1992. **Estudos taxonômicos no gênero Xyris L. (Xyridaceae) da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.



## **Conservação *ex situ* de Recursos Genéticos de Plantas Ornamentais no Brasil: estratégia básica para o desenvolvimento do setor.**

**Bianchetti, Luciano de Bem<sup>1</sup>; Miranda, Zenilton Gayoso<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>CENARGEN - Parque Estação Biológica – PqEB – Av. W 5 Norte, Cx. P. 02372 – Brasília – DF, CEP. 70770 900. Fone (61)3448 4700, email: [bianchet@cenargen.embrapa.br](mailto:bianchet@cenargen.embrapa.br); <sup>2</sup>CPAC – Br. 020, Km 18, Cx. P. 08223 CEP.73310-970, Planaltina-DF, Fone (61)3388 9898, email: [zenilton@cpac.embrapa.br](mailto:zenilton@cpac.embrapa.br)

Podemos dizer que um recurso é um bem material e, um bem material é tudo aquilo do qual se pode extrair algum tipo de benefício, proveito ou utilidade. Portanto, de uma maneira muito simplificada, um recurso genético vegetal pode ser entendido como qualquer planta, ou parte dela, da qual o homem faz uso ou tira algum tipo de proveito. Então, podemos observar diferentes conjuntos de recursos genéticos, geralmente agrupados pelo tipo de uso, entre eles: recursos genéticos de plantas alimentícias, madeiras, medicinais, fibrosas, oleaginosas, etc. Nesse contexto, os recursos genéticos de plantas ornamentais formariam um novo conjunto, pois, de uma forma generalizada, aplica-se o conceito a uma determinada espécie ou conjunto de espécies com inegável ou potencial valor ornamental, para fins de exploração comercial.

Ainda sobre os propósitos de uso, o termo “ornamental” confere ao conceito um componente que às vezes pode ser compreendido como de uso necessariamente decorativo, no entanto, as plantas ornamentais têm várias aplicações que não somente àquelas relacionadas à composição cênica de ambientes construídos. Essas aplicações têm sido gradativamente estudadas na perspectiva de utilização mais funcional desses vegetais, com resultados que refletem diretamente na qualidade de vida da população, como por exemplo: a elaboração de projetos ecologicamente corretos, ou de forte conceito ecológico, por meio da utilização de plantas nativas; utilização de espécies que determinem menor impacto ambiental, que consumam menos água, mais bem adaptadas a estes ou aqueles tipos de solo, mais resistentes às pragas e doenças da região e mais bem inseridas na paisagem. Além das abordagens anteriormente relatadas, podemos enumerar outros benefícios associados à prática da floricultura, como aqueles evidenciados por Saturnino (1979), onde se destaca, entre outros, a importância social: “A floricultura apresenta-se como a forma mais adiantada da evolução agrícola, pois exige alta tecnologia, um sistema eficiente e rápido de distribuição de comercialização. Apresenta alta rentabilidade por área, exige grande quantidade de mão-de-obra e, portanto, gera empregos. Permite o emprego de mulheres e adolescentes, tornando-se uma ocupação familiar. Pode ser rendosa mesmo em pequenas propriedades. Apresenta-se, portanto, como uma opção de fixação de mão-de-obra no meio rural e de aproveitamento dos minifúndios, considerados impróprios para outras atividades agropecuárias”.

A pesar de seu grande potencial para conquistar uma posição destacada no cenário interno e externo, o mercado de flores e plantas ornamentais, segundo Perosa (2002), é de pouca expressão nas exportações brasileiras. Segundo Stringheta et al. (2002), as cifras nesse segmento, conforme estimativas internacionais, alcançaram em 2000, no nível do produtor, cerca de 19 bilhões de dólares; já no varejo estes números alcançaram cerca de 50 bilhões de dólares. O Brasil representaria, conforme argumenta, cerca de 0,2% do mercado externo. Para Sá (2004), no período de 1995/1996, o país exportava menos de 1% do comércio internacional deste produto. Em 2000, quase uma década depois, a participação no mercado internacional foi de US\$ 11.781.769 e, em 2002, chegou a alcançar um total de US\$ 14. 909.509. Mesmo considerando a tendência de crescimento no setor, ainda assim, argumenta o autor, estes números representam cerca de 1,5% das exportações da Holanda, o referencial mundial para o setor.

