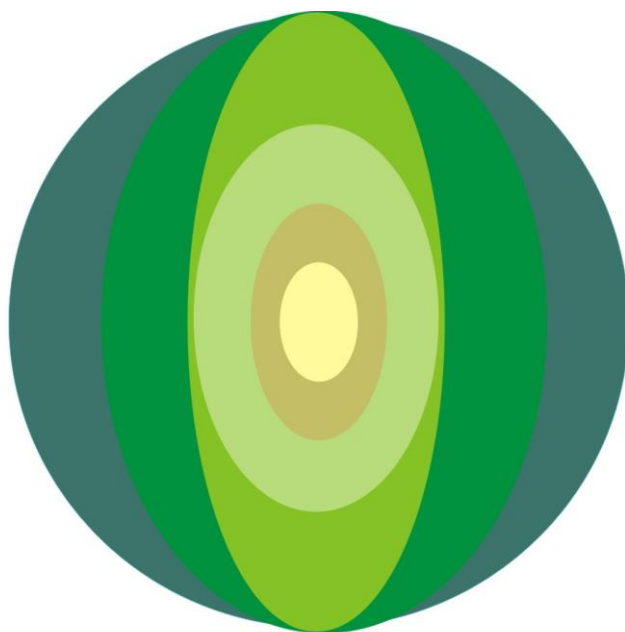




Melhoramento e Propagação
Vegetativa de Plantas
UFSM

ANAIS

***II SIMPÓSIO DE MELHORAMENTO E PROPAGAÇÃO
VEGETATIVA DE PLANTAS***

Dilson A. Bisognin

Editor



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



S612a Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas (1. : 2013 : Santa Maria, RS)
Anais / II Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, Santa Maria, RS, 23 e 24 de maio de 2013 ; Dilson A. Bisognin, editor – Santa Maria :Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, 2013.
viii, 349 p. : il. ; 21 cm.

1. Agronomia 2. Agricultura 3. Plantas
4. Melhoramento de plantas 5. Propagacao vegetativa
6. Eventos I. Bisognin, Dilson A. II. Título.

CDU 631.52/.53(063)

Ficha catalográfica elaborada por Maristela Eckhardt - CRB-10/737 Biblioteca Central da UFSM

II SIMPÓSIO DE MELHORAMENTO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE PLANTAS

Dilson A. Bisognin

Editor

Esta publicação está disponível no sítio do Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas da Universidade Federal de Santa Maria em:

<http://www.ufsm.br/mpvp/simposio>

Também pode ser obtida diretamente com o editor, pelo correio eletrônico:

dilson.bisognin@ufsm.br

REALIZAÇÃO

Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas - MPVP

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia

APOIO

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Ministério do Meio Ambiente

Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Agronegócio

Associação Brasileira de Melhoramento de Plantas

DuPont Pioneer

LOCAL E DATA

Anfiteatro do Colégio Politécnico da UFSM

Santa Maria, RS, 23 e 24 de maio de 2013

APRESENTAÇÃO

O desenvolvimento de estudos na área de melhoramento e propagação vegetativa de plantas, seja de culturas anuais ou perenes, tem promovido ganhos em produtividade e qualidade dos plantios, especialmente pelo fato das pesquisas conduzidas por instituições públicas e privadas estarem gerando conhecimentos básicos e novas tecnologias de produção de mudas de diversas espécies. Nesse sentido, o Núcleo de Melhoramento e Propagação e Vegetativa de Plantas da Universidade Federal de Santa Maria promoveu o II Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas. O Simpósio teve como objetivos discutir os avanços científicos e tecnológicos do melhoramento e da propagação vegetativa de plantas, com enfoque em espécies anuais e perenes; e integrar os grupos de pesquisa, criando um ambiente de encontro para estudantes, pesquisadores e profissionais que atuam nas diferentes instituições de ensino e pesquisa do Sul do Brasil.

A realização do II Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas possibilitou reunir a comunidade científica e os representantes dos setores do agronegócio, para discutir e divulgar os novos conhecimentos científicos e tecnológicos, e as experiências em pesquisa das diversas instituições de ensino, pesquisa e empresas de produção de mudas.

Para melhor contemplar os objetivos, estamos colocando a disposição dos participantes e demais pesquisadores, extensionistas, produtores, empresários e interessados com o melhoramento e a propagação vegetativa de plantas um material de consulta e de fácil acesso. Assim, o Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, juntamente com as entidades apoiadoras do II Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, tem a satisfação de disponibilizar esta publicação reunindo os resumos dos trabalhos completos apresentados durante o II Simpósio, que ocorreu nos dias 23 e 24 de maio de 2013. Para facilitar a busca de informações, os resumos completos foram agrupados nos temas de cultura de tecidos, genética e citogenética, melhoramento de plantas e propagação vegetativa. Além disso, todas as apresentações feitas pelos palestrantes e painelistas e as discussões das mesmas podem ser acessadas na nossa página da internet.

Estamos certos de que as informações contidas nesta publicação e disponibilizadas através da internet, que são de inteira responsabilidade dos respectivos autores, não esgotam o assunto, mas se adequadamente utilizadas podem contribuir para aumentar o nível tecnológico e a sustentabilidade da produção de espécies anuais e perenes de propagação vegetativa.

Dilson A. Bisognin
Coordenador do Simpósio

SUMÁRIO

CULTIVO DE TECIDOS.....	1
CONCENTRAÇÕES DE AGENTES OSMÓTICOS NO CRESCIMENTO LENTO <i>IN VITRO</i> DE FRAMBOESA CV. INDIAN SUMMER.....	2
EFEITO DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DE FRAMBOESEIRA.....	7
ESTABELECIMENTO <i>in vitro</i> DE PEREIRA CV. 'CASCATENSE' COM A UTILIZAÇÃO DE PPM™.....	13
ESTUDOS DE DESINFESTAÇÃO NO CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE <i>Sanionia uncinata</i> (Hedw.) Loeske.....	21
MICROPROPAGAÇÃO DE <i>Solidago chilensis</i> MEYEN (ASTERACEAE).....	28
MULTIPLICAÇÃO <i>in vitro</i> DE <i>Physalis Peruviana</i> L. COM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE BAP.....	35
OBTENÇÃO DE PLÂNTULAS PARA O CULTIVO <i>IN VITRO</i> A PARTIR DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE <i>Symplocos uniflora</i> (POHL) BENTH. (SYMPLOCACEAE).....	42
PRODUÇÃO DE 20-HIDROXIECDISONA EM PLANTAS DE <i>PFAFFIA GLOMERATA</i> (SPRENG) PEDERSEN SUBMETIDAS À INJÚRIA FOLIAR OU METIL JASMONATO.....	49
RESPOSTA À APLICAÇÃO DE FÓSFORO NA MASSA SECA TOTAL DE TREZE GENÓTIPOS DE BATATA CULTIVADOS <i>in vitro</i>	57
GENÉTICA E CITOGENÉTICA.....	64
ESTIMATIVA DA VIABILIDADE POLÍNICA DE <i>Dichorisandra thyrsiflora</i> J.C. MIKAN ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE COLORAÇÃO.....	65
ESTIMATIVA DA VIABILIDADE POLÍNICA DE <i>Pelargonium hortorum</i> L.H. Bailey POR METODOLOGIAS DE COLORAÇÃO.....	72

INDICATIVO DE ESTABILIDADE DE TRITICALE VIA ANALISES CITOGENÉTICAS DO GRÃO DE PÓLEN.....	78
INVESTIGAÇÃO DO PODER ALELOPÁTICO DE <i>Digitaria ciliaris</i> (Retz.) Koel (POACEAE) E SUA CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA.....	86
NÚMERO DE CROMOSSOMOS EM <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	94
VIABILIDADE POLÍNICA DA ESPÉCIE <i>Sagittaria montevidensis</i>	100
VIABILIDADE POLÍNICA DE <i>Lavandula angustifolia</i> Miller.....	107
MELHORAMENTO DE PLANTAS.....	113
ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E ANATÔMICAS DE CULTIVARES DE TRIGO SUBMETIDAS À TOXIDEZ POR ALUMÍNIO.....	114
ATIVIDADE DE FOSFATASES ÁCIDAS E CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO EM TECIDOS DE QUATRO GENÓTIPOS DE BATATA CULTIVADOS EM HIDROPONIA.....	123
EFEITO DO FÓSFORO NO CRESCIMENTO E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i> DE CULTIVARES DE TRIGO.....	131
INFLUÊNCIA DO P NO CRESCIMENTO, EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA E TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS EM GENÓTIPOS DE BATATA	139
MODELOS LINEARES PARA ESTIMAR A MASSA DO FRUTO E DO ENDOCARPO DE <i>Passiflora caerulea</i> EM POPULAÇÕES DE CRUZAMENTO ABERTO.....	146
SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA PARA MÚLTIPLOS CARACTERES DE QUALIDADE EM CONDIÇÕES SUBTROPICAL E TEMPERADA DE CULTIVO.....	151
VARIABILIDADE E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES DE FRUTOS DE MARACUJAZEIRO (<i>Passiflora caerulea</i>).....	159
PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.....	164
AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA MINIESTAQUIA E APLICAÇÃO DE AIB EM <i>Jacaranda mimosifolia</i> D. DON.....	165

DIFERENTES GRANULOMETRIAS DE CASCA DE ARROZ CARBONIZADA NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE <i>Eucalyptus benthamii</i> x <i>E. dunnii</i>	172
EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE <i>Lagerstroemia indica</i> L.COM FLORES DE COLORAÇÃO BRANCA E RÓSEA POR MEIO TÉCNICA DE ALPORQUIA.....	178
ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE <i>Alternanthera dentata</i> (Moench) Stuchlik EM DIFERENTES DOSES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO.....	186
ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE <i>Buxus sempervirens</i> EM FUNÇÃO DE CONCENTRAÇÕES DE AIA.....	192
ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE <i>Calliandra tweedii</i> Benth. EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIA.....	199
ENRAIZAMENTO DE ESTACAS HERBÁCEAS DO PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA PAULSEN 1103 EM DIFERENTES SUBSTRATOS.....	207
ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE IPÊ-ROXO.....	213
ENRAIZAMENTO <i>EX VITRO</i> E ACLIMATIZAÇÃO DE GRÁPIA (<i>Apuleia leiocarpa</i> (Vogel) J.F.Macbr.).....	220
INFLUÊNCIA DO LOTE DE SEMENTES NO ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> DE PLÂNTULAS DE CAROBA.....	228
PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO ARATICUM (<i>Annona neosalicifolia</i> H. Rainer) UTILIZANDO DIFERENTES TIPOS DE ESTACAS E SUBSTRATOS.....	234
SELF-INCOMPATIBILITY AND EFFECT OF EMASCULATION AND TIMING IN TOMATILLO.....	240

ANAIS

***II SIMPÓSIO DE MELHORAMENTO E PROPAGAÇÃO
VEGETATIVA DE PLANTAS***



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



CULTURA DE TECIDOS



CONCENTRAÇÕES DE AGENTES OSMÓTICOS NO CRESCIMENTO LENTO *IN VITRO* DE FRAMBOESA CV. INDIAN SUMMER.

FORMOSO, R.S.^{1*}; VARGAS, D.P.²; SANTOS, J.²; COSTA, R.R.³; DUTRA, L.F.⁴; ANTUNES, L.E.C.⁴;

¹ Graduanda do curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, bolsista FAPERGS na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil. * E-mail: rafaelasformoso@gmail.com.

² Biólogo, bolsista do programa de pós-doutorado da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

³ Química Ambiental, bolsista do programa de pós-graduação em agronomia da UFPel, Pelotas, RS, Brasil.

⁴ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.~

Resumo

A conservação de germoplasma *in vitro* se baseia em sistemas de crescimento lento das plantas, os quais podem ser modificados por ação de diferentes fatores. O objetivo deste trabalho foi reduzir o crescimento de plantas *in vitro* de framboesa sob efeito de diferentes concentrações de agentes osmóticos. Segmentos nodais de aproximadamente dois centímetros, oriundos de plantas pré-estabelecidas *in vitro* foram inoculados em meio de cultura com sais e vitaminas de MS, acrescido de 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 7 g.L⁻¹ ágar e com combinações entre sacarose (0 ou 30 g L⁻¹), manitol (0, 20 ou 40 g L⁻¹) e sorbitol (0, 20 ou 40 g L⁻¹). O experimento constituiu-se de um fatorial [sacarose (2) x manitol (3) x sorbitol (3)], sendo 10 repetições para cada tratamento. As avaliações de sobrevivência, oxidação e presença de folhas foram feita aos 90 dias de cultivo. Maior taxa de sobrevivência (74,07%) e presença de folhas verdes foram observadas na presença da sacarose. Considerando os resultados obtidos, é possível a manutenção da cv. Indian Summer sob crescimento lento *in vitro* quando na presença de sacarose isolada ou combinada.

Palavras-chave: Sorbitol. Manitol. Sacarose. Germoplasma. Conservação *in vitro*.



Introdução

A framboeseira (*Rubus idaeus* L.) pertence à família das Rosáceas, sendo originária do centro e norte da Europa e de parte da Ásia (RASEIRA et al., 2004). Entre as opções de cultivo, a framboeseira possui grande perspectiva em função das pequenas áreas de cultivo no País, alto rendimento econômico e possibilidade de agregação de valor ao produto final (GONÇALVES et al., 2011).

A conservação *in vitro* é alternativa aos métodos convencionais de micropropagação, prolongando etapas como as de multiplicação ou de enraizamento mantendo por período maior os explantes em cultivo. Com o objetivo de reduzir ou até suprimir o crescimento das células e tecidos, o processo de preservação *in vitro* apresenta diversas vantagens sobre o processo de conservação de germoplasma no campo, e dentre elas destacam-se: a necessidade de menor espaço para ocupação do material; manutenção de material vegetal livre de patógenos; disponibilidade de material para ser imediatamente propagado, além da redução dos custos financeiros, entre outros (DORION et al., 1991).

O método de conservação *in vitro* obtido via meio de cultura para crescimento lento envolve a manutenção de plantas em laboratório sob metabolismo reduzido, mediante subculturas periódicas de segmentos apicais e nodais (SOUZA et al., 2009). A utilização dessa técnica permite aumentar ao máximo o intervalo entre os subcultivos sem afetar a viabilidade das culturas, proporcionando redução de custos da mão de obra (MOOSIKAPALA & TE-CHATO, 2010). Dentre as principais estratégias para limitar o crescimento das plantas *in vitro* estão a redução da temperatura e da intensidade luminosa, redução nas concentrações de sais do meio de cultura, omissão de elementos nutritivos e a adição de agentes osmóticos, como manitol e sorbitol e inibidores de crescimento como o ácido abscísico (SOUZA et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi reduzir o crescimento de plantas *in vitro* de framboesa sob efeito de diferentes concentrações de agentes osmóticos.

Metodologia

Segmentos nodais de aproximadamente 1,5 cm, oriundos de plantas mantidas *in vitro*, foram transferidos assepticamente para meio Murashige & Skoog (MS),



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



acrescido de mio-inositol (100 mg L^{-1}), ágar ($7,5 \text{ g L}^{-1}$) e combinações entre sacarose (0 ou 30 g L^{-1}), manitol (0, 20 ou 40 g L^{-1}) e sorbitol (0, 20 ou 40 g L^{-1}). O pH do meio foi ajustado em $6,2 \pm 0,1$, antes da autoclavagem.

Os explantes foram mantidos na sala de cultivo com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16h durante 90 dias, quando foram analisadas as variáveis sobrevivência, presença de folhas verdes e oxidação.

A análise estatística foi realizada por meio do software estatístico SISVAR. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, fatorial 2 (sacarose) $\times$ 3 (manitol) $\times$ 3 (sorbitol), com dez repetições por tratamento, sendo a parcela experimental constituída de um explante cada uma. Para a comparação de médias, utilizou-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para comparar as porcentagens, após transformação dos dados em arco seno $\sqrt{x/100}$.

Resultados e discussões

Não houve efeito significativo da interação tripla entre os fatores estudados para as variáveis sobrevivência e oxidação ($P \geq 0,05$). Para a presença de folhas verdes, só houve significância para presença de sacarose ($P < 0,05$). Contudo, os resultados demonstraram que não houve efeito significativo na variável oxidação para todos os agentes osmóticos analisados isoladamente ou em combinação.

O uso de 30 g L^{-1} de sacarose isoladamente ou em combinação proporcionou maior percentual de sobrevivência (74,07%), diferindo significativamente dos tratamentos com ausência de sacarose (Figura 1). De forma semelhante ao estudo com a espécie de cana de açúcar realizado por Lemos et al. (2002), houve efeito positivo da utilização de sacarose como fonte de carbono e regulador osmótico na manutenção da viabilidade dos explantes conservados in vitro.

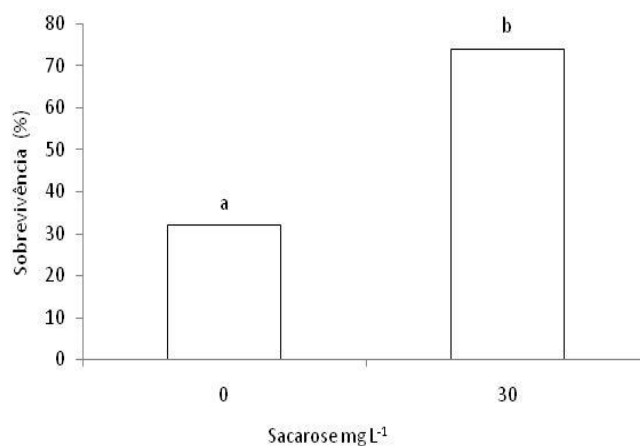


Figura 1 - Porcentagem de sobrevivência de explantes de Framboesa cv. Indian Summer submetidos a adição de sacarose em cultivo para indução do crescimento lento por um período de três meses in vitro. CV.: 67,87%; $Pr > F_c$: 0,0412 $\alpha=0,05\%$.

Maior presença de folhas verdes foi observada quando se utilizou sacarose isoladamente ou combinada no meio (Figura 2). A sacarose é a fonte de carbono mais utilizada nos protocolos de cultivo in vitro, sendo considerada a melhor fonte para a diferenciação celular e o desenvolvimento das microplantas (Grattapaglia & Machado, 1998).

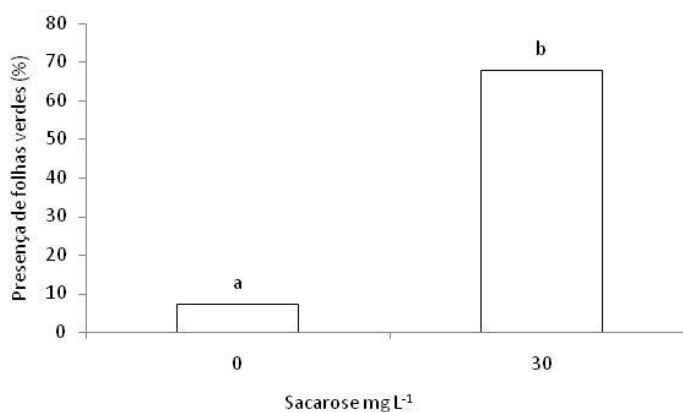


Figura 2 - Porcentagem de explantes com presença de folhas verdes in vitro, de framboesa cv. Indian summer submetidas a três meses de cultivo em crescimento lento. CV (%) = 77,41 $Pr > F_c$ 0.000 * $\alpha=0,05\%$.

Conclusão



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



É possível a manutenção da cultivar Indiam Summer em condições de crescimento lento em meio de cultivo básico com adição de sacarose (30 g L⁻¹) e em temperatura normal de cultivo.

Referências

AMO, S.O.; FINNIE J.F.; VAN STANDEN, J. **In vitro propagation of Huernia hystrix**: an endangered medicinal and ornamental succulent. *Plant Cell, Tissue and Organ. Culture*, v.96, pg. 273-278, 2009.

DORION, N.; KADRI, M.; BIGOT, C. *In vitro* preservation at low temperature of rose plantlets usable for direct acclimatization. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 298, p. 335-343, 1991.

GONÇALVES, E.D.; PIO, R.; CAPRONI, C.M.; ZAMBON, C.R.; SILVA, L.F.O.; ALVARENGA, A.A. **Implantação, cultivo e pós-colheita de framboesa no Sul de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2011, 5p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSOJA, A. (Ed). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: SPI/Embrapa-CNPH, v.1, p. 138-260, 1998.

LEMONS, E.E.P. et al. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileiro**, v.37, n.10, p.1359-1364, 2002.

MOOSIKAPALA L; TE-CHATO S. **Application of in vitro conservation in Vetiveria zizanioides Nash**. *Journal of Agricultural Technology*, v.6, p 401-407, 2010.

RASEIRA, M.C.B.; GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R.; ANTUNES, L.E.C. **Aspectos técnicos da cultura da framboeseira**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004, 22p.