O Brasil é um país megadiverso, abrigando cerca de 20% de toda a diversidade biológica mundial, o que confere ao país uma extraordinária competitividade diante de demandas ambientais e biotecnológicas, nas quais o capital natural pode gerar grandes

benefícios econômicos e sociais quando bem administrado. O segmento vegetal, onde as plantas ornamentais se inserem, é apenas uma parte dessa biodiversidade e um recurso essencial para o bem estar humano. Além dos vegetais cultivados, que nos fornecem alimentos e fibras básicas, outros silvestres são de grande importância econômica e cultural utilizados também como alimentos ou medicamentos, ornamentais, combustíveis, vestuário e abrigo, além de desempenharem papel fundamental na manutenção de funções básicas dos ecossistemas. Entretanto, o mundo vem perdendo essa biodiversidade por vários fatores combinados, como por exemplo: a coleta excessiva, as práticas insustentáveis de agricultura e silvicultura, a urbanização, a poluição, as mudanças no uso do solo, o alastramento de espécies exóticas e as alterações climáticas. Desse modo, especialistas em diferentes grupos de organismos e em diferentes partes do mundo, conscientes do que vem acontecendo, deflagraram uma corrida contra o tempo visando o registro da biodiversidade mundial. O primeiro resultado foi a constatação que, a maior biodiversidade encontra-se nos trópicos. Entretanto, os mesmos cientistas apontam também que, as regiões dos trópicos são aquelas aonde vêm se perdendo biodiversidade de forma mais acentuada. Por esses motivos, hoje em dia, existe a preocupação mundial voltada para a conservação da biodiversidade.

A conservação da biodiversidade compreende as interações entre as necessidades humanas e as distintas categorias da biodiversidade, oferecendo benefícios à geração atual, porém mantendo seu potencial para atender às necessidades e aspirações das próximas gerações. Conseqüentemente, a conservação da biodiversidade não deve resumir-se à proteção da Natureza frente ao desenvolvimento, mas procurar satisfazer a demanda humana por recursos biológicos, e simultaneamente, garantir a sustentabilidade, a longo prazo, da enorme riqueza biótica do planeta” (Instituto de Recursos Mundiais, *apud* Nass, 2001).

Levando-se em consideração a diversidade de plantas nativas da flora brasileira com potencial para uso ornamental, a diversidade climática e o possível incremento que o uso sustentável desse recurso poderá significar para o mercado tanto interno como externo, parece-nos óbvio que este potencial devesse ser mais bem explorado. Neste sentido, existe um grande ponto de convergência entre as necessidades do mercado em utilizar a biodiversidade para diversificar a carteira de produtos a serem oferecidos e a disponibilidade do germoplasma de interesse. Por disponibilidade entenda-se a real possibilidade de utilização do germoplasma seja para uso imediato ou futuro. O Plano Global de Ação para Recursos Genéticos voltado para agricultura e alimentação (aprovado na Conferência Internacional de Recursos Genéticos, em Leipzig, em 1996) enfatiza que “somente por meio do uso dos Recursos Genéticos é que os benefícios sociais e econômicos da conservação daqueles recursos poderão ser compreendidos” (Cooper et al., 1998, *apud* Nass, 2001). Desse modo, a coleta, introdução, caracterização, avaliação e documentação de germoplasma são ações pertencentes a estratégias maiores, quais sejam: conservação e utilização (Figura 1).

Ampliar o conhecimento sobre um determinado recurso genético é agregar valor àquele recurso. Quanto maior for o valor agregado, maiores serão as chances de uso daquele material. Desse modo, somente a pesquisa (para o nosso caso entendida como o desenvolvimento de atividades em pré-melhoramento e em programas institucionais de melhoramento genético) é capaz de agregar valor ao germoplasma de plantas ornamentais e, por conseqüência, potencializar o uso daqueles recursos genéticos. Espera-se, também, que haja uma relação direta entre uso e conscientização voltada para a conservação.