SOUZA AS; DUARTE FV; SANTOS-SEREJO JA; JUNGHANS TG; PAZ OP; MONTARROYOS AVV; SANTOS VS; MORAIS LS. **Preservação de germoplasma vegetal, com ênfase na conservação in vitro de variedade de mandioca**. EMBRAPA: Cruz das Almas, 2009, 24p.



EFEITO DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE FRAMBOESEIRA

PELIZZA, T. R.^{1*}; MENEGUZZI, A.²; SILVEIRA, F. N.³; WEBER, G. C.⁴; CORREA, L. K.⁴; SILVA, P. P. da⁴; RUFATO, L.⁵; KRETZSCHMAR, A. A.⁵

¹ Eng. Agr., Pós doutoranda, Bolsista PRODOC/CAPES, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages (SC), Brasil. Email: trp_mestagro@hotmail.com *Autor correspondente.

² Graduanda, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages (SC), Brasil.

³ Doutoranda, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages (SC), Brasil.

⁴ Graduanda, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages (SC), Brasil.

⁴ Prof. Adjunto de Fruticultura, Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages (SC), Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento *in vitro* de framboeseria. O experimento foi conduzido no Laboratório de Micropropagação de Plantas, no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC), em Lages (SC). Segmentos nodais de framboeseria 'Fall Gold' foram inoculados em meio nutritivo MS acrescido de 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 30 g L⁻¹ de sacarose e das concentrações 0; 0,5; 1,0; 1,5 ou 2,0 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB). Após 35 dias de cultivo *in vitro*, o ponto de máxima obtido para a média do número de raízes, comprimento da maior raiz e comprimento de raízes é observado quando utilizado 1,09 ; 1,11 e 1,21 mg.L⁻¹ de AIB, respectivamente. Assim, para o enraizamento *in vitro* de framboeseria 'Fall Gold' recomenda-se utilizar uma concentração de AIB próxima a 1,0 mg.L⁻¹.

Palavras-chave: *Rubus* sp. Ácido indolbutírico. Fall Gold.



Introdução

Dentre as cultivares de framboeseira (*Rubus idaeus* L.) já testadas no Brasil encontram-se as cultivares Autum Bliss, Heritage, Scepter, Southland, framboesa preta e Batum. Existem cultivares de framboeseira com potencial de cultivo, no entanto, ainda não foram testadas no Brasil (RASEIRA et al., 2004) e cultivares em teste iniciais, com experimentos à campo, dentre elas destaca-se a cultivar Fall Gold, que apresenta fruto de coloração amarela, cuja fenologia e produção em diferentes locais foi observada em trabalho conduzido por Moura et al. (2012).

A propagação *in vitro* de plantas compreende técnicas realizadas em laboratório que utilizam o cultivo de tecidos em meio asséptico, sendo a micropropagação uma delas. O processo de micropropagação compreende quatro estágios principais: o estágio I, que corresponde o estabelecimento do explante no meio de cultura; o estágio II, em que ocorre a multiplicação ou indução de brotos múltiplos; o estágio III, constituído pela fase de formação de raízes adventícias e; o estágio IV, que é a aclimatização, com a transferência gradual das plantas para a condição *ex vitro* (HARTMANN e KESTER, 1997).

A etapa de enraizamento *in vitro* caracteriza-se pela formação de raízes adventícias nas partes aéreas provenientes da multiplicação, para posterior transplante. Os tipos e concentrações de auxina são os fatores que, em geral, são determinantes ao enraizamento. Diversas auxinas podem ser utilizadas nesta etapa, sendo as mais comuns o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indolacético (AIA), com concentrações que variam de acordo com cada espécie ou clone (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento *in vitro* de framboeseira 'Fall Gold' em função de diferentes concentrações de AIB.

Metodologia

O experimento foi instalado em sala de crescimento, no Laboratório de Micropropagação de Plantas, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC),



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages (SC), entre os meses de janeiro a março de 2013. O material vegetal foi constituído de segmentos nodais de framboeseira 'Fall Gold' cultivadas em meio nutritivo MS (Murashige e Skoog, 1962), mantidas em câmara de crescimento com temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, UR do ar de 75 % e período de luz de 16 horas.

Após a multiplicação, plântulas com quatro folhas e quatro gemas, foram submetidos ao enraizamento em frascos com capacidade de 250 ml, adicionado de 25 ml de meio nutritivo MS (Murashige; Skoog, 1962), acrescido de 100 mg L^{-1} de mioinositol, 30 g L^{-1} de sacarose e 6,5 g de ágar, sendo testadas as concentrações 0; 0,5; 1,0; 1,5 ou $2,0\text{ mg L}^{-1}$ de ácido indolbutírico (AIB). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Após a inoculação dos explantes, os frascos foram transferidos para sala de crescimento, com temperatura aproximada de 25°C , onde permaneceram por uma semana na ausência de luz, sendo, posteriormente transferidos para condição de irradiância de $25\text{ }\mu\text{M.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ fornecida por tubos fluorescentes de 20 W e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições de quatro explantes cada. Após 35 dias de cultivo *in vitro*, avaliou-se o número de raízes, o comprimento da maior raiz, comprimento das raízes e percentagem de sobrevivência dos explantes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico Winstat. Efetuou-se análise de regressão polinomial em função das concentrações de AIB utilizadas.

Resultados e Discussões

O modelo quadrático foi o que melhor se ajustou para explicar o comportamento do número de raízes, do comprimento da maior raiz e do comprimento das raízes em função das concentrações de AIB. O ponto de máxima atingido para a variável número de raízes é observado quando utilizado $1,09\text{ mg.L}^{-1}$ de AIB onde obtêm-se 5,05 raízes (Figura 1A). Augusto et al. (2006), em trabalho conduzido com amoreira-preta 'Brazos', verificaram que microestacas tratadas com 1mM de AIB, por dois segundos, e cultivadas em meio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS, apresentaram maior número de raízes por microestaca (4,5) se comparado ao tratamento constituído por microestacas não tratadas com AIB (3,1). De acordo com Radmann et al. (2003), em estudo sobre o enraizamento *in vitro* de amoreira-preta 'Ebano',



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



utilizando concentrações variando de 0 a 1 mg L⁻¹ de AIB, o maior número de raiz por explante foi observado em meio de cultivo sem a adição de ácido indolbutírico (5,5 raízes/brotação). Conforme citam Grattapaglia e Machado (1998), a formação de raízes adventícias pode variar entre espécies, populações ou clones, o que pode explicar, em parte, a discrepância destes resultados.

O ponto de máxima eficiência atingido para a variável comprimento da maior raiz ocorreu com a concentração de 1,11 mg L⁻¹ de AIB, sendo observada média de 1,51 cm (Figura 1B). Para o comprimento da maior raiz em explantes da cultivar de amoreira-preta Ébano, Villa et al. (2008) observaram comportamento linear decrescente com o aumento das concentrações de ANA, que variaram de 0 a 1,5 mg L⁻¹. De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), a melhor concentração de auxina é a mínima necessária para proporcionar uma iniciação radicular satisfatória e que possibilite o maior crescimento e desenvolvimento das raízes sem formação de calo.

O ponto de máxima atingido para a variável comprimento das raízes é observado com a concentração de 1,21 mg L⁻¹ de AIB, sendo observada média de 1 cm (Figura 1C). Leitske et al. (2009), utilizando as concentrações de 0,0; 3,0; 6,0; 9,0 e 12 µM de AIB para o enraizamento *in vitro* de amoreira-preta 'Xavante', observaram regressão quadrática com ponto de mínima para a variável comprimento de raízes. Augusto et al. (2006), não verificaram diferenças significativas quanto ao comprimento das raízes de amoreira-preta 'Brazos' submetidas ou não à imersão em 1mM de AIB, por dois segundos, seguido de sua introdução em meio de cultivo ½ MS. Bobrowski et al. (1996), verificaram que, para a cultivar de amoreira-preta Ébano, a concentração de 0,8 mg L⁻¹ de AIB proporcionou maior comprimento médio de raízes comparativamente às concentrações de 0,3 e 0,5 mg L⁻¹ de AIB, o que não ocorreu para as cultivares Tupi, Guarani e Seleção 9. De acordo com Radmann et al. (2003), a ausência de AIB no meio de cultura leva à formação de raízes mais longas o que, no entanto, não foi observado neste trabalho. Tal observação confere com Najaf-Abadi e Hamidoghli (2009), onde a concentração de 2,0 mg L⁻¹ de AIB proporcionou maior comprimento de raízes em detrimento de concentrações menores ou na ausência do fitorregulador. De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), a condição mais comum é de as partes aéreas oriundas da fase de multiplicação necessitarem de estímulo para a rizogênese, o que, contudo, é obtido com a utilização de auxina exógena.

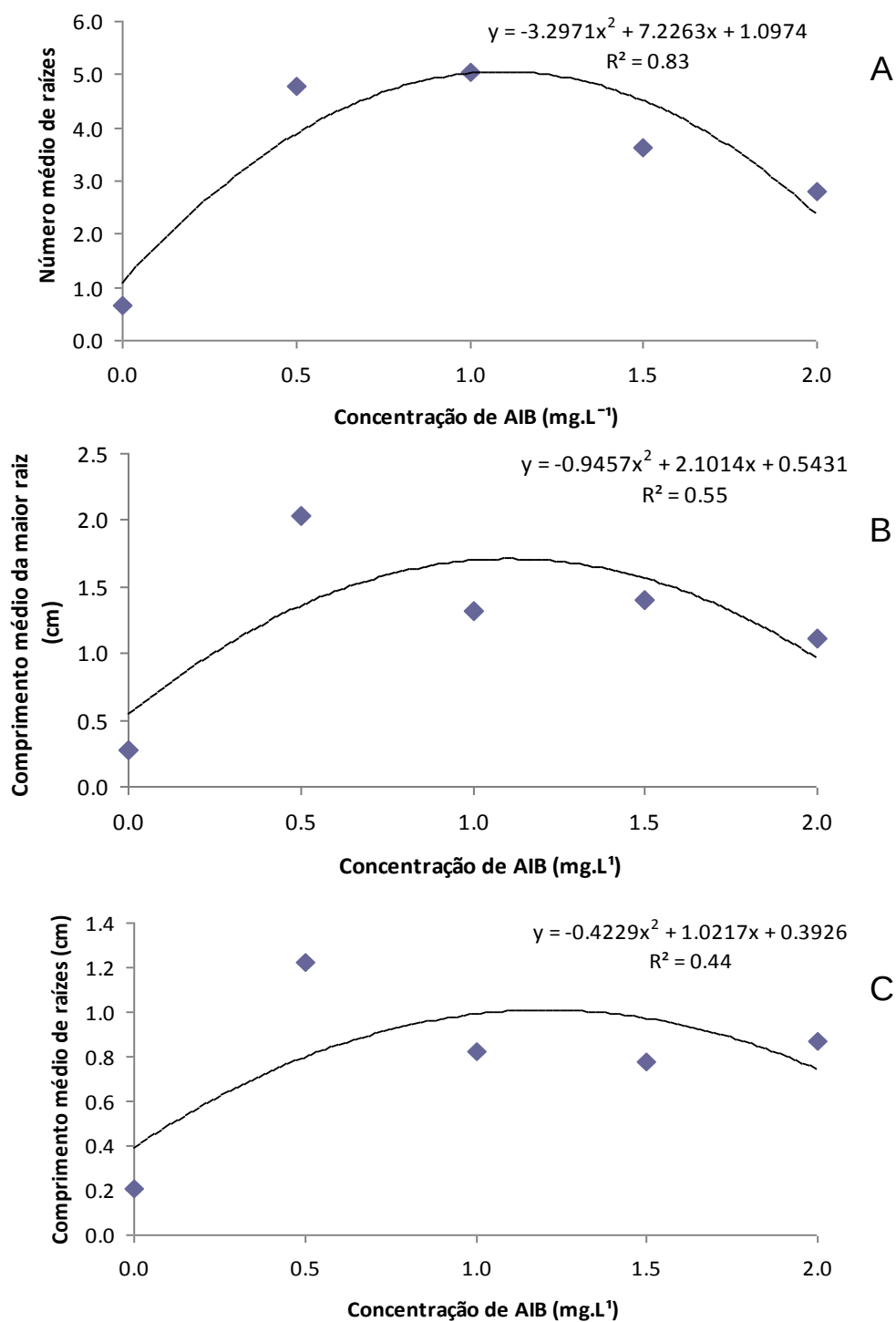


Figura 1 – Número médio de raízes (A), comprimento médio da maior raiz (B) e comprimento médio de raízes (C) de framboeseira 'Fall Gold' com o uso de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). CAV/UDESC, Lages (2013).



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Conclusão

O enraizamento *in vitro* de segmentos nodais de framboeseira 'Fall Gold' pode ser realizado em meio de cultivo MS acrescido de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB.

Referências

- AUGUSTO, C. S. S. et al. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de amoreira-preta cv. Brazos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, dez. 2006.
- BOBROWSKI, V. et al. Micropropagation of blackberries (*Rubus* sp.) cultivars. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 2, n. 1, p. 17-20, jan/abr. 1996.
- 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, v.1, 1998. p.183-260.
- LEITZKE, L.N. et al. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amora-preta e framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.2, p.582-587, jun. 2009.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.
- MOURA, P. H. A. et al. Fenologia e produção de cultivares de framboeseiras em regiões subtropicais no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n.12, p. 1714-1721, dez. 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NAJAF-ABADI, A. J.; HAMIDOGHLI, Y. Micropropagation of thornless trailing blackberry (*Rubus* sp.) by axillary bud explants. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 3, n. 4, p. 191-194, 2009.
- RADMANN, E. B. et al. Concentrações de ácido indolbutírico e períodos de escuro, no enraizamento "in vitro" de amoreira-preta (*Rubus* sp.), cv. ébano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n.1, p. 124-126, abr. 2003.
- RASEIRA, M. C. et al. **Aspectos técnicos da cultura da framboeseira**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 22 p. (Embrapa Clima Temperado. Documento, 120).
- VILLA, F. et al. Crescimento in vitro de amoreira-preta: efeito de reguladores de crescimento e da cultivar. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n.6, p. 1754-1759, nov/dez. 2008.



ESTABELECIMENTO *in vitro* DE PEREIRA CV. 'CASCATENSE' COM A UTILIZAÇÃO DE PPM™.

GONÇALVES, M. J.¹; WEBER, G.C.²; MENEGUZZI, A.^{3*}; GRIMALDI, F.¹; PELLIZA, T.R.⁴; RUFATO, L.⁵

¹ Bióloga, Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

² Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

³ Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil. * E-mail: alinemeneguzzi@yahoo.com.br.

⁴ Eng. Agr., Bolsista PRODOC/CAPES, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

⁵ Eng. Agr., Doutor, Professor adjunto do Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar a contaminação fúngica e bacteriana e a sobrevivência de explantes mediante diferentes locais de origem do material propagativo (viveiro e Fitotron®) e diferentes doses de PPM™ no meio de cultura (0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mg.L⁻¹). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em um esquema fatorial 2x5. Entre os locais de origem dos explantes, o viveiro foi o que apresentou maior contaminação. Entre as concentrações de PPM™ utilizadas as maiores doses apresentaram menor contaminação fúngica e bacteriana porém menor sobrevivência. Para o estabelecimento *in vitro* de pereira cv. 'Cascatense' recomenda-se doses intermediárias de PPM™ para controle da contaminação sem prejudicar a sobrevivência dos explantes.

Palavras-chave: Cultura de tecidos. Cascatense. PPM™.

Introdução

A cultura da pereira apresenta grande potencial de expansão no sul do Brasil, podendo aproveitar a infra-estrutura de processamento e armazenagem já instaladas para a



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



cultura da macieira, sendo portanto, uma opção para a diversificação da fruticultura (RIBEIRO et al., 1991). Desta forma, a produção de mudas assume papel imprescindível na melhoria destes fatores, considerando que há grande deficiência no Brasil, e um dos maiores problemas está na falta de mudas sadias sobre portaenxertos promissores, para melhorar a produção frutícola. Assim, a produção de mudas através da micropropagação constitui-se num dos métodos de produção de mudas com uma série de vantagens sobre os métodos tradicionais (GEORGE & SHERRINGTON, 1984).

O principal objetivo da fruticultura é dispor de frutas com aparência uniforme, polpa de textura sucosa, doce, bom sabor e aroma (NAKASU, 2003). E para que este objetivo seja alcançado necessita-se primeiramente de infra-estrutura apropriada, mudas sadias e conhecimento tecnológico da cultura, tornando a produção eficiente e economicamente viável (HOFFMANN et al., 2005).

Na produção comercial de mudas frutíferas utiliza-se comumente a propagação assexuada, ou seja, por estruturas vegetativas, pois se deseja manter as características agrônômicas da planta-matriz (ASSIS & TEIXEIRA, 1998), assim, cita-se a micropropagação como método para obtenção de mudas sadias, em grande quantidade. Contudo, existem algumas limitações específicas que restringem o uso extensivo do cultivo de tecidos vegetais *in vitro*. Um dos maiores entraves está na dificuldade de obter tecidos livres de contaminação, principalmente por bactérias, pois nem sempre se pode eliminá-las com o uso de antibióticos. O uso de diferentes agentes germicidas é fundamental para redução da contaminação dos explantes durante o estabelecimento *in vitro* (CHAVES, 2005).

Um dos princípios básicos para o sucesso da cultura de tecidos é a utilização de material vegetal em condições assépticas e, conseqüentemente, controlar a contaminação microbiana (LEIFERT et al., 1991). Esta técnica normalmente proporciona um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos como: bactérias, leveduras e fungos filamentosos (DANTAS et al., 2002). Os microrganismos contaminantes competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura, eliminando no meio metabólitos tóxicos, podendo ocasionar a morte da plântula (MONTARROYOS, 2000).

O produto comercial PPMTM é um biocida de amplo espectro e tem sido utilizado com a finalidade de evitar o desenvolvimento de bactérias e células de fungos, impedindo a germinação de esporos e, em concentrações mais elevadas, eliminar a contaminação endógena dos explantes (PLANT CELL TECHNOLOGY, 2012).



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



O objetivo deste trabalho foi avaliar o estabelecimento *in vitro* de explantes de pereiras cv 'Cascatense' através da desinfestação com o uso de Plant Preservative Mixture (PPMTM).

Metodologia

O experimento foi conduzido no laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas de Clima Temperado, nas dependências do Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV/UEDESC, em Lages – SC. Segmentos nodais de *Pyrus communis* L. cv. 'Cascatense', obtidos de plantas provenientes de dois locais de origem, viveiro e Fitotron®, foram utilizados como explantes para estabelecimento *in vitro*.

Para estabelecimento *in vitro* foram testados locais de origem do material propagativo e doses de PPMTM. Os locais de origem do material propagativo foram Fitotron® e viveiro. As doses de PPMTM utilizadas foram 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹. O meio de cultura utilizado foi o QL modificado por Leblay (1991), sendo suplementado com 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 30 g.L⁻¹ de sacarose e 6 g.L⁻¹ de ágar e tiveram o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar. O meio de cultura foi distribuído em tubos de ensaio, sendo adicionados 15 mL de meio por tubo, e autoclavados à temperatura de 121°C durante 20 minutos.

Os segmentos a serem estabelecidos foram coletados e levados ao laboratório em recipientes com água. Foi realizada uma lavagem com água e detergente para uma desinfestação grosseira do material propagativo. Posteriormente os segmentos foram levados para câmara de fluxo laminar para desinfestação superficial com álcool (1') e hipoclorito de sódio + tween (5'). Após 3 enxágues foi feito o estabelecimento nos tubos de ensaio.

Após o estabelecimento, os explantes foram acondicionados em sala de crescimento, deixados no escuro por uma semana e posteriormente submetidos a um fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5, com 6 repetições por tratamento, sendo 4 tubos por repetição.

Após um período de 30 dias foram avaliadas contaminação fúngica, bacteriana e sobrevivência. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, empregando o programa *Statistical Analysis System* (SAS[®]) versão 9.1.. O fator qualitativo (local de



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



origem) teve suas médias comparadas através do teste de Tukey, com 5% de probabilidade de erro e para o fator quantitativo (doses de PPM™) foi ajustada uma equação de regressão polinomial.

Resultados e discussões

Para as variáveis contaminação fúngica, bacteriana e sobrevivência, houve diferenças significativas (Tabela 1). Quando comparado à contaminação fúngica entre Fitotron® e viveiro, observa-se que em Fitotron® a mesma foi nula. Para o percentual da contaminação bacteriana, verifica-se que a mesma foi maior em viveiro, no entanto, plantas acondicionadas em Fitotron® também apresentaram incidência, este fator pode estar relacionado com a dificuldade de controle por agente bactericidas, uma vez que a mesma pode ocorrer de forma endógena.

Tabela 1: Percentagem de explantes com contaminação fúngica e bacteriana e explantes sobreviventes obtidos de diferentes locais..