Especialistas em recursos genéticos enfatizam que o sucesso de um programa de pesquisa em recursos genéticos depende essencialmente de um bem fundamentado sistema de conservação de germoplasma (Ferreira, 1988). Desse modo, e frente à acelerada degradação dos ecossistemas naturais em todo o globo, evidencia-se que o estabelecimento de processos voltados para a conservação de recursos genéticos é um problema urgente e vem sendo abordado mundialmente de duas maneiras complementares: a) por meio da conservação *in situ*, que mantém as espécies no ambiente natural, bem como a operação dos processos evolutivos, b) por meio da conservação *ex situ*, na qual as espécies são amplamente manejadas fora do seu ambiente natural.

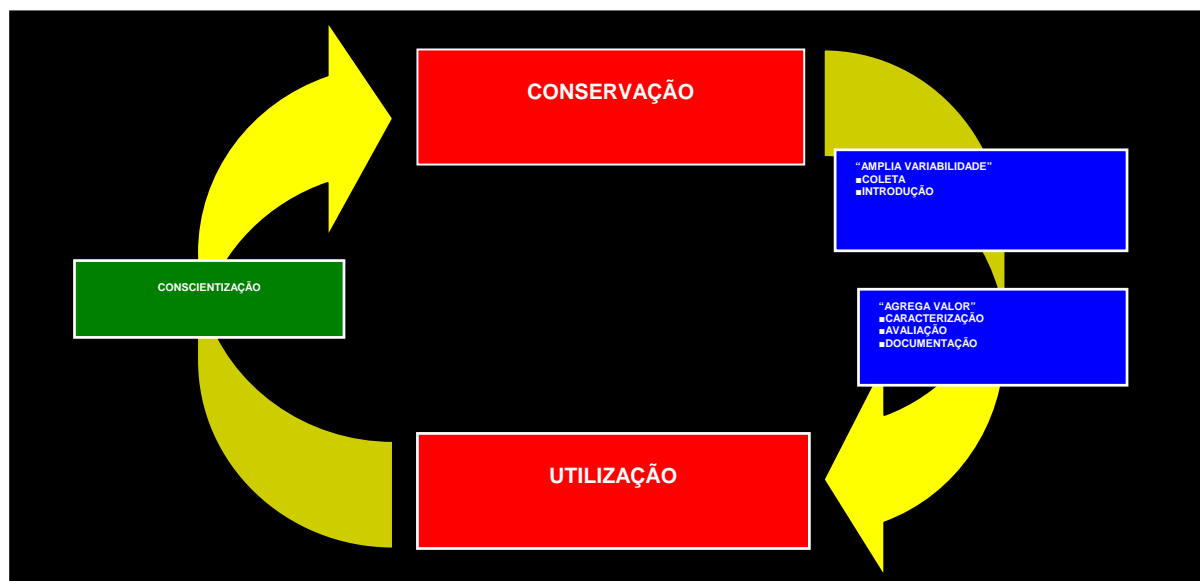


Figura 1. Desenvolvimento de ações relacionadas aos Recursos Genéticos e seus desdobramentos para conservação e utilização.

Alguns autores (Ferreira, 1988; Hoyt, 1992; Nass, 2001) apontam a conservação *in situ* como a estratégia mais apropriada para populações de espécies nativas, para os parentes silvestres das plantas cultivadas, forrageiras e fruteiras e, principalmente, para espécies perenes, notadamente as florestais. Entre as unidades operacionais voltadas para conservação *in situ*, destacam-se os parques nacionais, reservas biológicas, reservas genéticas, estações ecológicas, santuários de vida silvestre, etc. As unidades, acima mencionadas, embora preservem uma ampla gama de diversidade vegetal são instituídas principalmente visando à conservação e manejo de espécies florestais. Desse modo, ao dirigir-se o foco de conservação para espécies florestais em suas comunidades naturais, involuntariamente, passa-se também a conservar uma grande diversidade de espécies não arbóreas, incluindo-se aí muitas espécies ornamentais. Entretanto, o processo usual de conservação, que envolve manejo e outras atividades relacionadas, e que vem sendo utilizado no país para as plantas ornamentais, é o *ex situ*.

A conservação *ex situ* desdobra-se em várias modalidades, entre as quais conservação *in vitro*, em coleções a campo (*in vivo*), em câmaras frias, em nitrogênio líquido etc, pois depende do comportamento reprodutivo de cada espécie. Goedert (1988), citando outros autores, aponta que no caso das plantas que se reproduzem por sementes, e para os propósitos de armazenamento, as sementes são classificadas em dois grupos: a) ortodoxas – aquelas que podem ser dessecadas a baixos teores de umidade (4-6%) e armazenadas sob temperaturas sub-zero, por longos períodos sem que o poder germinativo sofra alteração e, b) recalcitrantes – aquelas que morrem rapidamente quando dessecadas abaixo de determinados níveis críticos de umidade. Até o momento, somente foi possível a definição de métodos de armazenamento em longo prazo para sementes de comportamento ortodoxo. Para espécies que apresentam sementes recalcitrantes ou para aquelas que não produzem sementes (se reproduzem por propagação vegetativa), outros métodos são utilizados, entre eles, a conservação a campo (*in vivo*) ou *in vitro*.

No Brasil, para conservação de plantas ornamentais, existem dois setores atuantes: o informal (geralmente privado) e o formal (oficial e público). Para o primeiro setor verificamos que existe um número expressivo de viveiristas e de coleções de plantas ornamentais. Quanto às coleções, praticamente todas pertencem a particulares e são conservadas *in vivo* (em campo ou em casas de vegetação). As Instituições que mantêm coleções são muito poucas e encontram dificuldades econômicas para sua manutenção (ver

lista de Instituições). De modo geral, o maior problema das coleções não institucionais é o sentido personalizado que assumem. Se um determinado pesquisador ou amador consegue constituir uma coleção, ele a mantém com justificativas, metodologia e, principalmente, com recursos próprios sendo que, a existência da coleção estará diretamente vinculada à existência do seu responsável. Portanto, as coleções, de modo geral, assumem um caráter momentâneo, passageiro, efêmero. Mesmo com todos estes problemas, as coleções particulares ainda são de grande importância pela quantidade, pelo grande número de colecionadores e pela qualidade do material sob cultivo, já que são colecionados híbridos de grande valor comercial e espécies silvestres de relevante valor ecológico (Mattes, 1990).

Aqui, novamente, faremos referência a Matthes (1990) quando afirma que “as instituições responsáveis pela conservação de plantas ornamentais *ex situ*, simplesmente as mantém sob cultivo, não se caracterizando como um banco de germoplasma”, e tentar expressar as diferenças entre um Banco de Germoplasma (BG) e uma coleção qualquer de plantas ornamentais (desde já, alertando que as coleções e BGs serão tratados de forma generalizada). A essência dos trabalhos desenvolvidos é basicamente a mesma (conservação para uso imediato ou posterior), porém, o que os diferencia é o tratamento relacionado às atividades envolvidas em cada procedimento. Então, de forma geral:

1) Uma coleção geralmente pertence a um particular (setor informal) e a existência da mesma estará diretamente vinculada à existência do seu responsável; por esse motivo, uma coleção assume um caráter passageiro.

Um BG deve ser, preferencialmente, vinculado a uma instituição (setor formal) seja pública ou privada; por esse motivo, assume um caráter de perpetuidade.

2) A preocupação maior na composição de uma coleção seria a de resguardar a **diversidade interespecífica**, ou seja, a diversidade entre espécies diferentes, não necessariamente relacionadas ou mesmo espécies pertencentes a gêneros e famílias diferentes. Essa diversidade pode ser expressa da seguinte forma (A,B,C,D,...n) e está de acordo com os objetivos comerciais da coleção e do viveirista, pois visa oferecer o maior número de opções para o consumidor. Essa diversidade, por exemplo, pode ser verificada em um zoológico, pois lá encontramos um casal de leões, um de zebras, um de ursos, etc ou de um viveiro comercial de plantas onde percebemos a existência de poucas plantas pertencentes a famílias diferentes: algumas bromélias, rosas, gladiolos, etc.

Em um BG a preocupação recai na conservação da **diversidade intraespecífica**, ou seja, a diversidade dentro de uma mesma espécie ou entre espécies relacionadas. Essa diversidade pode ser expressa da seguinte forma (A1, A2, A3, A4,..n; B1, B2, B3, B4,..n). Portanto, deve-se ter um BG de espécies de rosas e espécies relacionadas, um BG de gladiolos e espécies relacionadas, onde estarão reunidos os Recursos Genéticos disponíveis de rosa, os RG de gladiolo, etc.;

3) Em uma coleção encontra-se geralmente amostra de apenas um ou poucos indivíduos de cada espécie ou uma melhor representatividade apenas daquelas espécies com maior valor comercial.