Local	Contaminação Fúngica	Contaminação Bacteriana	Explantes Sobreviventes
Fitotron®	0 b	1,15 b	47,43 a
Viveiro	10,87 a	4,29 a	28,81 b

Segundo Abreu et al. (2002), um dos maiores problemas diz respeito à contaminação bacteriana e fúngica; além dessas contaminações superficiais, é frequente se deparar com contaminações presentes no interior dos tecidos, conhecida como contaminação endógena, mais frequente em explantes derivados de plantas cultivadas no campo. A contaminação por bactérias acontece, geralmente, devido a contaminação endógena dos explantes e plântulas. A contaminação por fungo ocorre em virtude da deficiência na manipulação durante o subcultivo e à presença de esporos no ambiente onde o subcultivo é realizado. De acordo com Teixeira (2005) para minimizar essas contaminações é recomendável cultivar a planta, da qual serão coletados os explantes, em condições parcialmente controladas, como telados com cobertura plástica ou casa de vegetação. O cultivo de planta nesses ambientes permite maior controle da irrigação, adubação, controle de pragas e doenças.



Para as doses de PPM™ ajustou-se uma regressão onde a variável contaminação fúngica apresentou comportamento quadrático, ocorrendo uma redução da contaminação conforme se aumentou a concentração de PPM™ (Figura 1). Com relação a dose de PPM™, a dose mais alta (4 mg/l) apresentou maior eficiência no controle, no entanto menor sobrevivência. Trabalhos desenvolvidos por Joshee et al. (2007) relataram que a imersão de *C. asiatica* L. por 60 minutos em solução de PPM™ 2% antes do estabelecimento da cultura e suplementação dos meios nutritivos com 2 ml.L⁻¹ controlou contaminações fúngicas e bacterianas. De acordo com Jiménez et al. (2006), quando avaliaram diferentes produtos desinfestantes em *Guadua angustifolia* Kunth verificaram que, em materiais com origem de casa de vegetação, a ausência de PPM™ ao meio de cultura possibilitou contaminação maior que 50% nos explantes, enquanto que, com a adição de 2 ml.L⁻¹ ao meio nutritivo a desinfestação foi satisfatória.

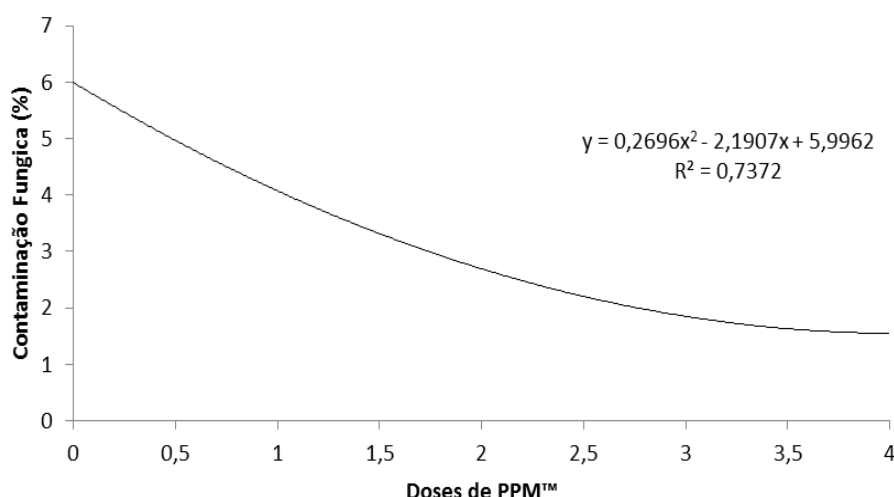


Figura 1: Contaminação fúngica em explantes de pereira cv. 'Cascatense' após 30 dias de cultivo *in vitro*.

A contaminação fúngica, assim como a bacteriana, também ocorreu com maior incidência nas gemas provenientes de plantas-matrizes do campo. Os resultados obtidos para contaminação bacteriana e fúngica eram esperados, pois o material oriundo do campo está continuamente em contato com contaminações superficiais, havendo maior inóculo de microrganismos, que ficam confinados na parte externa da planta matriz (GEORGE, 2008).

Por esta maior exposição aos contaminantes, o material oriundo do campo apresenta maiores dificuldades de desinfestação durante o isolamento (RODRIGUES et al., 1999). Já explantes oriundos de plantas-matrizes mantidas em casa de vegetação tem mais



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



facilidade de desinfestação, pois é possível ter um controle fisiológico e sanitário da planta matriz (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Para as doses de PPMTM ajustou-se uma regressão onde a variável contaminação bacteriana apresentou comportamento quadrático, onde a menor contaminação ocorreu com 2,97 ml.L⁻¹ de PPMTM (Figura 2).

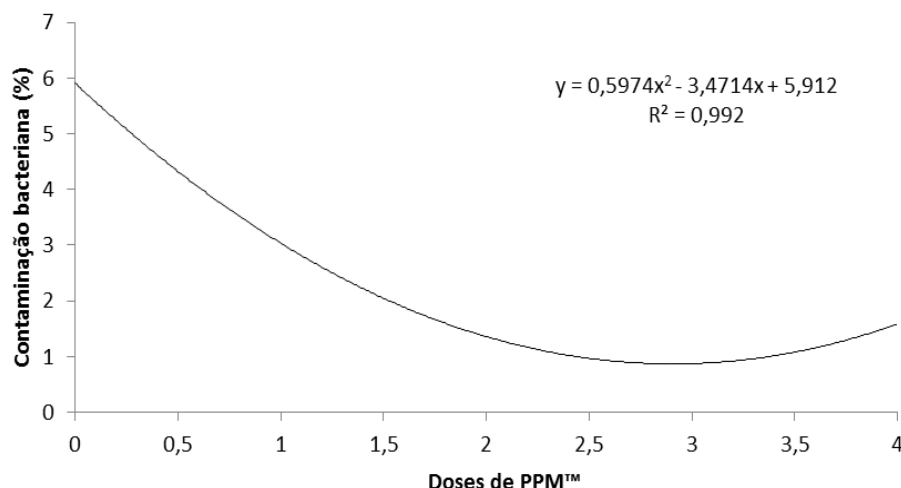


Figura 2: Contaminação bacteriana em explantes de pereira cv. 'Cascatense' após 30 dias de cultivos *in vitro*.

Para as doses de PPMTM ajustou-se uma regressão onde a variável sobrevivência apresentou comportamento linear decrescente, ocorrendo uma redução da contaminação conforme aumentou-se a concentração de PPMTM (Figura 3).

O principal inconveniente do uso do PPMTM está no alto índice de explantes oxidados, o que acarreta numa menor sobrevivência como pode ser observado nas doses 1; 2; e 4.0 mg-l (Tabela 1). Modgil et al. (1999) relatam que a oxidação fenólica é um dos sérios problemas que podem dificultar o estabelecimento inicial do cultivo *in vitro*, e segundo Grattapaglia & Machado (1998), esse problema é particularmente sério no isolamento de explantes de espécies lenhosas, cujos tecidos são mais ricos em compostos fenólicos, precursores da síntese de lignina.



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas

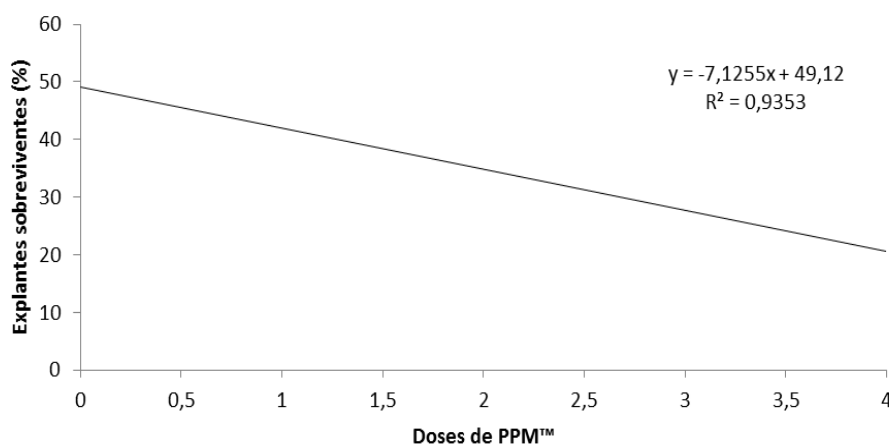


Figura 3: Explantes sobreviventes de pereira cv. 'Cascatense' após 30 dias de cultivos *in vitro*.

Conclusão

Para o estabelecimento *in vitro* de pereira cv. 'Cascatense' maiores concentrações de PPM™ é mais eficaz no controle da contaminação fúngica e bacteriana, porém observa-se que conforme se aumenta a dose de PPM™ menor é a sobrevivência dos explantes. Recomenda-se uma dose intermediária que controle a contaminação sem prejudicar a sobrevivência dos explantes.

Referências Bibliográficas

ABREU, L.A. et al. O uso de benomil em cultura de tecidos. In: Encontro de Talento Estudantil da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002, Brasília. **Resumo dos Trabalhos...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002.

ASSIS, T.F., TEIXEIRA S.L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S., BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998. Parte II, p.261-296.

CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 6, dez. 2005.

DANTAS, S.; OLIVEIRA, S.; CÂMARA, T. Contaminação microbiana no cultivo *in vitro* de plantas. In: LUZ, W. C. da (Org.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, 2002, v.10, 10 ed, p. 391-407.

GEORGE, E. F. Plant Tissue Culture Procedure – Background. In: GEORGE, E.F., HALL, M.A., DE KLERK, G.J. **Plant Propagation by Tissue Culture**. Dordrecht, 2008. p. 1-28.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. England: Exegetic Ltda, 1984, 709 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: ABCTP/EMBRAPA/CNPH, 1998. p. 183-260.

HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C. Infra-Estrutura para Propagação de Plantas Frutíferas. In: FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J.C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 2005. cap.1, p.13-44.

JIMÉNEZ, V. M. et al. In vitro propagation of the neotropical Giant Bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 86, p.389-395, 2006.

JOSHEE, N.; BISWAS, B.K.; YADAV, A.K. Somatic embryogenesis and plant development in *C. asiatica* L., a highly prized medicinal plant of the tropics. **HortScience**, v. 42, p. 633-637, 2007.

LEBLAY C., CHEVREAU E., RABOIN L. M. Adventitious shoot regeneration from in vitro leaves of several pear cultivars (*Pyrus communis* L.). **Plant Cell, tissue and organ culture**, v. 25, p. 99-105, 1991.

MODGIL, M.; SHARMA, D.R.; BHARDWAJ, S.V. Micropropagation of apple cv. Tydeman's Early Worcester. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.81, p.179-188, 1999.

MONTARROYOS, A.V.V. Contaminação in vitro. **ABCTP Notícias**. Brasília, n.36 e 37, p.5-10, 2000.

NAKASU, B.H. Introdução. In: QUEZADA, A.C., NAKASU, B.H., HERTER, F.G (Org.). **Pêra Produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, v.1, p.9.

PLANT CELL TECHNOLOGY. 2012. **Intructions**. Disponível em: <<http://www.ppm4plant-tc.com>>. Acesso em: 08 maio 2013.

RIBEIRO, P.A.; BRIGUENTI, E.; BERNARDI, J. Comportamento de algumas cultivares de pereira *Pyrus communis* L. e suas características nas condições do Planalto catarinense. Boletim Técnico n.56, Florianópolis, EMPASC, 1991. 53p.

RODRIGUES, A.C. et al. Estabelecimento in vitro de porta-enxertos de *Prunus* sp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.21, n.2, p.229-231, 1999.

SAS INSTITUTE. **SAS certification prep guide: base programming**. Cary, NC. v.6, 2004, 836 p.

TEIXEIRA, J.B. Limitações ao processo de cultivo in vitro de espécies lenhosas. **Brasília: Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, 2005.



ESTUDOS DE DESINFESTAÇÃO NO CULTIVO *IN VITRO* DE *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske

MINOZZO, M.M.¹; DA SILVA, P. D.²; STEFENON, V. M.³; VICTORIA, F.C.⁴

¹ Graduanda, Curso de Ciências Biológicas Bacharelado, Campus São Gabriel, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil. E-mail: monica.m.minozzo@gmail.com

² Graduando, Curso de Biotecnologia, Campus São Gabriel, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil.

³ Biólogo, Doutor, Professor Adjunto, Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Campus São Gabriel, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil.

⁴ Biólogo, Doutor, Colaborador do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Antártico de Pesquisas Ambientais, Campus São Gabriel, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil.

Resumo

As principais formações vegetais encontradas na Antártica são compostas por briófitas, líquens, algas e duas espécies de plantas vasculares, sendo os musgos um grupo que se destaca neste continente, em virtude da sua capacidade de sobreviver em condições ambientais extremas. Nessa região, o cultivo *in vitro* de musgos, a exemplo do *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske, é importante não só para observar o desenvolvimento nessas condições, como também para conservar indivíduos vivos *ex situ*. O objetivo deste trabalho foi propagar a espécie de forma viável, sem contaminações, para continuar os estudos mesmo durante o período que não há expedições para coleta na Antártica. O tratamento combinado com maior concentração de químicos, hipoclorito de sódio (NaClO) e álcool etílico hidratado 70° INPM (CH₃CH₂OH), foi o mais efetivo até o presente estudo, apesar de ter causado estresse na planta, é possível aperfeiçoar e definir um protocolo de desinfestação para explantes de *Sanionia uncinata* para que se torne viável o cultivo do explante de forma asséptica.

Palavras-chave: Antártica. Musgo. Amblystegiaceae. Contaminação.



Introdução

O continente Antártico é o mais meridional e um dos menores do mundo, com superfície de 14 milhões de quilômetros quadrados. A Antártica é uma das regiões mais frias e secas do planeta, além de apresentar maior média de altitude e índice de ventos fortes. A temperatura mais baixa da Terra (-89,2 °C) foi registrada na Antártica, sendo a temperatura média na costa, durante o verão, de apenas -10 °C; e no interior do continente de -40 °C. Ventanias com velocidades de aproximadamente 100 km/h são comuns e podem durar dias. Na Antártica o verão é curto e frio, com temperatura máxima em torno de 0 °C, ocorrendo, durante este período, incessantes chuvas e precipitação acentuada de neve (CYGAN, 1981, RAKUSA-SUSZCZEWSKI et al., 1993). Devido a estes fatores, o Continente Antártico possui uma diversidade de fauna e flora peculiar, sendo realizados projetos e estudos por diversos países do mundo, entre eles, o Brasil.

Substantial aumento no número de publicações com contribuição brasileira tem sido observada ao longo dos últimos 30 anos (STEFENON et al., 2012), com ênfase na área das Ciências Biológicas. Para Pereira Putzke (1994), as condições ambientais extremas da Antártica, em conjunto com as impostas pelo inverno escuro e prolongado, limitam a ocorrência de espécies vegetais na região, especialmente plantas com flor, uma vez que estas condições inibem o ciclo reprodutivo. A distribuição das comunidades vegetais e as formas de vida dos musgos da Antártica, conforme Putzke et al. (1995), dependem, especialmente da luz, uma vez que tem-se um período de verão com aproximadamente 20 horas/luz por dia e um período de inverno com apenas duas horas/dia de luz.

As briófitas estão entre os grupos menos estudados de plantas, sendo que, no Brasil, o percentual de espécies desta divisão chega a ser 5% do total de plantas conhecidas, no Chile este valor chega a 20% (LARRAÍN, 2012) e na Antártica chega a 25%, apesar de vastas áreas estarem recobertas basicamente por musgos. As principais formações vegetais encontradas na Antártica são compostas por briófitas, líquens, algas e duas espécies de plantas vasculares, sendo os musgos um grupo relevante para este continente, haja vista a sua capacidade de sobreviver em condições ambientais extremas. A *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske (Amblystegiaceae) cresce a sombra parcial, em locais úmidos, tais como rochas molhadas, terra úmida, madeira podre e sobre as raízes das árvores ou tocos. Assim, *Sanionia uncinata* se distribui por grande área da Antártida,



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



podendo também ser encontrados na Europa, Ásia, América do Norte e Groenlândia (OCHYRA, 1998). Como os demais musgos polares, esta espécie possui metabólitos secundários e, assim, pode ser importante fonte de agentes anti-oxidantes naturais, os quais possuem aplicações medicinais e na indústria de cosméticos (BHATTARAI et al., 2008), o que explica o aumento da necessidade de estudos desta espécie.

O cultivo *in vitro* de musgos é essencial não só para observar o desenvolvimento celular e molecular, mas também é importante para elucidar o papel dos primeiros estágios de desenvolvimento, e para conservar indivíduos vivos *ex situ* (BARANOSKI et al., 2010). Entretanto, para realizar a cultura de tecidos, onde o explante é isolado e cultivado sob condições de assepsia em meio nutritivo artificial, é necessário um conjunto de técnicas, tendo início com a desinfestação dos explantes e o seu estabelecimento *in vitro*. No caso da *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske, encontrou-se dificuldade na realização desse procedimento, pois este musgo abrangente, principalmente, áreas de circulação de animais, o que torna maior as chances de serem contaminados por patógenos externos. Além disso, os fungos e as bactérias podem ser endossimbióticos do vegetal, sendo assim, após a a desinfestação dos explantes muitos microorganismos endógenos não são expostos aos produtos desinfestantes (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; ESPOSITO-POLESI, 2011).

Este trabalho objetivou testar o cultivo *in vitro* de *Sanionia uncinata*, em uma câmara de germinação (BOD), para que se possa continuar os trabalhos mesmo durante o período que não há expedições do grupo para coleta na Antártica. Considerando os locais onde foram coletadas, se fez necessário procedimentos para desinfetar as amostras, onde foram observados grandes contaminações por bactérias e fungos, tornando também como objetivo, uma possível desinfestação das amostras que garantisse a viabilidade da mesma.

Metodologia

Os gametófitos de *Sanionia uncinata* foram selecionados de forma aleatória e lavados com água destilada, para a retirada do excesso de material orgânico agregado, e excisados em explantes com x de comprimento. Foram utilizados como agentes químicos desinfetantes o hipoclorito de sódio (NaClO), álcool etílico hidratado 70° INPM ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), tetraciclina e amoxicilina, variando a concentração e o tempo de acordo com o desinfetante em questão.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Para um litro de meio AAS₃₀ foram utilizados 6,5g de ágar (Vertec), 30g de sacarose e um litro de água destilada, com cozimento em placa aquecedora com agitação. Após, o meio de cultivo foi autoclavado durante 17 minutos sob temperatura de 121 °C e pressão de 1,2 atm, conforme descrito por Da Silva et al. (2012), é uma alternativa eficiente, rápida e simples para identificar a presença de contaminação em explantes previamente ao seu cultivo em meios específicos, comparando o mesmo com o meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Cada placa continha 15 ml de meio AAS₃₀.

Foram realizados 22 tratamentos, divididos por grupos de acordo com os produtos desinfetantes e o tempo de imersão. Para cada grupo havia um tratamento controle. Foram colocados cinco explantes por placa, sendo três placas por tratamento, totalizando quinze explantes por tratamento, incluindo mais quinze para cada tratamento controle, no qual as amostras apenas foram lavadas com água destilada e inoculadas no mesmo meio. Os tratamentos utilizados foram: 1) imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) nas concentrações de 0,625, 0,312 e 0,156% durante 1, 3 e 5 minutos; 2) imersão em álcool etílico hidratado 70° INPM (CH₃CH₂OH) por 20, 40 e 60 segundos; 3) imersão em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nas concentrações de 3,0 e 1,5% durante 5, 10 e 15 minutos; 4) 0,02 mg/mL tetraciclina (I); e 5) 0,02 mg/mL amoxicilina (J). Com base nos dados encontrados nos tratamentos anteriormente descritos, realizou-se o tratamento combinado de hipoclorito de sódio à 0,625% e álcool 70%, sendo 3 minutos de hipoclorito de sódio 0,625% com 40 segundos de álcool 70% e 15 minutos de hipoclorito de sódio 0,625% com 5 minutos de álcool 70%.

As placas foram mantidas em câmara de germinação (BOD) e analisadas durante 30 dias quanto à resistência do explante, contaminação fúngica e contaminação bacteriana de cada explante.

Resultados e discussões

Para os testes de desinfestação, foi utilizado o teste Qui-quadrado (χ^2) (Tabela 1) para verificar se houve diferença entre as amostras desinfestadas com o tratamento controle. Sendo assim, encontrou-se uma diferença significativa, considerando o valor de qui-quadrado ($p < 0,05$).

Hipoclorito de sódio:



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



	1 minuto	3 minutos	5 minutos
0,625%	p=0,046365834	p=0,000253	p=0,002869
0,312%	p=0,046365834	p=0,008	p=0,002869
0,156%	p=0,195321188	p=0,008	p=0,000913

Álcool:

	20 segundos	40 segundos	60 segundos
70%	0,067889	0,000957	TC

Amoxicilina 0,02 mg/mL misturado ao meio obteve $p = 0,046366$.

Combinado de hipoclorito de sódio e álcool:

	3min NaClO 0,625% + 40s álcool 70%	15min NaClO 0,625% + 5min álcool 70%
Hipoclorito de sódio 0,625% e álcool 70%	0,020137	0,0000167035

Os tratamentos que continham hipoclorito de sódio foram os mais efetivos, dos quais o hipoclorito de sódio na concentração de 0,625% durante 3 minutos não teve ocorrência de contaminação por fungos, sendo o mesmo observado no tratamento com álcool 70% durante 40 segundos, apesar de ser o único que teve valor significativo. Assim, analisando o tratamento combinado com os dois agentes hipoclorito de sódio e álcool, considerando o tratamento com hipoclorito de sódio a 0,625% durante 3 minutos e álcool a 70% durante 40 segundos ideal, e hipoclorito de sódio a 0,625% durante 5 minutos e álcool a 70% durante 5 minutos como um extremo para testar a resistência da planta aos agentes, ambos foram muito efetivos, mas com o tratamento extremo com maior tempo de ação dos agentes químicos obteve-se o maior desinfestação, porém, foi verificado que este leva a planta a estresse, onde é necessário um tempo maior de análise para comprovar se esta irá reagir aos tratamentos de modo que mantenha a desinfestação.

Visto que os tratamentos com água oxigenada não foram eficazes para desinfestação fúngica e bacteriana, não foram considerados estes nos resultados finais. O mesmo ocorreu com o tratamento com tetraciclina, que apesar deste produto ser



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



considerado um bactericida, não permitiu a inibição de contaminação bacteriana nos explantes.

Conclusão

Apesar de fragilizar o material vegetal, o tratamento combinado com maior concentração de químicos é o mais efetivo. Estudos adicionais se fazem necessários, possibilitando aperfeiçoar e definir um protocolo de desinfestação para explantes de *Sanionia uncinata* e o estabelecimento *in vitro* dessa espécie.

Referências

- BHATTARAI, H. D.; PAUDEL, B.; LEE, H. S.; LEE, Y. K.; YIM, J. H. **Antioxidant Activity of *Sanionia uncinata*, a Polar Moss Species from King George Island, Antarctica.** *Phytother. Res.* 22, 1635–1639, 2008.
- CYGAN, B. **Characteristics of meteorological conditions at the Arctowski Station during the summer season of 1979/1980.** *Pol Polar Res* 2:35-46. 1981.
- ESPOSITO-POLESI, N. P. **Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas.** *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v.9, n.4, p.533-541, out/dez 2011.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. **Micropropagação.** In: TORRES, A.C. ; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultivo de tecidos e transformação de plantas.** Brasília: Setor Produção de Informação/Embrapa-Centro Brasileiro Argentino de Biotecnologia; 1998. v.1, p.183-260.
- HUTTUNEN, S.; LAPPALAINEN, N.M.; TURUNEN, J. **UV-absorbing compounds in subarctic herbarium bryophytes.** *Environ Pollut* 133: 303–314. 2005.
- OCHYRA, R.; BEDNAREK-OCHYRA, H.; LEWIS-SMITH, R.I. **170 years of research of the Antarctic moss flora.** In: Glowacki P, Bednarek J. (eds), *Polish Polar Studies*. Institute of Geophysics of the Polish Academy of Sciences, Warszawa, 159–177. 1998.
- PEREIRA, A. B.; PUTZKE, J. **Floristic composition of Stinker Point, Elephant Island, Antarctica.** *Kor. J. Polar Res.* 5(2): 37-47. 1994.
- PUTZKE, J.; PUTZKE, M.T.L.; PEREIRA, A.B. **Moss communities of Rip Point in Northern Nelson Island, South Shetland Islands, Antarctica.** *Polar Biology*, 2: 20-40. 1995.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. MIETUS, M.; PIASECKI, J. **Weather And Climate**. In: Rakusa-Suszczewski, S. (ed.) **The maritime Antarctic coastal ecosystem of Admiralty Bay**. Warsaw, Polskiej Akademii Nauk, p.19–25. 1993.

ROZEMA, J.; NOORDIJK, A.J.; BROEKMAN, R.A.; VAN BEEM, A.; MEIJKAMP, B.M.; DE BAKKER, N.V.J.; VAN DE STAAIJ, J.W.M.; STROETENGA, M.; BOHNCKE, S.J.P.; KONERT, M.; KARS, S.; PEAT, H.; SMITH, RIL.; CONVEY, P. **Polyphenolic compounds in pollen and spores of Antarctic plants as indicators of solar UV-B**. *Plant Ecol* **154**: 11–26. 2001.

STEFENON, V.M.; ROESCH, L.F.W.; PEREIRA, A.B. **Thirty years of Brazilian research in Antarctica: ups, downs and perspectives**. *Scientometrics* (on line first). doi: 10.1007/s11192-012-0809-3. 2012.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



MICROPROPAGAÇÃO DE *Solidago chilensis* MEYEN (ASTERACEAE)

LÖBLER, L.^{1*}; ROCHA, B.N.¹; BERTÊ, R.¹; LUCHO, S.R.¹; RICHTER, G.²; ZULIANI, A.J.B.²; PARANHOS, J.T.³.

¹ Bióloga, Mestranda, Programa de Pós graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: lisilobler@yahoo.com.br

² Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Engenheira Agrônoma, Doutora, Professora Associada I do Programa de Pós graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O estudo teve por objetivo avaliar a propagação vegetativa da espécie *Solidago chilensis* por micropropagação. Segmentos apicais e nodais passaram por assepsia, foram inoculados em meio de cultura Murashige e Skoog (MS) 100%, com 30 g L⁻¹ de sacarose, 6,0 g L⁻¹ de ágar e 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado, acrescido ou não de 2,0 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP) + 0,2 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA). As culturas foram mantidas em sala de crescimento a $\pm$ 25°C com fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo os tratamentos arranjados em um fatorial 2 x 2 (tipo de segmento e uma combinação de fitohormônio). O tratamento formado por segmentos nodais inoculados em meio de cultura contendo 2,0 mg L⁻¹ de BAP + 0,2 mg L⁻¹ de ANA forneceu 49% de plantas regeneradas e 37,24% de sobrevivência na aclimatização. O segmento nodal apresentou maior número de brotos (1,37) e folhas (7,80) se comparado ao segmento apical. A micropropagação de *Solidago chilensis* pode ser realizada a partir de segmentos nodais inoculados em meio de cultura contendo a combinação 2,0 + 0,2 mg L⁻¹ dos fitorreguladores BAP e ANA, respectivamente.

Palavras-chave: Erva-lanceta. Propagação *in vitro*. Fitohormônios.

Introdução

Pesquisas sobre a propagação vegetativa de espécies medicinais são importantes, servindo de base para o conhecimento e aprimoramento do cultivo dessas plantas, bem como na manutenção das características genéticas da planta matriz. Entre as espécies



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



medicinais, encontra-se a *Solidago chilensis* (Asteraceae), conhecida popularmente como erva-lanceta ou arnica, de característica sublenhosa, rizomatosa, com altura de aproximadamente um metro, que cresce, principalmente, em beira de estradas e terrenos baldios (LORENZI e MATOS, 2008).

Dentre as técnicas utilizadas na propagação vegetativa, a micropropagação *in vitro* possibilita a obtenção de elevado número de plantas com adequadas condições fitossanitárias em curto período de tempo e espaço reduzido (KITTO, 1997; GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A micropropagação via organogênese direta, segundo esses autores, é a técnica de maior aplicabilidade da cultura de tecidos, possibilitando a multiplicação de elevada quantidade de plantas uniformes.

Segundo Hartmann et al. (2002), as características genéticas e epigenéticas da planta matriz, seu condicionamento fisiológico e o controle de patógenos nas condições *in vitro* são relevantes na otimização do estabelecimento de uma cultura. A formulação do meio de cultura é essencial para o cultivo *in vitro*, pois é composto por nutrientes necessários para seu desenvolvimento, podendo apresentar diferentes formulações de acordo com o requerimento de cada espécie (FARIA et al., 2002). Quando acrescentados fitohormônios ao meio de cultura, conforme Cid e Teixeira (2010), as auxinas e citocininas, em formas naturais ou sintéticas, são mais frequentemente utilizadas.

Um número expressivo de espécies vegetais micropropagadas *in vitro* não sobrevive quando transferidas das condições *in vitro* para ambiente de casa de vegetação ou campo (HAZARIKA, 2003). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), 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.

Tendo em vista a escassez de pesquisas sobre a propagação vegetativa *in vitro* de *Solidago chilensis*, o objetivo do estudo foi estabelecer um protocolo de micropropagação *in vitro* para essa espécie.

Material e métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais pertencente ao Departamento de Biologia, Centro de Ciências naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS. Ramos oriundos de plantas



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



cultivadas em casa de vegetação foram coletados e lavados em água corrente por, aproximadamente, dois minutos, transferidos para um litro de água destilada contendo 10 gotas de hipoclorito de sódio (NaClO) 11% e, em seguida, submetidos a enxágue em água destilada. Após, em câmara de fluxo laminar, os ramos foram seccionados em segmentos apical e nodal, com cerca de 1 cm de tamanho, e tratados com etanol 70% por 30 segundos, seguido de hipoclorito de sódio 1,0% durante cinco minutos e três lavagens em água destilada e esterilizada. Os segmentos apical e nodal foram inoculados em meio de cultura Murashige e Skoog (MS) 100%, com 30 g L⁻¹ de sacarose, 6,0 g L⁻¹ de ágar e 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado, acrescido ou não de 2,0 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP) + 0,2 mg L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA). O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Logo em seguida, foi acrescentado 1 g L⁻¹ de carvão ativado a este meio.

Os tubos contendo os segmentos permaneceram em sala de crescimento a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob escuro contínuo durante cinco dias e, após, foram transferidos para sala de crescimento a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 16 horas (R.F.A. de $\sim 36\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2 (tipo de segmento e presença de fitohormônio), totalizando quatro tratamentos compostos por seis repetições, sendo cada repetição constituída por 25 frascos, contendo um segmento cada.

Aos 40 dias após a inoculação foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de plantas completas regeneradas, número de brotos, folhas e raízes, comprimento da maior raiz (cm), altura da parte aérea (cm) e oxidação dos segmentos (%). Após, as plantas micropropagadas foram transferidas para copos plásticos (400 mL) contendo substrato Plantmax® + vermiculita na proporção 2:1 e cobertos por copos transparentes com quatro perfurações na base. As plantas foram cultivadas em sala de crescimento a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 16 horas (R.F.A. de $\sim 36\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), recebendo irrigação diária com água destilada. Aos 50 dias, os copos foram totalmente removidos e ao final da aclimatização (120 dias de cultivo) foi avaliada a porcentagem de sobrevivência.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo transformados quando necessário. A análise de comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro utilizando-se o software SOC (EMBRAPA, 1997).

Resultados e discussão

Na Tabela 1 são demonstradas as respostas obtidas *in vitro* e os parâmetros de crescimento avaliados, não ocorrendo interação entre os fatores tipo de segmento e



presença de fitohormônio no meio de cultura. A porcentagem de plantas regeneradas foi significativamente superior (49,33%) nos segmentos inoculados em meio de cultura contendo a combinação 2,0 mg L⁻¹ de BAP e 0,2 mg L⁻¹ de ANA em relação ao meio de cultura sem a presença de fitorreguladores, independente do tipo de segmento utilizado. Resultados similares foram encontrados para espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart., Celastraceae), nos quais foi observado maiores percentuais de regeneração quando acrescido BAP ao meio de cultura, sendo encontrado 42% de regeneração dos segmentos nodais e 37% dos apicais, independente do tipo de segmento (FLORES et al., 1998).

Diversos estudos têm mostrado que a citocinina benzilaminopurina (BAP) possui elevada eficácia na indução e desenvolvimento de brotos (OLIVEIRA et al., 2011; LI et al., 2012; LIMA et al., 2012). Satisfatórias indução de brotos também foram observadas em segmentos cultivados em meio de cultura contendo combinações de BAP e ANA, a exemplo dos resultados obtidos Li et al. (2012), os quais constataram que a combinação de 1,0 mg L⁻¹ BAP e 0,1 mg L⁻¹ de ANA acrescentada ao meio MS favoreceu a multiplicação de mudas a partir de segmentos nodais de *Solidago canadensis* L.

O segmento nodal apresentou médias superiores de brotos (1,37) e folhas (7,80), não diferindo nas demais variáveis de crescimento avaliadas (Tabela 1). A menor emissão de brotos nos segmentos apicais em relação aos nodais ocorreu, possivelmente, em função da dominância da gema apical regulada pelo fitormônio auxina, que ocorre no segmento apical.

Tabela 1 – Plantas propagadas *in vitro* e variáveis de crescimento obtidas a partir de dois tipos de segmentos, submetidos a ausência ou presença dos fitorreguladores benzilaminopurina (BAP) e ácido naftaleno acético (ANA), utilizando-se quatro tratamentos, cada um composto por seis repetições, constituídas de 25 frascos cada. Santa Maria – RS (2012).

Variáveis	Tipo de segmento		Fitorreguladores mg L ⁻¹	
	Apical	Nodal	sem fitohormônio	2,0 BAP + 0,2 ANA
Regeneração de plantas (%)	26,00 a*	33,33 a	10,00 b	49,33 a
Brotos (nº)	0,76 b	1,37 a	0,40 b	1,73 a
Folhas (nº)	4,17 b	7,80 a	2,16 b	9,81 a
Comprimento da maior raiz (cm)	1,58 a	1,64 a	0,50 b	2,71 a
Altura da parte aérea (cm)	1,14 a	1,44 a	0,31 b	2,28 a

*Médias seguidas pela mesma letra na linha para cada fator não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Na Tabela 2, ocorreu interação entre os fatores, sendo observado que para a variável número de raízes, não houve diferença estatística entre os segmentos apical e nodal cultivados em meio de cultura contendo ou não BAP e ANA, porém, a combinação dos fitorreguladores ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP + $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ANA) contribuiu significativamente para que os segmentos apical e nodal formassem números superiores de raízes, com 2,56 e 2,10 respectivamente. O enraizamento adventício envolve a conjugação de auxinas endógenas e exógenas, por isso, quando a espécie possui uma concentração interna adequada de auxina a conjugação com fitorreguladores como ANA ou AIB, por determinados períodos, entre dez e vinte dias, aproximadamente, é suficiente para induzir a formação de raiz *in vitro* (SOUZA et al., 2011). Em vários estudos, a utilização de auxina foi fundamental na formação de raízes nos segmentos (BERTONI et al., 2006; SOUZA et al., 2011).

O percentual de oxidação mais elevado ocorreu nos segmentos apicais (20,66%), tanto na ausência como na presença dos fitorreguladores (Tabela 2). O fato de a oxidação ter sido mais elevada no segmento apical, possivelmente, ocorreu por esse apresentar maior sensibilidade aos danos físicos durante o seccionamento dos mesmos. A oxidação fenólica dificulta o estabelecimento do cultivo *in vitro*, podendo comprometer ou inviabilizar o desenvolvimento *in vitro* de diversas espécies. Foi constatada redução significativa na taxa de oxidação nos tratamentos contendo os fitorreguladores BAP e ANA, sendo observado benefícios desses fitorreguladores no controle da ocorrência de oxidação.

O sucesso do estabelecimento de um protocolo eficiente para a micropropagação *in vitro* de plantas depende da sobrevivência e desempenho das mesmas, quando submetidas às condições *ex vitro*. Neste estudo, após 120 dias de aclimatização, as plântulas apresentaram percentuais de sobrevivência de 12,5% (tratamento 1), 27,8% (tratamento 2), 26,3% (tratamento 3) e 37,2% (tratamento 4), não diferindo significativamente entre si. Entretanto, as plantas regeneradas *in vitro* a partir de segmentos nodais cultivados em meio de cultura contendo $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP + $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ANA (tratamento 4) tiveram percentual de sobrevivência três vezes maior do que as plantas oriundas de segmentos apicais cultivadas em meio de cultura sem fitorreguladores (tratamento 1).

Tabela 2 – Número de raízes e porcentagem de oxidação em segmentos apicais e nodais de ramos aéreos de *Solidago chilensis*, cultivados em meio MS completo (Murashige e Skoog, 1962), acrescido ou não da combinação dos fitorreguladores BAP (benzilaminopurina) e ANA (ácido naftaleno acético). Os fatores constituíram quatro tratamentos, cada um com seis repetições, constituídas de 25 frascos cada. Santa Maria – RS (2012).



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Tipo de segmento	Fitorreguladores (mg L ⁻¹)	
	sem fitohormônio	2,0 BAP + 0,2 ANA
	Raízes (nº)	
Apical	0,12 aB*	2,56 aA
Nodal	0,61 aB	2,10 aA
	Oxidação (%)	
Apical	20,66 aA	5,83 aB
Nodal	10,66 bA	0,50 bB

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Conclusão

Segmentos nodais inoculados em meio de cultura MS acrescido de 2,0 mg L⁻¹ de BAP combinado com 0,2 mg L⁻¹ de ANA favorece a micropropagação *in vitro* de *Solidago chilensis*.

Referências

- BERTONI, B. W. et al. Micropropagação de *Calendula officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 48-54, 2006.
- CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID, L. P. B. **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF, 2010. p. 15-49.
- EMBRAPA. SOC: Ambiente de software NTIA, versão 4.2.2: **Manual do usuário**: ferramental estatístico. Campinas, 1997. 258 p.
- FARIA, R. T. et al. Preservation of the Brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 2, n. 3, p. 489-492, 2002.
- FLORES, R. et al. Regeneração *in vitro* de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n. 3, p. 2001-2005, 1998.
- 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, v. 1, 1998. p. 43-76.
- HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation**: principles and practices. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002.
- HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Stamford, v. 85, n. 12, p. 1704-1712, 2003.



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



KITTO, S. L. Comercial Micropropagation. **Hortscience**, v. 32, n. 6, p. 1012-1016, 1997.

LI, J. et al. Propagation of goldenrod (*Solidago canadensis* L.) from leaf and nodal explants. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 81, n. 1, p. 53-60, 2012.

LIMA, C. O. de C. et al. Organogênese direta de *Orthophytum mucugense*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 249-254, fev. 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, July 1962.

OLIVEIRA, T. G. de. et al. Micropropagação de *Croton antisiphiliticus* Mart. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1712-1718, out. 2011.

SOUZA, A. V. et al. Micropropagação de *Dioscorea multiflora* Griseb. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 92-98, 2011.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DE *Physalis Peruviana* L. COM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE BAP

MENEGUZZI, A.^{1*}; GRIMALDI, F.² GONÇALVES, M. J.² KUSTER, L.³ WEBER, G. C.³
KRETZSCHMAR, A. A.⁴

¹ Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil. * E-mail: alinemeneguzzi@yahoo.com.br.

² Bióloga, Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

³ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

⁴ Agrônoma, Doutora, Professora adjunto do Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dois meios de cultura e diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. O experimento foi conduzido no laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas de Clima Temperado, nas dependências do Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV/UEDESC, em Lages – SC. Os tratamentos consistiam da utilização dos meios de culturas MS e QL modificado por Leblay e da adição de BAP nas concentrações de 0; 0,5; 1,5; 2,5 e 3,5 mg L⁻¹. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2x5. Após período de 45 dias, foram avaliados o número de brotos, gemas e folhas e o comprimento dos brotos. O aumento no número de brotos é proporcional à concentração de BAP utilizada. O maior número de folhas foi obtido com a concentração de 2,1 mg L⁻¹ de BAP. Para a multiplicação *in vitro* de *P. peruviana* recomenda-se o meio QL modificado por Leblay (1991).

Palavras-chave: Cultura de tecidos. *Fisalis*. Multiplicação *in vitro*. Citocinina.

Introdução

O cultivo de pequenas frutas no Brasil tem despertado a atenção de produtores, comerciantes e consumidores, especialmente nos últimos anos. A inserção das pequenas frutas, como atividade econômica, é ainda incipiente e inovadora, caracterizando-se, de modo geral, pelo baixo custo de implantação e de produção, por ser acessível aos pequenos produtores, por possibilitar bom retorno econômico em curto prazo, pela boa adaptação às condições socioeconômicas e ao ambiente local, pela possibilidade de cultivo



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



no sistema orgânico e pela demanda de pequenas frutas ser maior do que a oferta (POLTRONIERI, 2003).

Uma cultura promissora dentro de pequenas frutas é a da *Physalis peruviana* L., pertencente à família Solanaceae, que é originária da Amazônia e dos Andes, possuindo variedades cultivadas na América, Europa e Ásia. O maior produtor mundial de *P. peruviana* é a Colômbia, produzindo 11.500 toneladas de frutos por ano, porém, apenas 50% dessa produção são destinadas à exportação, o restante é utilizado para outras finalidades, como produtos desidratados, pois o fruto não atinge o tamanho padrão para exportação (CASTRO et al., 2008).