No BG encontram-se amostras compostas por indivíduos pertencentes a uma mesma população (um acesso) e de diferentes populações (diferentes acessos) da mesma espécie ou de espécies relacionadas.

4) Em uma coleção o tipo de conservação é geralmente *in vivo* (ou em campo ou em casas de vegetação). A manutenção dos exemplares se faz por multiplicação vegetativa visando a perpetuação das características desejadas. Quando existem sementes, o número geralmente é insuficiente ou são acondicionadas em condições pouco apropriadas.

No BG os processos de conservação podem contemplar sementes, explantes ou plantas a campo. No caso da espécie produzir sementes de comportamento otodoxo, a preferência deve recair sobre a conservação de germoplasma semente, em câmaras frias devido à simplicidade e eficácia. Deve-se realizar a multiplicação de todos os acessos até a obtenção de um número suficiente de sementes para que seja mantida a integridade genética daquele acesso. Além da identificação do comportamento das sementes, deve-se indicar o método mais apropriado para conservação (curto, médio e longo prazo), armazená-

las de forma eficiente (com baixo teor de umidade e geralmente envelope de alumínio) e proceder ao monitoramento periódico do poder germinativo.

5) Em uma coleção geralmente se verifica apenas atividade de **avaliação**, ou seja, aferição de características influenciáveis por fatores bióticos e abióticos. Normalmente, estas são as características de valor agrônômico (por ex.: rendimento da cultura, identificação de fontes de resistência a patógenos).

No BG desenvolvem-se atividades de **avaliação e caracterização**. A caracterização visa estabelecer as diferenças entre acessos de uma mesma espécie (mostrar em que A1 é diferente de A2, em que A2≠A3, em que A3≠A4, ...). Para tanto, são aplicados descritores morfológicos, fenológicos e agrônômicos complementados por atividades citogenéticas e bioquímicas. **A falta de informações relacionadas aos processos de avaliação e caracterização é uma das principais causas do uso limitado de acessos mantidos em bancos de germoplasma** (Valls, 1998).

6) Em uma coleção os dados de origem, relacionados às atividades de coleta ou de introdução, são insuficientes ou inexistentes.

No BG é realizada a **documentação** do germoplasma envolvendo dados de passaporte (aqueles recolhidos durante a coleta como informações geográficas, ecológicas, fisiológicas e morfológicas), dados de caracterização e de avaliação.

É bem verdade que existem casos isolados que figuram entre as raras exceções a esta regra, haja vista a notoriedade de grandes especialistas que mantêm coleções particulares com rígido padrão de confiabilidade dos dados de coleta ou origem.

No contexto das considerações acima expostas, e com a atenção dirigida para as Plantas Ornamentais, podemos dizer que uma das categorias Institucionais que preenchem a maior parte dos requisitos exigidos para a prática da conservação de germoplasma, além daquelas tradicionalmente envolvidas com pesquisa e conservação de Recursos Genéticos, são os Jardins Botânicos. A Resolução CONAMA Nº 339, de 03 de Agosto de 2003, considera Jardim Botânico: "área protegida, constituída, no seu todo ou em parte, por coleções de plantas vivas cientificamente reconhecidas, organizadas, documentadas e identificadas, com a finalidade de estudo, pesquisa e documentação do patrimônio florístico do país, acessível ao público, no todo ou em parte, servindo à educação, à cultura, ao lazer e à conservação do meio ambiente (Rede Brasileira de Jardins Botânicos, 2004). As normas internacionais para jardins botânicos (Ministério do Meio Ambiente, 2001), realçam a importância do desenvolvimento de ações de conservação integrada da diversidade biológica que contemplem tanto a conservação *in situ* quanto a conservação *ex situ*.

No Brasil existem cerca de 29 Jardins Botânicos, os quais possuem e conservam em seus acervos de coleções vivas, importantes bancos de germoplasma e de material genético, principalmente de espécies medicinais, ornamentais e florestais (Rede Brasileira de Jardins Botânicos, 2004).

Entretanto, a pesquisa voltada para plantas ornamentais no Brasil ainda não é uma prática generalizada, e está longe disso. Depende da atuação pontual de poucas instituições e de poucos pesquisadores envolvidos. A comprovação deste fato pode ser percebida no número reduzido ou ausência de programas de melhoramento em plantas ornamentais, de matérias curriculares oferecidas nas Universidades e de teses em pós-graduação no assunto.