Em relação aos métodos de propagação desta espécie pode-se citar a obtenção de mudas por sementes, estacas e a micropropagação, que possibilita a obtenção mudas saudáveis e em grande quantidade (RODRIGUES et al., 2013). A propagação *in vitro* se divide em três principais estágios de desenvolvimento: estabelecimento, multiplicação e enraizamento *in vitro* dos explantes. Na fase de multiplicação *in vitro*, o objetivo principal é produzir o maior número possível de plantas, no menor espaço de tempo, embora alguns aspectos importantes como qualidade e homogeneidade das partes aéreas produzidas devem ser considerados (CHAVES, 2005).

Para a multiplicação *in vitro*, se faz necessária a utilização de meio apropriado que forneça a quantidade de nutrientes requeridos pela espécie, bem como a escolha da concentração e tipo de fitohormônio que potencialize o processo de multiplicação (RODRIGUES et al., 2013). A citocinina é indispensável nesta fase para a quebra da dominância apical e a indução da proliferação de gemas axilares (HU e WANG, 1983). Segundo Schuch e Erig (2005), as concentrações de citocininas para a multiplicação estão entre 0,1 e 5,0mg L⁻¹, e entre as citocininas comercialmente disponíveis, a benzilaminopurina (BAP), geralmente, apresenta melhores resultados.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de dois meios de cultura e diferentes concentrações de BAP na multiplicação *in vitro* de *P. peruviana*.

Metodologia

O experimento foi conduzido no laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas de Clima Temperado, nas dependências do Centro de Ciências Agroveterinárias -



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



CAV/UEDESC, em Lages – SC. Segmentos caulinares de *Physalis peruviana* L., obtidos de plantas previamente estabelecidas *in vitro* foram utilizados como explantes.

Os tratamentos consistiam da utilização dos meios de culturas MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e QL modificado por Leblay (1991) e da adição de BAP nas concentrações de 0; 0,5; 1,5; 2,5 e 3,5 mg L⁻¹. Os meios de cultura foram suplementados com 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de ágar e tiveram o pH ajustado para 5,8 antes da colocação do ágar. Os meios de cultura foram distribuídos em frascos de 30 mL e autoclavados à temperatura de 121°C, durante 20 minutos.

Após a multiplicação, os explantes foram levados para sala de crescimento sob um fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5 (meios de culturas e concentrações de BAP), com cinco repetições por tratamento, sendo quatro explantes por frasco.

Após período de 45 dias, foram avaliados o número e o comprimento dos brotos, o números de gemas e de folhas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, empregando o programa SAS 9.1.3 (SAS Institute Inc., 2007). O fator qualitativo (meio de cultura) teve suas médias comparadas através do teste de Tukey, com 5% de probabilidade de erro e, para o fator quantitativo (concentração de BAP), foi ajustada equação de regressão polinomial.

Resultados e discussões

Para as variáveis número de brotos e número de folhas foram observadas diferenças significativas para o meio de cultura e concentração de BAP, sem interação significativa entre os mesmos. Para a variável número de brotos, o meio de cultura QL modificado por Leblay forneceu as melhores respostas, com média de 1,96 brotos por explante (Tabela 1). Para as doses de BAP, ajustou-se regressão, na qual a variável número de brotos apresentou comportamento linear crescente, sendo observado que o aumento na concentração de BAP acarretou o aumento do número de brotos por explante (Figura 1). Este resultado corrobora com Grattapaglia e Machado (1998), ao mencionarem que o BAP é comumente utilizado na faixa de 0,5 a 5,0 mg L⁻¹. O trabalho realizado por Chaves et al. (2005) com sementes de *Physalis peruviana* L. na multiplicação *in vitro* também demonstrou que, em doses crescentes de BAP, houve aumento na quantidade de brotos em meio MS^{3/4}.

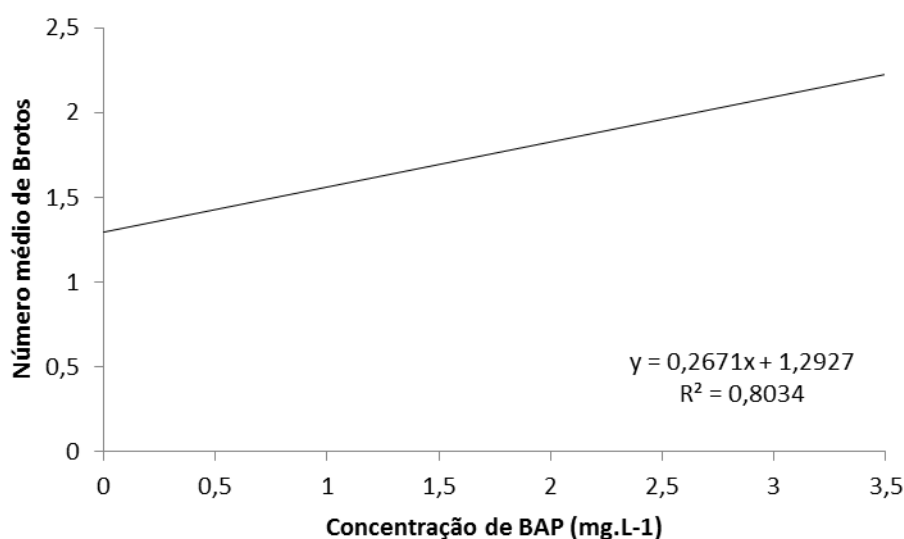


Figura 1 – Número médio de brotos em explantes de *Physalis peruviana* L. após 45 dias de cultivos *in vitro*.

Já para a variável número de folhas, o meio de cultura MS se mostrou superior ao meio de cultura QL modificado por Leblay (Tabela 1). Com relação às concentrações do hormônio, a variável apresentou tendência quadrática com maior número de folhas por explante quando utilizada a concentração de 2,1 mg L⁻¹ de BAP (Figura 2). Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos de multiplicação *in vitro* com pequenos frutos. Villa et al. (2005), estudando a cultivar Ébano de amora-preta, verificaram que o aumento no número de folhas foi estimulado em função do aumento na concentração de BAP, até um ponto de máximo, a partir do qual o número de folhas foi reduzido. Os autores citam, ainda, que este fato pode ser atribuído pela ação do fitohormônio em estimular a formação de brotos, porém, estes apresentam tamanho reduzido e menor número de folhas.

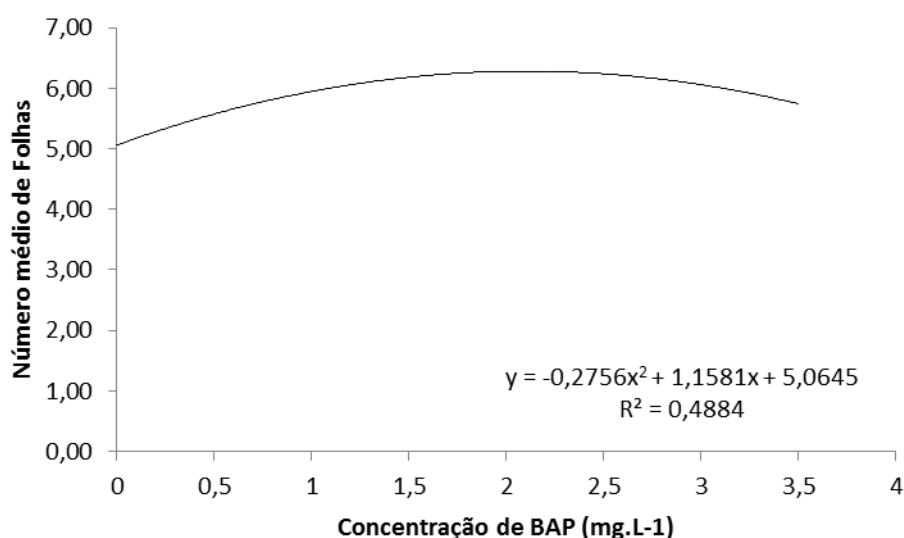


Figura 2 – Número médio de folhas em explantes de *Physalis peruviana* L. após 45 dias de cultivos *in vitro*.

A variável número de gemas foi influenciada somente pelo meio de cultura, sendo observado que o meio de cultura MS apresentou maior valor (6,52 gemas) se comparado ao meio de cultura QL modificado por Leblay (Tabela 1). No trabalho desenvolvido por Chaves et al. (2005), no qual avaliou-se o número de gemas de *P. peruviana*, constatou-se que houve comportamento quadrático nas concentrações de BAP utilizadas, atingindo o ponto de máximo na maior concentração testada (0,3mg L⁻¹ de BAP), com 7,69 gemas, e ponto de mínima na ausência deste fitohormônio (5,42 gemas). Segundo os mesmos autores, estes resultados podem ser explicados pelo encurtamento dos entrenós em função do aumento das concentrações de BAP. Conforme Leshen et al. (1988), esta característica pode ser um problema durante o processo de multiplicação *in vitro*, pois afeta o alongamento e torna-se um fator limitante na fase de enraizamento.

Tabela 1 – Influência dos meios de culturas no número médio de brotos, número médio de folhas e número médio de gemas de explantes *in vitro* de *P. peruviana* L. Lages, SC, 2013.

Meio	Número de brotos	Número de folhas	Número de gemas
QL	1,96 A	5,16 B	5,16 B
MS	1,48 B	6,36 A	6,52 A
Cv	29,64 %	33,34 %	30,34 %



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



De acordo com a análise de variância, para a variável comprimento de brotos houve interação entre o meio de cultura e as concentrações de BAP, sendo observado em meio de cultura MS sem a presença de fitohormônio brotos com maior comprimento (Tabela 2). No meio QL modificado por Leblay sem adição de BAP, o alongamento também foi maior em relação às outras concentrações. Araújo et al. (2008) também observaram que os tratamentos que não utilizaram BAP no meio de cultivo estimularam o crescimento dos brotos, porém, não ocorreu a proliferação destes. Conforme observado na Figura 1, a não utilização de BAP limita o desenvolvimento de novas brotações, o que é indesejável na fase de multiplicação.

Tabela 2 – Interação entre concentrações de BAP e meios de cultura para o comprimento dos brotos formados em explantes de *P. peruviana* L. Lages, SC, 2013.

Concentrações de BAP (mg L ⁻¹)	Meio QL	Meio MS
0	90,10 Ab	148,49 Aa
0.5	28,30 Bb	21,23 Bb
1.5	18,71 Bb	25,89 Bb
2.5	22,58 Bb	18,81 Bb
3.5	21,02 Bb	16,51 Bb

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de F ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A presença de BAP limitou o alongamento das brotações, indicando que a cultivar tem a capacidade de alongar na ausência desse fitohormônio, o que corrobora com o trabalho de Leite (1995), no qual conclui que o comprimento das brotações na cultivar Bartlett e no clone OHxF97 diminui com o aumento nas concentrações de BAP adicionadas ao meio de cultura. As concentrações crescentes de citocininas inibem o alongamento das brotações (GRATTAPAGLIA E MACHADO, 1998). Porém, para que ocorra o sucesso da fase seguinte, o enraizamento, é necessário que os explantes apresentem maior comprimento.

Conclusão

A multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. pode ser realizada em meio de cultivo QL modificado por Leblay (1991). O BAP favoreceu a indução de brotos nos explantes, mas inibiu o seu alongamento.



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, R. F.; SIQUEIRA, D. L.; CECON, P. R. Multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro Smooth Cayenne utilizando benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA). **Ceres**, v.55, n.5, p. 455-460, 2008.
- CASTRO, A.; RODRIGUEZ, L.; VARGAS, E. Dry gooseberry (*Physalis peruviana* L.) with pretreatment of osmotic dehydration. **Vitae - Revista de La Facultad de Química Farmacéutica**, Medellín, v. 15, n. 2, p. 226-231, 2008.
- CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 6, dez. 2005.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: ABCTP/EMBRAPA/CNPq, 1998. p. 183-260.
- HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A. et al. **Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding**. New York: Macmillan, 1983. p. 117-227.
- LEITE, G. B. **Efeito de reguladores de crescimento, substrato, sacarose e intensidade luminosa na micropropagacao de pereira (Pyrus communis L.) cv. Bartlett e do clone OH x F 97**. Pelotas. **UFPeI-FAEM**, 1995. 50 p.
- LEBLAY C.,CHEVREAU E., RABOIN L. M. Adventitious shoot regeneration from in vitro leaves of several pear cultivars (*Pyrus communis* L.). **Plant Cell, tissue and organ culture**, 1991, vol.25, p.99-105.
- 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. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- POLTRONIERI, E. Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas. In: I SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.37-40. Documentos, 37.
- RODRIGUES, F. A. et al. Diferentes concentrações de sais do meio MS e BAP na multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L.. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 77-82, jan./fev. 2013.
- SCHUCH, M.W.; ERIG, A.C. Micropropagação de plantas frutíferas. In: FACHINELO, J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p.155-173.
- VILLA, F. et al. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.3, p.582-589, 2005.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



OBTENÇÃO DE PLÂNTULAS PARA O CULTIVO *IN VITRO* A PARTIR DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *Symplocos uniflora* (POHL) BENTH. (SYMPLOCACEAE)

LUCHO, S. R.^{1*}; LOBLER, L.¹, ROCHA, B.N.¹, FERNANDES, T. S.², RICHTER, G.²,
TABALDI, L. A.³, PARANHOS, J.T.⁴

¹ Bióloga, mestranda, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: simonibelmonte@gmail.com

² Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga, Doutora, Professora Adjunta Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Agrônoma, Doutora, Professora Adjunta Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial germinativo de sementes de *Symplocos uniflora*, sob diferentes condições, para posterior utilização das plântulas no cultivo *in vitro*. Frutos maduros foram coletados em Janeiro e Março de 2012 no Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria. Em cada época de coleta, os frutos foram acondicionados em caixas germbox em duas condições de armazenamento por 10 dias (temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ ou ambiente, $\pm 25^{\circ}\text{C}$). Após a assepsia e inoculação, as sementes foram mantidas na ausência ou presença de luz (fotoperíodo de 16 horas). O experimento foi um fatorial, com quatro tratamentos, cinco repetições e 50 frutos por repetição, em delineamento inteiramente casualizado. Após sete dias, avaliou-se a percentagem e velocidade de germinação das sementes e as médias foram comparadas através da análise de variância e teste de Duncan a 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa no potencial germinativo e na velocidade de germinação das sementes coletadas nas duas épocas. Em cada coleta, as maiores taxas de germinação (33% e 40%) e índices de velocidade de germinação foram observadas nos frutos mantidos em temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$), por 10 dias, sendo determinante a presença de luz.

Palavras-chave: Propagação, Germinação das sementes, Sete-sangria



Introdução

O Brasil possui diferentes climas, relevos e solos, fatores que possibilitam a ocorrência de uma diversidade de espécies, número superior a 55 mil, o que corresponde a 22% do total mundial (PEREIRA et al., 2007). O conhecimento, ainda incipiente, sobre a maioria das espécies, associado à necessidade de preservação dessa biodiversidade, requer estudos básicos sobre as diferentes formas de propagação, passíveis de serem utilizados em processos de conservação, preservação e reposição de plantas no ambiente natural.

Symplocos uniflora (Pohl) Benth. (Symplocaceae), conhecida popularmente como sete-sangria, pau-de-canga, maria-mole-do-banhado, é uma espécie nativa do Rio Grande do Sul, mostrando-se presente principalmente em matas ciliares, no qual desempenha função vital na qualidade dos rios. Por ser uma árvore de pequeno porte, pioneira e de crescimento rápido é bastante utilizada para reflorestamento e recuperação de áreas degradadas (LORENZI e MATTOS, 2008). Na medicina popular, o chá da casca do caule auxilia na digestão e combate às febres tropicais, terçã ou malária; a casca da raiz possui funções adstringentes e seus frutos são comestíveis e servem de alimento para a fauna silvestre (CARVALHO, 2008).

Os frutos maduros ocorrem de dezembro a março e são drupas cilíndricas a obovais, medindo de 0,8 cm a 1,5 cm de comprimento por 0,5 cm a 1,0 cm de largura, apresentando o pericarpo passando de verde-claro para roxo-enegrecido. Essa coloração também está presente nas partes carnosas do fruto, que também apresenta sabor adocicado. O endocarpo, por sua vez, é demasiadamente duro, dificultando e/ou impedindo a retirada das sementes (BURKART, 1979).

Segundo Carvalho (2008), esta espécie possui uma germinação epígea ou fanerocotiledonar, e produz anualmente grande quantidade de sementes, porém, as sementes perdem rapidamente a viabilidade quando mantidas em ambiente não controlado, por apresentarem comportamento recalcitrante ao armazenamento.

O conhecimento das condições ideais para a germinação da semente de determinada espécie é de fundamental importância, principalmente, pelas repostas



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



diferenciadas que ela pode apresentar em função de diversos fatores, como por exemplo, a interação da umidade e da temperatura, a época de coleta, a influência das características genéticas e a sensibilidade a luz são fatores fundamentais na manutenção da qualidade fisiológica da semente durante o armazenamento (CARNEIRO e AGUIAR, 1993; AGUIAR, 1995).

Estudos sobre os fatores que influenciam a germinação das sementes são importantes não apenas sob o ponto de vista tecnológico, voltado a determinar as condições a serem adotadas no teste padrão de germinação, mas também sob o ponto de vista ecofisiológico, que possibilita compreender o comportamento das espécies em condições naturais.

Este trabalho avaliou o potencial germinativo das sementes de *Symplocos uniflora*, coletadas em duas épocas, estudando-se duas condições de armazenamento e presença ou ausência de luz, com o objetivo de posterior utilização de plântulas assépticas na micropropagação *in vitro*.

Metodologia

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria(UFSM). Frutos maduros foram coletados em Janeiro e Março de 2012, de populações crescendo naturalmente no Jardim Botânico da UFSM.

Após a coleta dos frutos e remoção do epicarpo e mesocarpo, as sementes com o endocarpo endurecido foram mantidos em caixas germbox no refrigerador ($\pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$) ou em temperatura ambiente ($\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), por 10 dias. Antes da inoculação, em câmara de fluxo laminar, os mesmos foram desinfestados em álcool 70% por 30 segundos, imersos em hipoclorito de sódio a 2,5% por 15 minutos, seguido de três enxágues em água destilada e autoclavada. Após, as sementes foram inoculados em placas de petri com 90 mm de diâmetro, estéreis, revestidas com três camadas de papel filtro previamente autoclavadas e embebidas em 10 mL de água destilada e autoclavada, e posteriormente mantidas em sala de crescimento, na ausência ou presença de luz (fotoperíodo de 16 horas), com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1$.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Em cada época de coleta, os experimentos constaram de um fatorial 2 x 2 (condições de armazenamento x regimes de luz), totalizando quatro tratamentos com cinco repetições e 50 frutos por repetição, em delineamento inteiramente casualizado.

As avaliações foram feitas semanalmente e consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão de 0,3 cm da radícula, determinando-se a porcentagem de germinação (%G), conforme Labouriau e Valadares (1976), pela fórmula $G = (N/A) \times 100$, sendo N o total de sementes germinadas e A o número total de sementes colocadas para germinar. Além disso, foi determinado o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado segundo Maguire (1962).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e Discussão

Nas duas épocas de coletas (Figuras 1 e 2), os melhores resultados de germinação (33 e 40 %) e índice de velocidade de germinação (11 e 27%) foram observados na presença de luz (fotoperíodo de 16 horas), independente das condições de armazenamento das sementes, sugerindo um fotoblastismo positivo predominante das sementes de *Symplocos uniflora*, uma vez que, também ocorreu germinação no escuro contínuo, porém, significativamente menor, com máximo de 16 %.

Nos dois experimentos, a menor temperatura de armazenamento em conjunto com a ausência de luz propiciou os menores Índices de Velocidade de Germinação (IVG), comparados com frutos mantidos em temperatura ambiente na presença de luz (Figuras 1 e 2 B).



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas

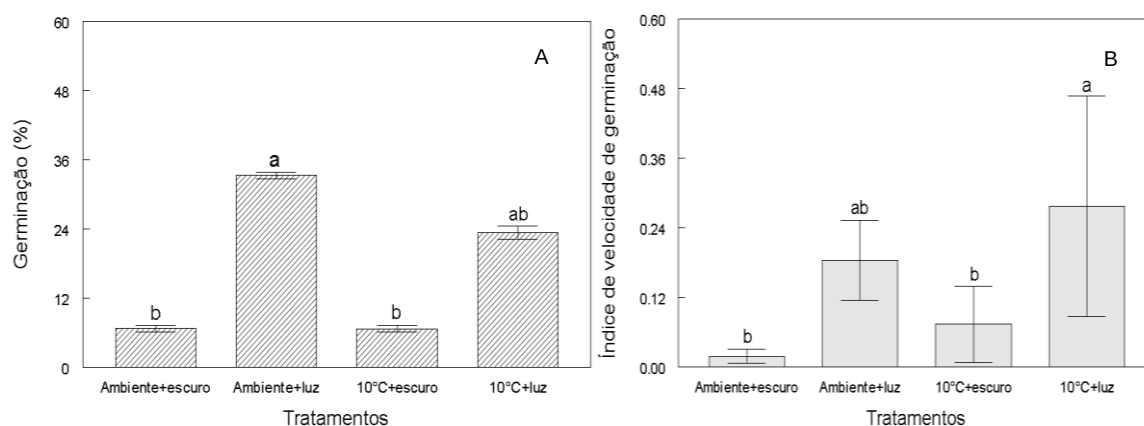


Figura 1 – Germinação das sementes de *Symplocos uniflora* coletadas em janeiro de 2012. A - Porcentagem de germinação. B - índice de velocidade de germinação (IVG). Cada tratamento teve cinco repetições e 50 frutos por repetição, em delineamento inteiramente casualizado.

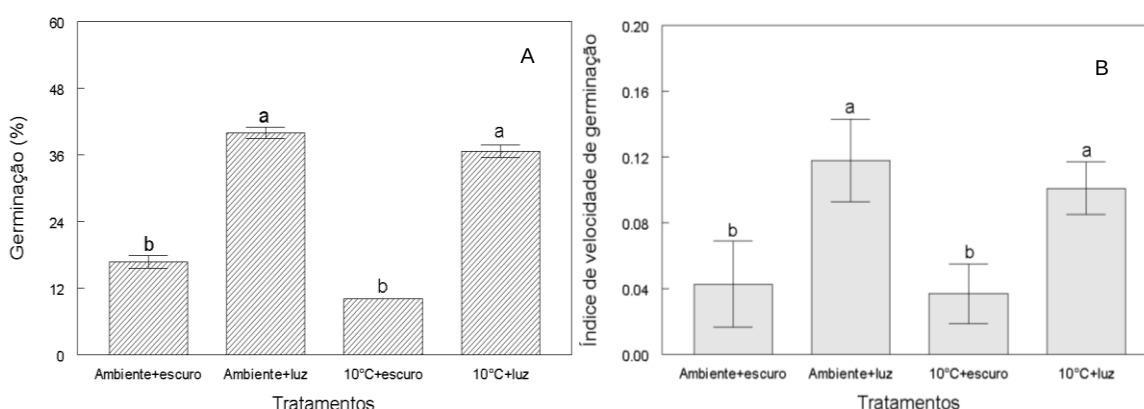


Figura 2 – Germinação das sementes de *Symplocos uniflora* coletadas em março de 2012. A - Porcentagem de germinação. B - índice de velocidade de germinação (IVG). Cada tratamento teve cinco repetições e 50 frutos por repetição, em delineamento inteiramente casualizado.

Comparando a germinação das sementes de *S. Uniflora* coletadas em janeiro e março de 2012, não houve diferença significativa entre as porcentagens nas duas épocas de coletas, em todos os tratamentos estudados (Tabela 1). Nos dois experimentos, as maiores porcentagens foram 33 e 40% respectivamente, para as sementes armazenadas em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e colocadas para germinar em fotoperíodo de 16 horas. Esses resultados podem estar relacionados ao fato de que esta espécie apresenta um longo período de floração e frutificação, podendo ser encontrados, num mesmo indivíduo, flores e frutos na mesma época (LORENZI e MATTOS, 2008).

Tabela 1 – Porcentagem de germinação das sementes de *Symplocos uniflora* nas duas épocas de coleta. Santa Maria, RS, 2010. Cada tratamento teve cinco repetições e 50 frutos por repetição, em delineamento inteiramente casualizado. Santa Maria-RS, 2012.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Tratamentos	Porcentagem de germinação	
	Janeiro 2012	Março 2012
Temperatura ambiente + escuro	6,73 ± 0,58 a	16,73 ± 1,15 a
Temperatura ambiente + claro	33,3 ± 0,58 a	40,00 ± 1,0 a
Refrigerador + escuro	6,70 ± 1,67 a	10,10 ± 0 a
Refrigerador + claro	23,40 ± 1,15 a	36,70 ± 1,15 a

* Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Silveira et al. (2004) classificaram as sementes de *Marcetia taxifolia* (Melastomataceae) como fotoblásticas positivas, apesar de também terem apresentado uma pequena percentagem de germinação das sementes no escuro. Estudos relatam que as sementes de diferentes espécies são fotossensíveis quanto ao processo germinativo, podendo apresentar comportamento positivo, negativo ou neutros (LABOURIAU (1976); RENNERT et al., 2007; ADAMI et al., 2008). Entretanto, essa categoria não pode ser considerada como definitiva, uma vez que outros fatores podem alterar estas respostas (BEWLEY e BLACK, 1994; TAKAKI, 2001). Conforme Scalon et al. (2009), mesmo algumas sementes apresentando fotoblastismo neutro, na presença de luz a germinação é significativamente aumentada, sugerindo que a luz estimula reações metabólicas mais rápidas que culminam em maior velocidade de desenvolvimento das células do eixo embrionário.

Conclusão

A época de coleta não afeta o potencial germinativo e o índice de velocidade de germinação das sementes de *Symplocos uniflora*. Em cada época de coleta, as maiores taxas de germinação e índices de velocidade de germinação ocorrem em frutos mantidos em temperatura ambiente (± 25 °C), por 10 dias antes da semeadura, e nas sementes colocadas para germinar na presença de luz (fotoperíodo de 16 horas). As sementes de *S. uniflora* podem ser classificadas como fotoblásticas positivas, predominantemente.

Referências



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



- ADAMI, C.; MAURI, J.; DALCOLMO, S.; HEBLING, S.A. **Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Erythrina verna* (Leguminosae, Papilionoideae)** Mus. Biol. Mello leitão p. 101-110. 2008
- AGUIAR, I. B. Conservação de sementes. In: SILVA, A; PINARODRIGUES, F.C.M, FIGLIOLA, M.B. **Manual Técnico de sementes florestais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1995, p.33- 44
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. Plenum Press, New York, 445 p. 1994.
- BIANCHETTI, A. Tecnologia de sementes de essências florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.3, n. 3, p. 27- 46, 1981.
- BURKART, A. Symplocaceae. In: BURKART, A. **A Flora Ilustrada de Entre Rios** (Argentina). Buenos Aires: Coleccion Científica Del Inta, 1979, 299 p.
- CARNEIRO, J.G.A.; AGUIA, I.B. Armazenamento de sementes. In. AGUIAR, I.B.; PINA-RODRIGUES, F.C.M. FIGLIOLA, M.B. **Sementes Florestais Tropicais**. Brasília: ABRATES, P. 333- 350, 1993.
- CARVALHO, P. E. R. **Maria-Mole-do-Banhado** (Symplocos uniflora) Embrapa Florestas Circular Técnica (148), 2008, 6p.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.
- LABORIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera* (Ait). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.48, p.263-284, 1976.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Medicinais: Nativas e Exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008, 544p.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.
- PEREIRA, A.M.; LIMA, D.A.L.L.; REYDON, B.P. As políticas de comando e controle são a melhor alternativa para o conhecimento tradicional. **"VII Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica"**, 2007.
- RENNER, G. D. R.; CAMACHO, F.; PEIXE, S. Ação da temperatura, ácido giberélico e luz na germinação de sementes de fáfia – *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 349-54, 2007.
- SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; ROSA, G. T. S.; MORAES, K. C.; SCALON FILHO, H. Enraizamento e germinação na propagação de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (ginseng-brasileiro). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 5, p. 1249-54, 2009.
- SILVEIRA, F.A.O.; NEGREIROS, D.; FERNANDES, G.W. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. (Melastomataceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.18, p.847-851, 2004.
- TAKAKI, M. 2001. **New proposal of classification of seed based on forms of phytochrome instead of photoblastism**. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 13(1): 103-107.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



PRODUÇÃO DE 20-HIDROXIECDISONA EM PLANTAS DE *PFAFFIA GLOMERATA* (SPRENG) PEDERSEN SUBMETIDAS À INJÚRIA FOLIAR OU METIL JASMONATO

MALDANER, J.^{1*}; NOTINI, M. M.²; SALDANHA³, C. W.; OTONI, W. C.⁴

¹ Bióloga, M Sc, D Sc, Pesquisadora, Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Hulha Negra, RS. E-mail: joseila_maldaner@yahoo.com.br

² Engenheiro Florestal, M Sc, D Sc, Pesquisador, Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Santa Maria, RS. E-mail: clebersaldanha@yahoo.com.br

³ Bióloga, M Sc, estudante de doutorado no programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal e Bioquímica de Plantas pela ESALQ/USP. E-mail: marcelanotini@gmail.com

⁴ Engenheiro Agrônomo, M Sc, D Sc, Professor Associado IV, Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. E-mail: wcotoni@gmail.com

Resumo

Fitoecdisteroides são compostos vegetais semelhantes aos zooecdisteroides, cuja real função nas plantas permanece desconhecida, embora seja reconhecido seu papel como defensivo contra fitófagos não adaptados. *Pfaffia glomerata* acumula fitoecdisteroides, especialmente 20-hidroxiecdisona (20-E), um composto relacionado à diversas propriedades medicinais. O objetivo deste estudo foi observar a concentração de 20-E em plantas de *P. glomerata* expostas à injúria foliar ou metil jasmonato (MeJa). As raízes acumularam mais 20-E do que a parte aérea, tanto em plantas tratadas quanto no controle. Além disso, o MeJa aplicado no entorno das raízes promoveu pequeno aumento nos níveis de 20-E nestas, enquanto a injúria foliar apresentou resposta inconstante. Essa pesquisa fornece bases importantes e motiva estudos mais aprofundados, com sistema otimizado e/ou diferentes agentes elicitores para complementar e elucidar mecanismos envolvidos na via biossintética induzida de 20-E em *P. glomerata*.

Palavras-chave: Biossíntese. Elicitores. Fitoecdisteroide. Ginseng Brasileiro.

Introdução



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Pfaffia glomerata é uma planta nativa da América do Sul, conhecida popularmente como Ginseng Brasileiro, em virtude de suas propriedades medicinais e pela semelhança morfológica de suas raízes com as do Ginseng Coreano (*Panax* spp.). É usada como tônico estimulante, afrodisíaco e no tratamento de diabetes e doenças inflamatórias, além disso, estudos relatam atividade depressiva no sistema nervoso central de ratos (De PARIS et al., 2000). Tais propriedades medicinais são atribuídas a compostos isolados nessas plantas, especialmente fitoecdisteroides, sendo 20-hidroxicdisona (20-E) o fitoecdisteroide encontrado em maior abundância (BAKRIM et al., 2008). As concentrações desses compostos aumentam em resposta a danos mecânicos, herbivoria e tratamentos com metil jasmonato (SCHMELZ et al., 1999), o que sustenta a hipótese de seu envolvimento na defesa das plantas contra o ataque por insetos fitófagos e desperta o interesse pelo estudo da elicitação da produção de metabólitos secundários (DINAN et al., 2009).

Metil jasmonato (MeJa), um composto volátil, inicialmente identificado em flores de *Jasminum grandiflorum* (DEMOLE et al., 1962), é um potencial elicitor do metabolismo secundário amplamente distribuído no reino vegetal. Sua natureza volátil levou a descoberta de seu papel como sinalizador em respostas celulares em plantas, na interação planta-herbívoro e nas interações planta-planta. O MeJa é o principal candidato na mediação de sinal na comunicação interplantas, em decorrência de sua atividade na indução da resistência a herbivoria (BALDWIN, 1998). A indução mediada por jasmonatos foi estudada por Kahl et al. (2001), em resposta ao parasitismo de larvas (*Manduca sexta*) em plantas de tabaco; de aranhas em tomate (LI et al., 2004); e de larvas (*Pieris rapae* larvae ou *Frankliniella occidentalis*) em *Arabidopsis* (De VOS et al., 2008).

Devido sua função na proteção das plantas contra insetos fitófagos e nematoides é esperado um aumento na síntese de fitoecdisteroides em resposta a ferimentos mecânicos ou ataque por insetos. Assim, para verificar a via de sinalização de defesa envolvendo a indução em *P. glomerata*, quantificou-se 20-E após a aplicação de metil jasmonato e injúria foliar.

Material e Métodos

Vitroplantas obtidas após 25 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol e 0,7% de ágar (Merck®), foram transferidas para vasos plásticos (capacidade de 1L) contendo substrato comercial (Plantmax®). Três plantas por vasos foram aclimatizadas por cinco dias e, após, transferidas para casa de vegetação. Nesse processo, as plantas foram cobertas por embalagens transparentes de polietileno, as quais foram abertas gradualmente, até a remoção completa após duas semanas.

Quarenta e cinco dias após a transferência das plantas para casa de vegetação, os tratamentos foram aplicados (Figura 1A).

Metil jasmonato (MeJa) a 10mM (concentração escolhida em um experimento preliminar), em solução aquosa com 0,1% de Tween20, foi aplicado por borrifação foliar (~10 mL/planta). Também foi



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



feita uma aplicação direcionada de MeJa, no entorno do sistema radicular isolando-se raízes e parte aérea (Figura 1B). A injúria foliar foi feita pela excisão, com tesoura, de um fragmento (em “V”) da lâmina foliar das quatro folhas apicais (Figura 1 C). Após a aplicação de MeJa, as plantas foram cobertas com sacos plásticos transparentes para evitar a interferência, por volatilização, desse composto nas plantas controle (Figura 1D).

As coletas ocorreram a 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 e 48 horas após aplicação dos tratamentos. Em cada tempo, foram coletadas três plantas por vaso, num total de cinco vasos por tratamento. Raízes, folhas e caules foram separados e desidratados em estufa de circulação forçada a 60 °C. Posteriormente o material vegetal foi moído em moinho tipo Willey.

Na extração, utilizou-se metanol na proporção de 10 mL para cada 100 mg de material vegetal (folha, caule ou raiz) moído, com posterior encubação a 25 °C por sete dias, com agitação diária. O extrato foi centrifugado duas vezes a 12.000xg por 10 minutos. A quantificação de 20-E foi feita por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), realizada em equipamento Dionex – UltiMate 3000 Dual, equipado com um detector SPD-10AUV a 245 nm. A fase móvel consistiu de 50% metanol e 50% de água, com taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹ e volume de injeção de amostra de 20 µL. A curva de calibração foi obtida pela adição de padrão 20-E (Sigma-Aldrich) em metanol a 20, 40, 60, 80, 100, 125 e 150 mg L⁻¹.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por teste de Tukey (P < 0,05).

Resultados e Discussão

Análises por cromatografia líquida de alta eficiência demonstraram que, plantas de *P. glomerata* transferidas de cultivo *in vitro* para casa de vegetação, apresentaram maiores teores de 20-E nas raízes, independentemente da aplicação dos tratamentos, alcançando cerca de 0,6% da massa seca de raízes (Figuras 2 e 3). Além disso, um padrão oscilatório na porcentagem de 20-E foi observado ao longo dos tempos de coleta (Figuras 2 e 3). A distribuição de fitoecdisteroides observada numa variedade de plantas anuais e perenes sugere que concentrações mais elevadas estão associadas às raízes (DINAN et al., 2009). Festucci-Buselli et al. (2008), também reportaram que a raiz de *P. glomerata* é o órgão preferencial de acumulação de fitoecdisteroides (20-E). Em algumas espécies os fitoecdisteroides parecem estar restritos a alguns tecidos ou órgãos específicos, no entanto, em virtude de sua mobilidade, a distribuição desses compostos pode variar durante a ontogenia (BAKRIM et al., 2008).

A injúria foliar induziu resposta instável na concentração de 20-E nas folhas, além de baixo e inconstante (apenas 8 horas após aplicação) aumento nos níveis desse composto nas raízes. A baixa eficácia da injúria foliar na indução da biossíntese de 20-E pode ser atribuída ao fato de os danos mecânicos não refletirem importantes particularidades que existem na interação insetos planta



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



(BALDWIN, 1998). Por exemplo, a excisão de um fragmento de tecido de planta resultará em evento único na sinalização de dano, enquanto os ataques de insetos representam um processo progressivo e continuado que mantem a via de sinalização ativa por muito tempo (McCLOUD e BALDWIN, 1997). Além disso, a resposta da planta às secreções orais de insetos é outra diferença importante. Um componente da saliva da lagarta *Helicoverpa zea*, a enzima glicose-oxidase, tem sido encontrado na indução da via de salicilato em soja, tabaco, algodão, resultando na resistência sistêmica adquirida a *Pseudomonas syringae*, ao passo que este efeito não foi encontrado em resposta ao dano mecânico (FELTON e EICHENSEER, 1999; EICHENSEER et al., 1999).

Os teores de 20-E nas folhas e no caule não foram alterados pela aplicação de MeJa direcionada as raízes (Figura 3A e 3B), enquanto essa aplicação localizada acionou um baixo, mas estatisticamente significativo, aumento na concentração de 20-E nas raízes a 0, 2, 4, 12, 24 e 48 horas após a aplicação do elicitor (Figura 3C). Esse aumento no teor de 20-E nas raízes destaca a importância da forma e local de aplicação de efeito MeJa. Como um composto altamente volátil, o método de aplicação pode também afetar a eficiência de MeJa. Em outros trabalhos, alternativamente, MeJa foi misturado com pasta de lanolina (KESSLER e BALDWIN, 2002), ou aplicada na forma líquida em solução hidropônica (BALDWIN e SCHMELZ, 1996).

Resultados semelhantes foram observados em raízes de *Ajuga turkestanica* tratados com MeJa (CHENG et al., 2008). Da mesma forma, o aumento das concentrações de fitoecdisteroide em raízes também foi relatada por Schmelz et al. (1998), onde plantas de espinafre foram cultivadas sistema de hidropônico com MeJa. Esses autores também relataram que os teores de 20-E nas raízes não foram afetadas pela aplicação foliar de MeJa, e a aplicação nas raízes levou a aumento de 20-E em ambos os órgãos. No entanto, em espinafres, sabe-se que 20-E é biossintetizado nas folhas mais velhas (BAKRIM et al., 2008), enquanto que, embora 20-E tenha sido detectada em todos os órgãos, o local exato de sua biossíntese em *P. glomerata* permanece desconhecido.

Conclusões

As raízes de *P. glomerata* apresentaram teores mais elevados de 20-E que folhas e caules. Metil jasmonato (MeJa) induz aumento na porcentagem de 20-E nas raízes, quando aplicado direcionadamente no entorno do sistema radicular, enquanto a injúria foliar não foi eficiente na promoção da biossíntese de 20-E. Essa pesquisa fornece informações preliminares para a compreensão da biossíntese de 20-E em *P. glomerata* e motiva estudos mais aprofundados para complementar e elucidar os mecanismos envolvidos nessa via biossintética induzida.

Referências Bibliográficas

BAKRIM, A. et al. Ecdysteroids in spinach (*Spinacia oleracea* L.): Biosynthesis, transport and regulation of levels. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 844-854, 2008.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



- BALDWIN, I. T. & SCHMELZ, E. A. Immunological "memory" in the induced accumulation of nicotine in wild tobacco. **Ecology**, v.77, p. 236-246, 1996.
- BALDWIN, I. T. Herbivory simulations in ecological research. **Tree**, v. 5, p. 91-93, 1998.
- CHENG, D. M. et al. *In vitro* production of metabolism-enhancing phytoecdysteroids from *Ajuda turkestanica*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 93, p. 73-83, 2008.
- DEMOLE, E., LEDERER, E., MERCIER, D. Isolement et détermination de la structure du jasmonate de méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jasmin. **Helvetica Chimica Acta**, v. 45, p. 675-685, 1962.
- De PARIS, F. et al. Psychopharmacological screening of *Pfaffia glomerata* Spreng. (Amaranthaceae) in rodents. **Journal Ethnopharmacological**, v. 73, p. 261-269, 2000.
- DE VOS, M., KRIKSUNOV, K.L., JANDER, G. Indole-3-acetonitrile production from indole glucosinolates deters oviposition by *Pieris rapae* (white cabbage butterfly). **Plant Physiology**, v. 146, p. 916-926, 2008.
- DINAN, L. et al. **Phytoecdysteroids: Diversity, Biosynthesis and Distribution**. In: SMAGGHE, G. (ed). Ecdysone: Structures and Functions, 2009.
- EICHENSEER, H. et al. Salivary glucose oxidase: multifunctional roles for *Helicoverpa zea*? **Archives of Insect Biochemical Physiology**, v. 42, p. 99-109, 1999.
- FELTON, G.W. & EICHENSEER, H. Herbivore saliva and its effect on plant defense against herbivores and pathogens. In: **Induced plant defenses against pathogens and herbivores. Biochemistry, ecology and agriculture**. AGRAWA, A.A., TUZUN, S. and BENT, E., (ed.), APS Press, Saint Paul MN, p. 19, 1999.
- FESTUCCI-BUSELLI, R.A. et al. Levels and distribution of 20-hydroxyecdysone during *Pfaffia glomerata* development. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, p. 53-60, 2008.
- KAHL, J. et al. Herbivore-induced ethylene suppresses a direct defense but not a putative indirect defense against an adapted herbivore. **Planta**, v. 210, p. 336-342, 2001.
- KESSLER, A. & BALDWIN, I.T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 299-328, 2002.
- LI, L. et al. The tomato homolog of *CORONATINE-INSENSITIVE1* is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. **Plant Cell**, v. 16, p. 126-143, 2004.
- MCCLLOUD, E. S. & BALDWIN, I. T. Herbivory and caterpillar regurgitants amplify the wound induced increases in jasmonic acid but not nicotine in *Nicotiana sylvestris*. **Planta**, v. 203, p.430-435, 1997.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15:473-497, 1962.
- SCHMELZ, E.A. et al. Damage-induced accumulation of phytoecdysteroids in spinach: a rapid root response involving the octadecanoic acid pathway. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, p. 339-360, 1998.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



SCHMELZ, E.A. et al. Insect-induced synthesis of phytoecdysteroids in spinach, *Spinacia oleracea*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 25, p. 1739-1757, 1999.