Do mesmo modo que para outros produtos agrícolas voltados para alimentação, os recursos genéticos de plantas ornamentais constituem-se em uma pequena parcela do reino vegetal, da qual exige-se a máxima eficiência produtiva para suprir a crescente demanda de mercado. Entretanto, percebe-se que, em pouquíssimas instituições, a compreensão e conscientização foram efetivamente transformadas em ações voltadas para a conservação daqueles recursos genéticos. Na maioria dos casos, isso não aconteceu. Por falta de ações integradas (coleta, introdução, caracterização, avaliação, documentação e conservação de recursos genéticos), percebe-se que a variabilidade genética de muitos recursos foi de tal maneira reduzida que aqueles se tornaram altamente vulneráveis, com conseqüências nefastas para o aproveitamento futuro. Hoje em dia, muitas instituições pretendem a reversão desse quadro por meio da pesquisa e conservação de espécies relacionadas

àqueles recursos genéticos. Essa conservação visa salvaguardar o germoplasma, ampliar a variabilidade genética disponível e estimular a utilização desses recursos por meio da obtenção de variedades que apresentem incorporação de genes de resistência, adaptadas aos diferentes padrões abióticos ou como fonte de novos tipos morfológicos para o mercado.

Mesmo cientes que o assunto Plantas Ornamentais não vem recebendo o devido valor e a devida prioridade nas instituições de pesquisa, não podemos deixar de registrar o esforço e a atuação do Instituto Agrônomo de Campinas, da Sociedade de Floricultura e Plantas Ornamentais, das Universidades de Viçosa, de Minas Gerais, de Pernambuco, do Paraná, entre outros, que através de seus pesquisadores, sempre mostraram interesse e resultados para com o desenvolvimento da floricultura brasileira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, F.R. Conservação de Germoplasma *In Vivo*. In: Araújo, S.M.C.; Osuna, J.A. (Ed.). Encontro Sobre Recursos Genéticos, 1988, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal, SP: FCAV, 1988. p. 96-101.

GOEDERT, C.O. Conservação de Germoplasma-Semente. In: Araújo, S.M.C.; Osuna, J.A. (Ed.). Encontro Sobre Recursos Genéticos, 1988, Jaboticabal, SP. **Anais**, Jaboticabal, SP: FCAV, 1988. p. 78-95.

HOYT, E. **Conservação dos Parentes Silvestres das Plantas Cultivadas**. Wilmington, Delaware: Addison-Wesley Iberoamericana, 1992. 52p. (Traduzido por Lídio Coradin – Originalmente publicado em Inglês sob o título *Conserving the Wild Relatives of Crops*).

MATTES, L.A.F. Situação do Banco de germoplasma de plantas ornamentais no Brasil. 1., Simpósio Latino-americano sobre Recursos Genéticos de espécies hortícolas. 1990. Fundação Cargill. **Anais...** p.27-32.

**MINISTÉRIO do Meio Ambiente**. Normas Internacionais de conservação para jardins botânicos. Rio de Janeiro: Conselho Nacional do Meio Ambiente, Rede Brasileira de Jardins Botânicos, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2001. 112 p.

NASS, L.L. Utilização de Recursos Genéticos Vegetais no Melhoramento. In: Nass, L.L.; Valois, A.C.C.; Melo, I.S. de; Valadares-Ingliš, M.C. (Eds.). **Recursos Genéticos e Melhoramento**: Plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p: 30-55.

PEROSA, J. M. Y. Participação brasileira no mercado internacional de flores e plantas ornamentais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v. 8, n. ½, p. 1-11, 2002.

**REDE Brasileira de Jardins Botânicos**. Diversidade biológica nos jardins botânicos. Rio de Janeiro: Rede Brasileira de Jardins Botânicos, 2004. 99 p. :il.

SÁ, C. B. P. de (Coord.). **Caracterização do setor produtivo de flores e plantas ornamentais no Brasil**: 1995-1996. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Agropecuária. 75 p, 2004. (Estudos e pesquisas. Informação econômica, nº 2).

SATURNINO, H. M. A Floricultura no Brasil. In: Encontro de Pesquisadores em Floricultura e Plantas Ornamentais, 1, 1979, Viçosa, MG. **Anais...**Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. p:11-18.