Figura 1 – Plantas de *Pfaffia glomerata* aclimatizadas após 45 dias da transferência para casa de vegetação (A); aplicação direcionada de Metil Jasmonato MeJa no entorno do sistema radicular (B); injúria foliar (C) e pulverização de MeJa (vide detalhe das plantas cujos vasos foram cobertos com sacos plásticos para minimizar efeitos por volatilização do composto) (D). Barras: A e B = 4,5 cm; C = 2,0 cm e D = 15,0 cm.

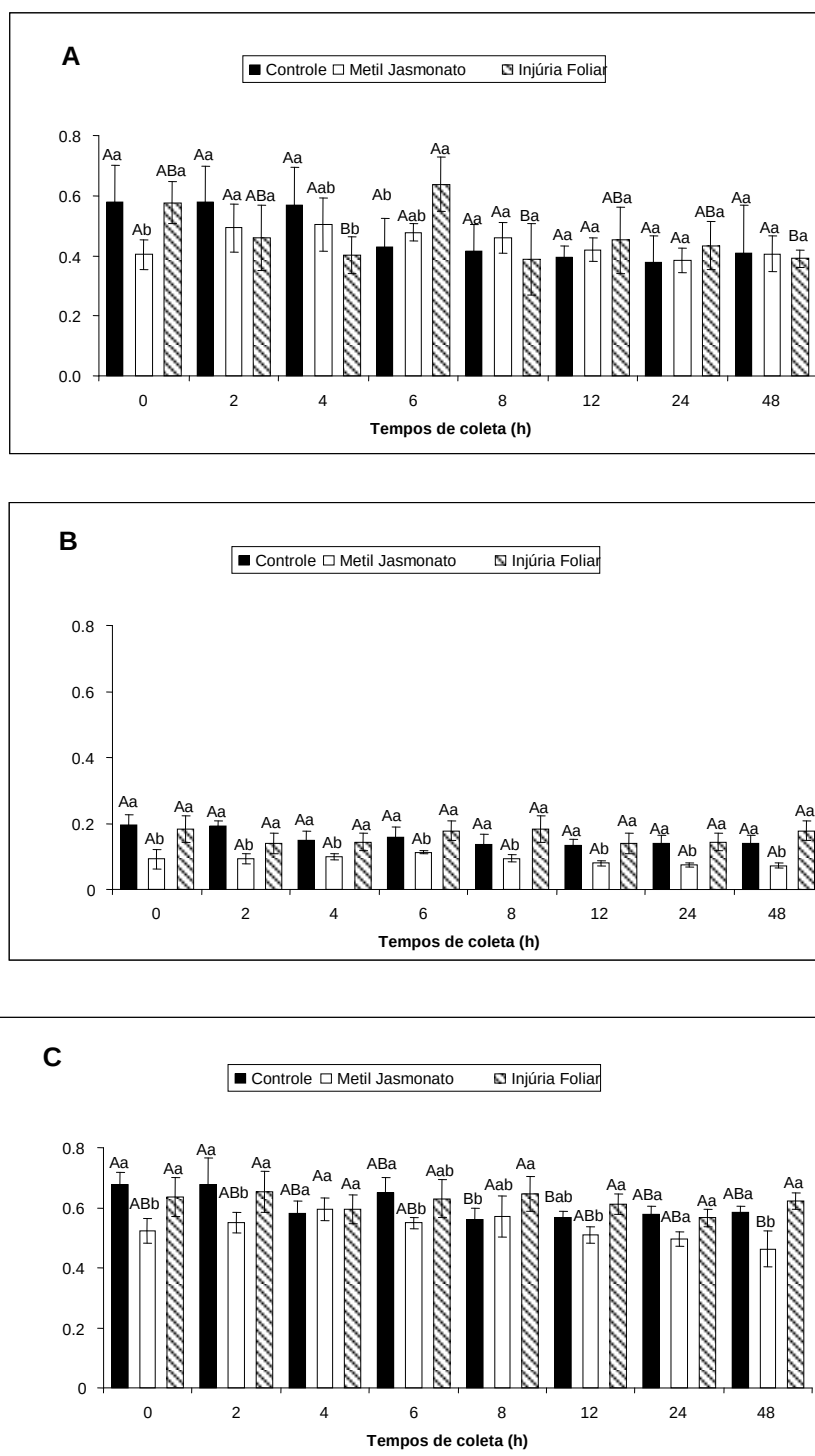


Figura 2 – Concentração de 20-hidroxiecdisona nas folhas (A), caule (B) e raízes (C) de *Pfaffia glomerata* submetidas à injúria foliar e metil jasmonato (10 mM). Os valores foram expressos como média de cinco repetições $\pm$ D.P. Letras maiúsculas iguais indicam não haver diferenças significativas entre as diferentes épocas de coleta para o mesmo tratamento ($p < 0,05$) de acordo com o teste de comparações múltiplas de Tukey. Letras minúsculas iguais indicam não haver diferenças significativas entre os tratamentos ao mesmo tempo de coleta ($p < 0,05$) de acordo com o teste de comparações múltiplas de Tukey.



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas

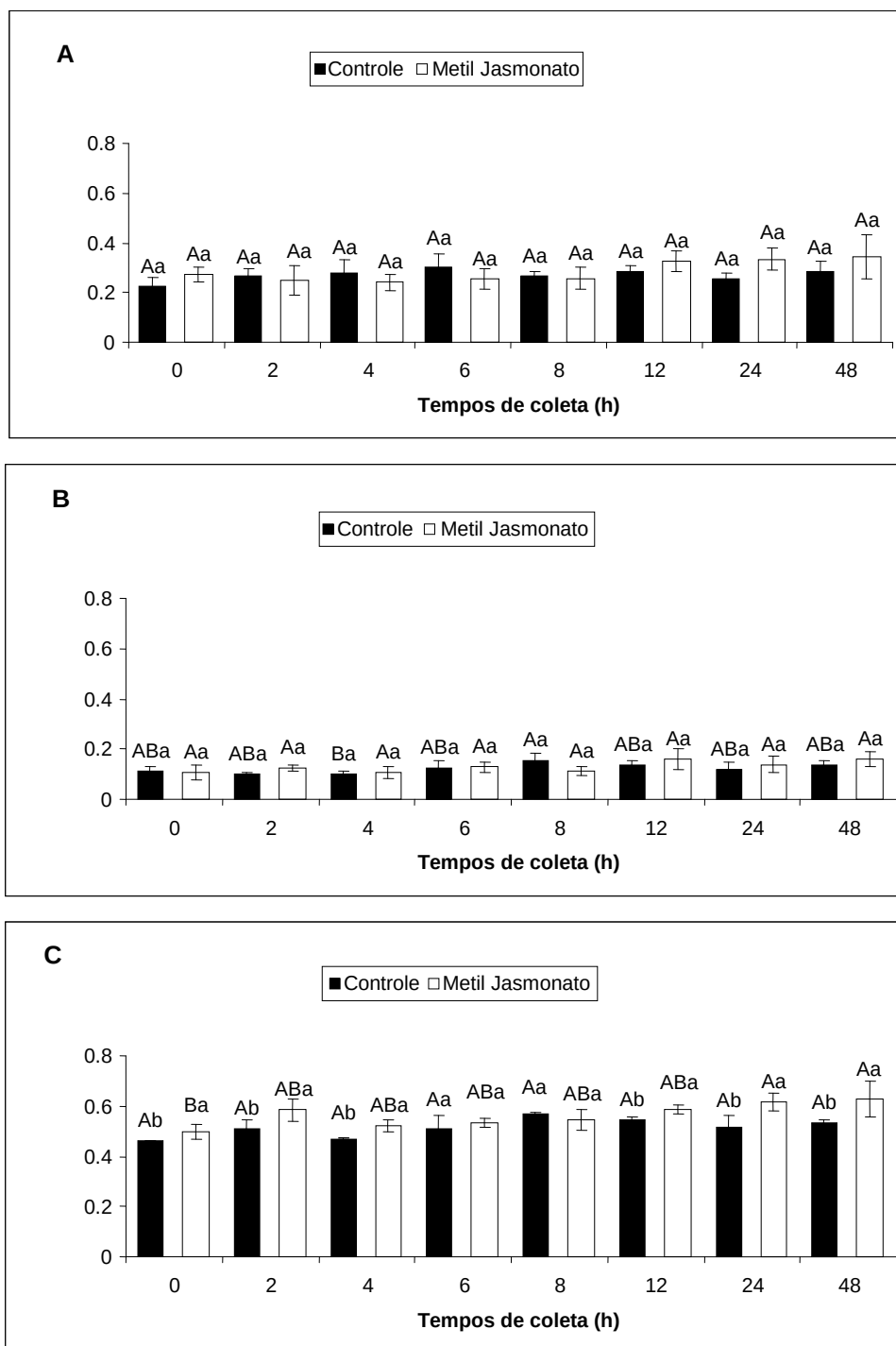


Figura 3 – Concentrações de 20-hidroxiectidisona em folhas (A), caule (B) e raízes (C) de *Pfaffia glomerata* submetidas à metil jasmonato (10 mM) aplicado no sistema radicular isolando-se a parte aérea. Os valores são expressos como media de cinco repetições $\pm$ D.P. Letras maiúsculas iguais indicam não haver diferença significativa entre as diferentes épocas de coleta para o mesmo tratamento ($p < 0,05$) de acordo com o teste de comparações múltiplas de Tukey. Letras minúsculas iguais indicam não haver diferenças significativas entre os tratamentos ao mesmo tempo de coleta de acordo com o teste de comparações múltiplas de Tukey.

Apoio Financeiro: Os autores agradecem a CAPES (PNPD), ao CNPq; (MCT/CNPq 480675/2009-0; PQ 303201/2010-0) e à FAPEMIG (Projeto CAG-APQ-01036-09).



RESPOSTA À APLICAÇÃO DE FÓSFORO NA MASSA SECA TOTAL DE TREZE GENÓTIPOS DE BATATA CULTIVADOS *in vitro*

SCHWALBERT, R.¹; SAUSEN, D.^{2*}; ULIANA, S. C.³; NEIS, F. A.³; HILGERT, M. N.¹; NICOLOSO, F. T.⁴

¹ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

² Engenheira Agrônoma, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: darlene_sn@yahoo.com.br

³ Bióloga, Mestre, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Professor Adjunto, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a resposta da aplicação do P na massa seca total de treze genótipos de batata em sistema de cultivo *in vitro*. Os tratamentos consistiram de treze genótipos de batata: SMIC 148-A (C), Dakota Rose (D), SMINIA 793103-3 (F), SMIB 106-7 (J), SMIE 040-6RY (L), SMIF 212-3 (M), SMIF 313-3 (N), SMIJ 319-1(S), P 150 (U), SMIJ 461-1 (V), SMINIA 00017-6 (X), A 513- 1(Y) e SMG (Z), submetidos a duas concentrações de P no meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962): 5 e 50% da concentração padrão de P do meio MS, em um delineamento inteiramente casualizado. O genótipo SMIJ 319-1 apresentou-se como o genótipo mais eficiente na utilização do P em baixa dose deste elemento, enquanto o genótipo Dakota Rose não é nem eficiente nem responsivo ao P na produção de massa seca total. Os demais genótipos são não eficientes na utilização, mas responsivos ao P.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*. Fósforo. *Solanum tuberosum* L.

Introdução

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a quarta cultura em importância agrícola no mundo depois do milho, arroz e trigo, sendo considerado um alimento importante para a



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



população mundial (DALE; MACKAY, 1994; FAO, 2013). A propagação comercial da batata é feita vegetativamente através do uso de batata-semente, o que possibilita a obtenção de material idêntico ao material de origem. Porém, a utilização desse material propagativo por repetidos ciclos pode provocar a degenerescência devido ao efeito cumulativo de viroses. Uma das formas mais viáveis de se propagar plantas de batata isentas de doenças, especialmente viroses, é a micropropagação (KANE, 2000; PEREIRA et al., 2001, FORTES; PEREIRA, 2003). Essa técnica permite ainda a multiplicação massal de um genótipo em pequeno espaço físico, curto período de tempo e ao longo de todo o ano (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; GUERRA et al., 1999), além de permitir aperfeiçoar a interação entre fatores abióticos e bióticos (TORRES et al., 1998).

Um dos principais estresses abióticos que limita a produtividade das culturas é a deficiência de fósforo, ocorrendo em 30 a 40% das terras aráveis do mundo (VON UEXKÜLL; MUTERT, 1995). Plantas que crescem em ambientes deficientes em P desenvolvem várias estratégias para tentar superar o suprimento inadequado deste nutriente. Para melhorar a aquisição e utilização de P, as plantas induzem a formação de transportadores de alta afinidade, secretam exsudatos pelas raízes para liberar o P adsorvido aos coloides, promovem alterações na morfologia e na arquitetura do sistema radicular e maximizam a conservação e remobilização interna do P (ESPINDULA et al., 2009; LIN et al., 2009).

Diferenças na aquisição P pela planta e eficiência de utilização têm sido observadas não apenas entre espécies, mas também entre indivíduos da mesma espécie (GAUME et al., 2001; LI et al., 2007). Assim, ao compreender-se as respostas das plantas à deficiência de P e usando as diferenças genótípicas para aumentar a eficiência de utilização de P dentro de cada espécie vegetal, pode-se desenvolver cultivares eficientes ao baixo nível de P, proporcionando uma solução ecologicamente aceitável para a demanda por fosfato sem afetar a produtividade das culturas (GOOD et al., 2004; ESPINDULA et al., 2009; VENEKLAAS et al., 2012).

O cultivo *in vitro*, até o momento, vem sendo utilizado como sistema adequado para o estudo da utilização dos nutrientes no metabolismo e no crescimento vegetal, uma vez que as plantas cultivadas nesse sistema são altamente dependentes da composição química do meio de cultivo. Com isso, o objetivo deste trabalho foi verificar a resposta da aplicação do P na massa seca total de treze genótipos de batata em sistema de cultivo *in vitro*.



Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.

O material vegetal utilizado foi oriundo do Programa de Genética e Melhoramento de Batata da Universidade Federal de Santa Maria.

A multiplicação desses genótipos foi realizada através de explantes caulinares obtidos de plantas cultivadas *in vitro* em meio MS com 100% dos sais. Os segmentos nodais com 1,0 cm de comprimento foram inoculados em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol e 6 g L⁻¹ de ágar.

Os tubos de ensaio contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 h com intensidade luminosa de 35 μmol m⁻²s⁻¹ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias.

Os tratamentos consistiram de treze genótipos de batata: SMIC 148-A (C), Dakota Rose (D), SMINIA 793103-3 (F), SMIB 106-7 (J), SMIE 040-6RY (L), SMIF 212-3 (M), SMIF 313-3 (N), SMIJ 319-1(S), P 150 (U), SMIJ 461-1 (V), SMINIA 00017-6 (X), A 513- 1(Y) e SMG (Z), submetidos a duas concentrações de P no meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962): 5 e 50% da concentração padrão de P, chamados nesse trabalho de baixo (1,935 mg P L⁻¹) e alto (19,346 mg P L⁻¹) níveis de P, respectivamente. A fonte de P utilizada foi o KH₂PO₄ e para manter o teor de potássio constante, utilizou-se o KCl. As plantas foram coletadas aos 40 dias após a inoculação (DAI). A unidade experimental foi constituída de dez tubos de ensaio, cada um contendo 10,0 mL de meio de cultivo e três segmentos nodais com uma gema e folha, sendo utilizadas quatro repetições, em um delineamento inteiramente casualizado.

Ao final do experimento, a massa seca foi determinada após secagem do material por 15 dias em estufa a 65 °C, utilizando balança com 0,0001 g de precisão. Foi confeccionado um diagrama de resposta dos genótipos à produção de massa seca total da planta inteira sob as duas doses de P (5 e 50%). Para tanto, a média geral dos genótipos no alto e no baixo nível de P constituiu o ponto de intercessão do eixo das abscissas com o das ordenadas.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o software Sisvar 5.0 (Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG). A análise complementar foi realizada através de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e discussões

A massa seca total das plantas dos genótipos D e Z não se alterou pela variação das doses de P. Já para os demais genótipos, a maior produção ocorreu na dose de 50% de P, exceto para o genótipo S que teve maior produção na dose de 5% de P (Tabela 1). Devido à maior contribuição da parte aérea na massa seca total da planta, no baixo nível de P (dados não mostrados), a maior produção foi atingida pelo genótipo S (8,1 mg pl^{-1}) e no alto nível de P pelo genótipo N (9,2 mg pl^{-1}).

Tabela 1 – Efeito de duas doses de fósforo (5 e 50% da concentração padrão do meio MS) na massa seca total da planta (MST) dos genótipos SMIC 148-A (C), Dakota Rose (D), SMINIA 793103-3 (F), SMIB 106-7 (J), SMIE 040-6RY (L), SMIF 212-3 (M), SMIF 313-3 (N), SMIJ 319-1(S), P 150 (U), SMIJ 461-1 (V), SMINIA 00017-6 (X), A 513-1(Y) e SMG (Z) avaliados aos 40 dias após inoculação.

Genótipo	MST (mg pl^{-1})	
	Dose	
	5 %P	50 %P
C	4,35 Bc	7,36 Ab
D	2,96 Ae	2,75 Ae
F	2,55 Be	4,57 Ad
J	3,97 Bd	5,39 Ad
L	4,86 Bc	6,35 Ac
M	4,25 Bc	5,50 Ad
N	3,69 Bd	9,25 Aa
S	8,12 Aa	6,76 Bc
U	3,86 Bd	7,86 Ab
V	3,61 Bd	5,03 Ad
W	2,60 Be	7,12 Ab
X	4,63 Bc	6,58 Ac
Y	6,02 Ab	5,25 Ad
Z	4,44	6,14
Média	10,36	6,17
CV (%)	22,19	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha dentro de cada variável não diferem significativamente entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Os genótipos D e Z além de não apresentarem diferença na massa seca total das plantas, foram os únicos que não apresentaram variação também na massa fresca e seca



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



de parte aérea e de raízes entre os níveis de P, o que sugere que esses materiais não respondem à aplicação de P.

Pelo diagrama de classificação dos genótipos quanto à resposta a aplicação de P na produção de massa seca total da planta, o genótipo S foi classificado como eficiente na utilização e responsivo ao P (Figura 1), tendo uma alta produção na baixa dose desse nutriente e ainda aumentou a produção de biomassa com maior disponibilidade do nutriente, o que é altamente desejável. Já o genótipo D, respondeu de maneira totalmente contrária, não sendo nem eficiente nem responsivo ao P (Figura 1). Os demais genótipos foram classificados como não eficientes na utilização, mas responsivos ao P (Figura 1), os quais produziram abaixo da média em condições de deficiência de P, mas responderam positivamente ao aumento no fornecimento do nutriente.