STRINGHETA, A. C. O. et al. Diagnóstico do segmento de produção da cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v. 8, n. 1/2, p. 77-90.

VALLS, J. F. M. Caracterização Morfológica, Reprodutiva e Bioquímica de Germoplasma Vegetal. *In*: Araújo, S.M.C.; Osuna, J.A. (Ed.). Encontro Sobre Recursos Genéticos, Jaboticabal, SP, 1988. **Anais...** Jaboticabal, SP: FCAV. p. 106-128.

## Produção integrada e certificação de plantas e flores.

Andrigueto, J.R.<sup>1</sup>; Nasser, L.C.B.<sup>1</sup>; Teixeira, J.M.A.<sup>1</sup>; Martins, M.V.M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Servidores do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Esplanada dos Ministérios, Bloco D, Anexo B, sala 130, CEP: 70043-900, Brasília, DF, PABX: (61) 32182930, e-mail: [irozalvo@agricultura.gov.br](mailto:irozalvo@agricultura.gov.br); [luiznasser@agricultura.gov.br](mailto:luiznasser@agricultura.gov.br); [josemauricio@agricultura.gov.br](mailto:josemauricio@agricultura.gov.br); [marcusvm@agricultura.gov.br](mailto:marcusvm@agricultura.gov.br).

A produção integrada é um sistema baseado na sustentabilidade, aplicação de recursos naturais e regulação de mecanismos para substituição de insumos poluentes, utilizando instrumentos adequados de monitoramento dos procedimentos e a rastreabilidade de todo o processo, tornando-o economicamente viável, ambientalmente correto e socialmente justo.

O conceito do Controle Integrado de Pragas foi definido em 1959, combinando para isto medidas de controle químico e biológico. Com a publicação do livro “Primavera Silenciosa” em 1962 a bióloga e jornalista Rachel Carson descreveu a situação da produção e utilização de agrotóxicos na agricultura da América do Norte, a qual resultava em contaminação ambiental, humana e desequilíbrio ecológico mundial. Estas iniciativas acarretaram uma grande discussão e preocupação da sociedade e entidades governamentais no sentido de estabelecer critérios para a correta utilização dos agrotóxicos na agropecuária e a necessidade de pesquisar, desenvolver e implementar novas tecnologias buscando o manejo integrado de pragas e doenças. A Proteção Integrada ou Manejo Integrado de Pragas – MIP popularizou-se na década de 70 nos EUA, Canadá, Austrália e Europa Ocidental, sendo que no período de 1967 a 1974 a FAO formulou as bases para entendimento do conceito atual do sistema de manejo integrado de pragas e doenças como a combinação de técnicas aplicadas de forma compatível e com a visão global dos problemas fitossanitários em uma determinada área e espécie de planta cultivada. Desta forma, a partir deste esforço, o termo “Manejo Integrado de Pragas – MIP” foi consolidado e difundido no mundo. No ano de 1977 técnicos europeus, sob influência de ações da FAO, fundaram a Organização Internacional de Luta Biológica – OILB, na cidade Suíça de Ovrannaz, e estabeleceram as diretrizes iniciais da Produção Agrícola Integrada. A partir de 1980, com a difusão do termo Agricultura Sustentável, surgiu na Europa nos anos 90 o conceito atualmente aceito de Produção Integrada e as primeiras “Normas Técnicas de Produção Integrada”.

Os princípios básicos que regem a produção integrada estão amparados, principalmente, na elaboração e desenvolvimento de normas e orientações de comum acordo entre os agentes da pesquisa, ensino e desenvolvimento; extensão rural e assistência técnica; associações de produtores; cadeia produtiva específica; empresários rurais, produtores, técnicos e outros, por meio de um processo multidisciplinar, objetivando com isto, assegurar que o produto comercializado encontra-se em consonância com um sistema que garanta que todos os procedimentos realizados estão em conformidade com a sistemática definida pelo Modelo de Avaliação da Conformidade adotado. A produção integrada tem que ser vista de forma holística, estruturada sob os seus 04 pilares de sustentação (**organização da base produtiva, sustentabilidade do sistema, monitoramento dos processos e informação**) e os componentes que consolidam o processo. A produção integrada está colocada no ápice da pirâmide como o nível mais evoluído em organização, tecnologia, manejo e outros componentes, num contexto onde os patamares para inovação e competitividade são estratificados por níveis de desenvolvimento e representa os vários estágios que o produtor poderá ser inserido num contexto evolutivo de produção.

Preceituados pela produção integrada, critérios e recomendações de Boas Práticas Agrícolas (BPA), adotados pela cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais são procedimentos fundamentais para se garantir a sustentabilidade e a qualidade do produto comercializado, tornando-se premissa básica para quem almeja uma certificação vegetal.



O MAPA está instituindo o Sistema Agropecuário de Produção Integrada - SAPI. Este Sistema tem como meta o estabelecimento de Normativas Reguladoras de Produção Integrada no Brasil, baseado na aplicação de Normas de Controle e Certificação de terceiro porte (ISO 65) e no estabelecimento dos Regulamentos da Produção Integrada, unificando e padronizando o sistema para todo o Território Nacional. O SAPI constitui-se em um instrumento de apoio aos segmentos produtivos com o objetivo de elevar os padrões de qualidade e competitividade dos produtos agropecuários brasileiros, isto é, um produto diferenciado beneficiando aos consumidores, produtores, agroindústrias, exportadores e outros agentes. O SAPI é uma decorrência do modelo de Produção Integrada de Frutas - PIF, procedimentos que deram certo e alcançou o êxito desejado. Está consolidado para 14 espécies frutíferas em 17 Estados da Federação. Hoje, estão em andamento 23 projetos na área de fruticultura e outros 16 projetos em horticultura, pecuária, grãos, capacitação e logística de pós-colheita e comercialização, com o envolvimento de aproximadamente 500 órgãos públicos e privados, destacando-se a participação e parceria de instituições como Embrapa, CNPq, Inmetro, universidades, instituições estaduais de pesquisa, Sebrae, Senar, Ceagesp, associações de produtores, cooperativas e certificadoras, entre outras.

O MAPA tem ampliado seus esforços no sentido de empreender, em curto e médio prazo, articulações e estudos voltados para implantação do SAPI para plantas ornamentais e flores. Neste contexto, vale destacar a parceria que tem sido exercida com o Sebrae Nacional e o Inmetro, no desenvolvimento e implementação do Programa Brasileiro de Avaliação da Conformidade de Flores e Plantas Ornamentais (PBAC - Flores e Plantas Ornamentais) que busca aportar métodos e processos inovadores na abordagem do desenvolvimento setorial, com abrangência nacional, sendo um programa originário do interesse dos produtores e empresários da cadeia produtiva. Santa Catarina, São Paulo, Ceará, Minas Gerais, Alagoas, Pará e o Distrito Federal são exemplos de estados que possuem pólos produtores de flores e plantas ornamentais e que têm se destacado no Brasil com experiências bem-sucedidas e devem servir de referência para outros projetos que, posteriormente, possam ser implantados.

A certificação de flores e plantas ornamentais têm sido, cada vez mais, uma exigência do mercado mundial. As empresas, do setor de flores e plantas ornamentais, precisam estar preparadas para atender aos níveis de qualidade exigidos pelo mercado consumidor. Com a certificação de flores e plantas ornamentais, através do PBAC, pretende-se:

- ❖ Desenvolver padrões certificáveis baseados em Normas e melhores práticas reconhecidas internacionalmente;
- ❖ Estabelecer um sistema único e reconhecido de verificação do atendimento aos critérios pelos produtores;
- ❖ Proporcionar a criação de indicadores comparáveis em nível nacional entre os produtores, estabelecendo referenciais para melhoria de processos e produtos;
- ❖ Prover condições para a melhoria contínua e para o desenvolvimento e adoção de boas práticas de produção e comercialização pelos produtores;
- ❖ Criar um meio de comunicação entre produtores e consumidores buscando a melhoria da satisfação do cliente.

Com a implantação da certificação de flores e plantas ornamentais, espera-se:

- ❖ Maior eficiência da propriedade, por meio do controle de qualidade dos processos e produtos;
- ❖ Instrumentos para melhorar o gerenciamento da propriedade;
- ❖ Diferencial frente à concorrência;
- ❖ Instrumento de divulgação para o mercado da qualidade da produção;
- ❖ Possibilidade de conquistar novos clientes.