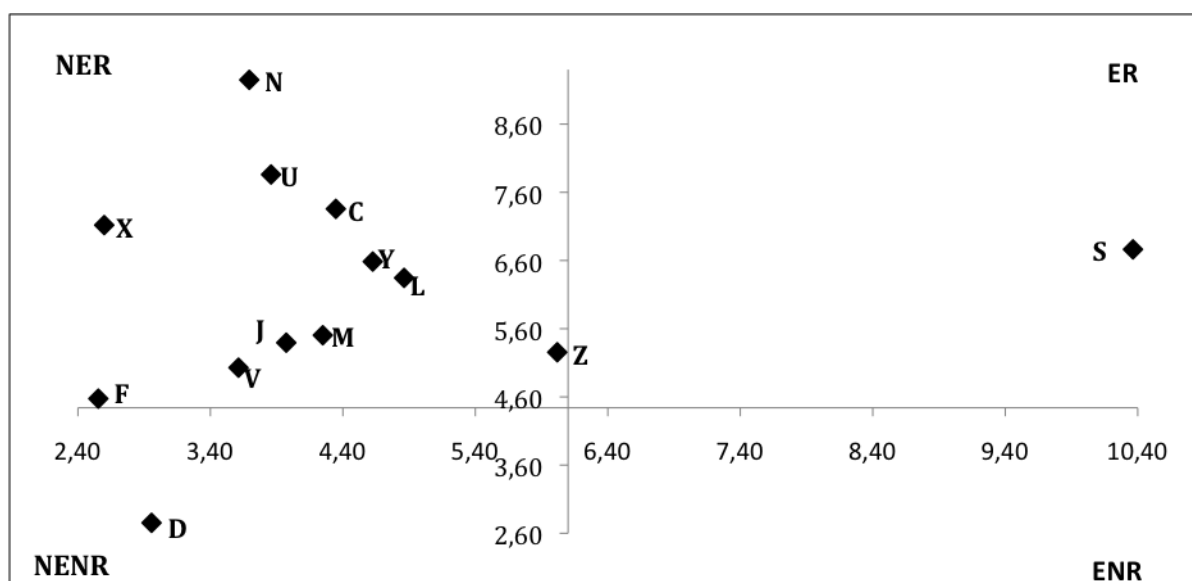


Figura 1 – Diagrama de classificação dos genótipos SMIC 148-A (C), Dakota Rose (D), SMINIA 793103-3 (F), SMIB 106-7 (J), SMIE 040-6RY (L), SMIF 212-3 (M), SMIF 313-3 (N), SMIJ 319-1(S), P 150 (U), SMIJ 461-1 (V), SMINIA 00017-6 (X), A513-1(Y) e SMG (Z) quanto à resposta da aplicação de P na produção de massa seca total da planta aos 40 dias após inoculação (DAI) em condições de cultivo *in vitro*. Eficiente e responsivo (ER); não eficiente e responsivo (NER); eficiente e não responsivo (ENR); não eficiente e não responsivo (NENR).

Conclusão



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Em condições de cultivo *in vitro*, o genótipo SMIJ 319-1 é o mais eficiente na utilização do P em baixa dose deste elemento, enquanto o genótipo Dakota Rose não é nem eficiente nem responsivo ao P na produção de massa seca total. Os demais genótipos são não eficientes mas responsivos ao P.

Referências

- DALE, M. F. B.; MACKAY, G. R. Inheritance of table and processing quality. In: Bradshaw, J. E.; Mackay, G.R. (eds.). **Potato Genetics**. CAB International. p. 285 – 315, 1994.
- ESPINDULA, L. F.; MINELLA, E.; DELATORRE, C. A. Low- P tolerance mechanisms and differential gene expression in contrasting wheat genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1100-1105, 2009.
- FAO. FAOSTAT data 2013. **Produção mundial de batata**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 07 fev. 2013.
- FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Batata-semente pré-básica: Cultura de Tecidos. In: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. (Eds.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Embrapa Clima Temperado. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, p. 421-433.
- GAUME, A. et al. Low P tolerance by maize genotypes: significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. **Plant and Soil**, The Hague, v. 228, p. 253-264, 2001.
- GOOD, A. G.; SHRAWAT, A. K.; MUENCH, D. G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, p. 597-605, 2004.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Org.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, p. 183-260, 1998.
- 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.
- KANE, M. E. Micropropagation of potato by node culture and microtuber production. In: Trigiano RN, Dennis JG (Eds) **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises** (2nd Edn), Boca Raton, p. 103-110, 2000.
- LI, K. et al. Efficient production and characterization for maize inbred lines with low-phosphorus tolerance. **Plant Science**, Wuhan, v. 172, p. 255-264, 2007.
- LIN, W.; LIN, S.; CHIOU, T. Molecular regulators of phosphate homeostasis in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 5, p. 1427-1438, 2009.
- 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.
- PEREIRA, J. E. S. et al. Avaliação de dois sistemas hidropônicos na produção de material pré-básico



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, suplemento CD-Rom, 3 p. 2001.

TORRES A. C, CALDAS L. S.; BUZZO J. A. (Eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. v. 1. e 2. Brasília, Embrapa, 864 p. 1998.

VENEKLAAS, E. J. et al. Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. **New Phytologist**, Oxford v. 195 p. 306-320, 2012.

VON UEXKÜLL, H. R.; MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 171, n. 1, p. 1-15, 1995.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



GENÉTICA E CITOGENÉTICA



ESTIMATIVA DA VIABILIDADE POLÍNICA DE *Dichorisandra thyrsiflora* J.C. MIKAN ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE COLORAÇÃO

KUHN, A.W.^{1*}; TEDESCO, M.¹; SILVA, A.C.F.²; TEDESCO, S.B.²

¹ Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: andrikuhn@hotmail.com

² Agrônomo, Professor Associado, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga, Professora Associada-Orientadora, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia e Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O Brasil possui uma flora riquíssima de plantas ornamentais, no entanto, apesar da importância de estudos citogenéticos para o melhoramento, não existem estudos detalhados na área de viabilidade polínica relacionados a essas espécies. Em virtude do emprego ornamental de *Dichorisandra thyrsiflora*, o presente trabalho objetivou realizar a estimativa da viabilidade polínica através da comparação entre 3 métodos de coloração, possibilitando futuros trabalhos de melhoramento genético. Foram coletadas as inflorescências de uma população da espécie e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético) durante 24 horas a temperatura ambiente, sendo então transferidas para etanol 70% e armazenadas sob refrigeração. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras e, para a coloração dos grãos de pólen foram utilizados três corantes distintos: orceína acética 2%, carmim acético 2% e reativo de Alexander. Foram preparadas as lâminas e contados 500 grãos de pólen por corante. Os dados foram analisados utilizando o teste estatístico Qui-quadrado (χ^2). A partir dos resultados obtidos foram observadas diferenças significativas entre os diferentes corantes, sugerindo a orceína acética 2% como o corante menos adequado para o estudo da viabilidade polínica nessa espécie.

Palavras-chave: Citogenética. *Dichorisandra thyrsiflora*. Viabilidade Polínica.

Introdução

O Brasil possui uma flora riquíssima e, em relação a muitas espécies que possuem



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



características ornamentais, não se conhecem sequer os aspectos básicos, principalmente aqueles relacionados a reprodução. Tais informações, além de contribuírem para o conhecimento de nossa flora, deverão propiciar a realização de cruzamentos melhor dirigidos em trabalhos de melhoramento genético, imprescindíveis na obtenção de material comercialmente viável (BOAVENTURA e MATTHES, 1987).

Devido à importância de estudos citogenéticos para trabalhos de melhoramento (AULER et al., 2006), existe um crescente interesse por espécies, tanto de valor medicinal quanto ornamental (GUERRA, 1990; LOVATTO e BATTISTIN, 1997; PEDROSA et al., 1999; PAGLIARINI, 2000). A exploração comercial de plantas ornamentais em nosso país tem se expandido muito nos últimos 15 anos, passando de uma atividade amadorística a verdadeiras empresas comerciais (BOAVENTURA e MATTHES, 1987). Entre as espécies de interesse, encontra-se a planta ornamental da família Commelinaceae, *Dichorisandra thyrsiflora* J.C. Mikan.

A família Commelinaceae, a qual está incluída na ordem Commelinales (APG III, 2009), possui aproximadamente 650 espécies e 40 gêneros dispersos em regiões temperadas e tropicais (JUDD, 2007). As representantes desta família caracterizam-se, principalmente pelos caules herbáceos, carnosos, e pelas flores de variadas cores. Várias de suas espécies apresentam potencial ornamental, pela facilidade de cultivo em vasos e por desenvolverem-se bem à sombra (BARRETO, 1997; BARRETO, 2002).

O gênero *Dichorisandra* ocorre predominantemente no Brasil, onde foram registradas 23 espécies (BARRETO 2005), no entanto não existem estudos detalhados na área de viabilidade polínica relacionados a essas espécies. A viabilidade do grão de pólen pode ser determinada por métodos diretos como a indução da germinação *in vivo* ou *in vitro*, e por métodos indiretos com base em variáveis citológicas como a coloração (DAFNI, 1992; SHIVANNA y RANGASWAMY, 1992; KEARNS e INOUE, 1993).

O estudo de viabilidade polínica é usado no melhoramento de plantas de várias espécies devido a facilidade, rapidez, baixo custo e confiabilidade da técnica. O genótipo de um indivíduo provém de um gameta masculino e um feminino; portanto, quanto maior a viabilidade do grão de pólen, maior a probabilidade de obter-se diferentes combinações de alelos e, assim, maior a variabilidade genética (SOUZA et al., 2002).

Em virtude do emprego ornamental de *Dichorisandra thyrsiflora*, o presente trabalho objetivou realizar a estimativa da viabilidade polínica através da comparação entre três métodos de coloração, possibilitando futuros trabalhos de melhoramento genético.



Material e métodos

Para a realizacao da estimativa da viabilidade polinica de *Dichorisandra thyrsiflora*, foram coletadas as inflorescencias de uma populacao da especie, no municipio de Tupancireta, RS, e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol:acido acetico) durante 24 horas a temperatura ambiente, sendo entao transferidas para etanol 70% e armazenadas sob refrigeracao. As laminas foram preparadas pela tecnica de esmagamento das anteras (GUERRA e SOUZA, 2002). Para a coloracao dos graos de polen foram utilizados tres corantes distintos: orceina acetica 2%, carmin acetico 2% e reativo de Alexander.

Foram preparadas as laminas e contados 500 graos de polen por corante. Quando utilizados os corantes orceina acetica 2% e carmin acetico 2%, os polens corados foram considerados viaveis e, os nao corados, inviaveis. Ja com o corante reativo de Alexander, foram considerados viaveis os graos de polen de cor púrpura e inviaveis os de cor verde-claro-azulado.

Os dados foram analisados por meio do Programa Bioestat 4.0 utilizando o teste estatístico Qui-quadrado (χ^2) a 5% de probabilidade.

Resultados e discussões

Através dos resultados obtidos pelo estudo dos graos de polen de *Dichorisandra thyrsiflora*, apresentados na Tabela 1, pode-se observar que o corante orceina acetica superestimou a viabilidade polinica da planta, apresentando 100% de viabilidade (Figura 1). Pois, quando testados os outros dois corantes, carmin acetico (Figura 2) e reativo de Alexander (Figura 3), percebe-se uma menor porcentagem de graos de polen viaveis, 84,2% e 77,6%, respectivamente.



Tabela 1 - Comparação da viabilidade polínica de *Dichorisandra thyrsiflora* com diferentes corantes.

População	Orceína acética 2%		Carmim acético 2%		Reativo de Alexander	
	N*	% Viabilidade	N	% Viabilidade	N	% Viabilidade
Tupanciretã, RS	500	100a	421	84,2b	388	77,6c

*N= número de grãos de pólen viáveis.

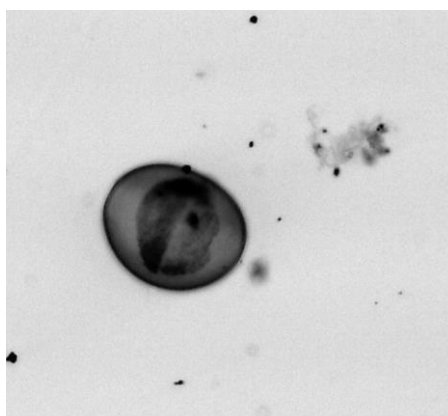


Figura 1 – Grão de pólen viável de *Dichorisandra thyrsiflora* corado com orceína acética 2%.

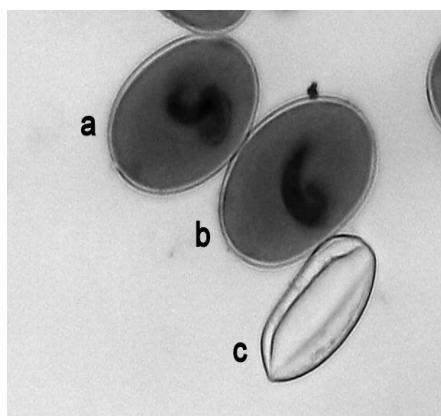


Figura 2 – Grãos de pólen de *Dichorisandra thyrsiflora* submetidos ao corante carmim acético 2%. **a**, **b**: viáveis (corados); **c**: inviável (não corado).

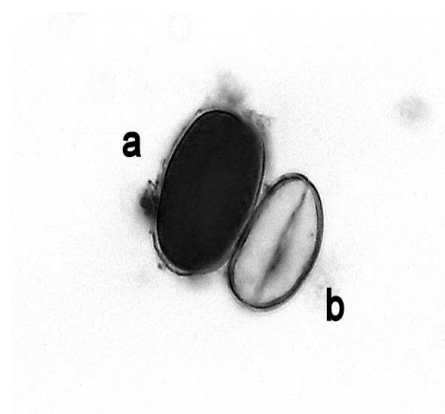


Figura 3 – Grãos de pólen de *Dichorisandra thyrsiflora* corados com reagente de Alexander. **a**: viável (coloração púrpura); **b**: inviável (coloração verde-claro-azulado).

Em plantas ornamentais, a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen pela técnica de coloração utiliza-se de diversos corantes, entre eles a orceína acética 2%, o carmim acético 2% e o reagente de Alexander. Em *Portulaca grandiflora* Hook, conhecida popularmente como onze horas, foi encontrada alta viabilidade por meio da técnica com carmim acético, maior que 80%, segundo Fonseca (2010). Seguindo a mesma técnica, em *Cleome spinosa* Jacq, foi observada também uma alta viabilidade polínica em diferentes fases do desenvolvimento das flores: 94% de viabilidade na pré-antese, 96,2% na antese e 96% na pós-antese (PEREIRA et. al, 2007).

Além disso, outras espécies de valor fitoterápico também foram submetidas a testes de coloração. Tais como *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq., por meio de coloração com orceína acética 2%, que mostrou viabilidade de 83,25 a 96% em seus grãos de pólen (FACHINETTO e TEDESCO, 2009). Também a espécie *Baccharis trimera* (Less.) DC., a carqueja, foi testada com os corantes orceína acética, carmim acético e reagente de Alexander, apresentando diferenças significativas entre os mesmos e sugerindo o corante reagente de Alexander como o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen na espécie (AULER et. al, 2006).

Conclusão

A partir dos métodos de coloração em *Dichorisandra thyrsiflora*, foram observadas diferenças significativas entre os diferentes corantes, sugerindo a orceína acética 2% como o corante menos adequado para o estudo da viabilidade polínica nessa espécie.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Apoio: FAPERGS/CAPEL.

Referências

- APG III. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III.** (2009). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141:399-436.
- AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, p.55-63, 2006.
- BARRETO, R.C. (1997). **Levantamento das espécies de Commelinaceae R. Br. nativas do Brasil.** São Paulo-SP, 490 p. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade de São Paulo.
- BARRETO, R.C. (2002). A Família Commelinaceae R. Br. no Estado de Pernambuco. In: Tabarelli, M.; Silva, J.M.C. (eds.). **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente/Editora Massangana, v. 1, p. 319-329.
- BARRETO, R.C. (2005). Commelinaceae. In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.; Giulietti, A.M. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPES/Rima, v. 4, p. 195-210.
- BOAVENTURA, Y. M. S.; MATTHES, L. A. F. **Aspectos da biologia da reprodução em plantas ornamentais cultivadas no Estado de São Paulo: I - *Dichorisandra Thyrsiflora* Mikan (Comelinaceae).** *Acta Botanica Brasilica* [online]. 1987, vol.1, n.2, pp. 189-199.
- DAFNI, A. 1992. **Pollination ecology: a practical approach** University Press, New York.
- FACHINETTO, J. M.; TEDESCO, S. B. Número cromossômico, análise meiótica e estimativa da viabilidade polínica em populações de *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.11, n.1, p110-116, 2009.
- FONSECA, J. W. S. **Sistema reprodutivo de *Portulaca grandiflora* Hook com vistas ao melhoramento vegetal.** 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de Concentração: Fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia, 2010.
- GUERRA, M. S. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v.4, p.75-86, 1990.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 191p.
- LOVATTO M. T.; BATTISTIN A. Cytogenetics of five ornamental species of Liliales. **Ciência Rural**, v.27, p.583- 87, 1997.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, C. A.; SETVENS, P. F. (2007). Commelinaceae. In: Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, C.A.; Setvens, P.F. **Plant Systematics: A phylogenetics approach**. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publisher, p. 281-282.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. 1993. **Techniques for Pollination Biologists**. University Press of Colorado. Niwot. 583 p.

PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, v.23, p.997-1002, 2000.

PEDROSA, A.; GITAÍ, J.; SILVA, A. E. B.; FELIX, L. P.; GUERRA, M. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco - V. **Acta Botânica Brasileira**, v.13, p.49-60, 1999.

PEREIRA, D. A.; BRITO, A. C.; AMARAL, C. L. F. Biologia floral e mecanismos reprodutivos do Mussambê (*Cleome spinosa* Jacq) com vistas ao melhoramento genético. **Biotemas**, 20 (4): 27-34, dezembro de 2007.

SHIVANNA, K. R.; RANGASWAMY, N. S. 1992. Pollen Biology. **A Laboratory Manual**. Springer-Verlag. Berlin/New York. 119 p.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. 2002. Microsporogênes e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, 26(6): 1209-1217.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



ESTIMATIVA DA VIABILIDADE POLÍNICA DE *Pelargonium hortorum* L.H. Bailey POR METODOLOGIAS DE COLORAÇÃO

TEDESCO, M.^{1*}; KUHN, A.W.¹; TEDESCO, S.B.²; SILVA, A.C.F.³

¹ Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: marilia_tedesco@hotmail.com

² Bióloga, Professora Associada, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Agrônomo, Professor associado-orientador, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

A espécie *Pelargonium hortorum*, conhecida comumente como gerânio, é uma planta ornamental amplamente cultivada, especialmente por apresentar flores coloridas e vistosas. Em virtude da grande utilização comercial de plantas ornamentais, estudos relacionados à propagação destas espécies e sobre a viabilidade polínica são de relevante importância para o melhoramento genético dessas espécies. O objetivo deste trabalho foi analisar a viabilidade polínica dos grãos de pólen da espécie *Pelargonium hortorum* utilizando três corantes:orceína acética 2%, carmim acético 2% e reativo de Alexander. As inflorescências foram coletadas, fixadas em etanol:ácido acético (3:1) e conservadas em álcool 70%. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras e posterior coloração com os distintos corantes. Foram contados 500 grãos de pólen por corante e, então, calculado a porcentagem de grãos viáveis e inviáveis. Os resultados obtidos mostraram que 100% dos grãos de pólen corados com orceína acética 2%, carmim acético 2% e reativo de Alexander foram viáveis, não havendo diferença significativas entre os corantes. Conclui-se que *Pelargonium hortorum* possui uma alta viabilidade polínica, podendo ser incluída em um programa de melhoramento da espécie.

Palavras-chave: *Pelargonium hortorum*. Planta ornamental. Grão de pólen.

Introdução



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



A caracterização citogenética de uma espécie é importante para programas de melhoramento, uma vez que auxilia a seleção de materiais adequados e a sua monitoração constante, revelando alterações na fertilidade dos indivíduos (NAVARINI, 2008). A citogenética vegetal no Brasil está fortemente voltada para as plantas cultivadas com interesse econômico. Existe, no entanto, um crescente interesse por outras espécies, tanto de valor medicinal quanto ornamental (GUERRA, 1990; LOVATTO e BATTISTIN, 1997; PEDROSA et al., 1999 e PAGLIARINI, 2000). Entre as espécies de interesse, encontra-se a planta ornamental da família Geraniaceae, *Pelargonium hortorum* L.H. Bailey.

O gênero *Pelargonium* (família Geraniaceae) é composto por cerca de 300 espécies de plantas, sendo a maioria nativas do Sul da África (MOORE, 1971). Espécies de *Pelargonium* são cultivadas por suas flores coloridas e vistosas, folhagem perfumada e forma exótica das folhas (WOOD, 1966; WHITE, 1993). Horticulturalmente, os híbridos *Pelargonium hortorum*, conhecidos popularmente por gerânios, são as mais importantes das variedades vegetais (HORN, 1994). No Brasil, *Pelargonium hortorum* e outras espécies do mesmo gênero são plantas ornamentais comumente encontradas em jardins. Têm folhas arredondadas, simples, duplocrenadas e cordiformes na base. As flores, em geral cor-de-rosa, encontram-se reunidas numa inflorescência perecida com uma umbela, mas, na verdade, são compostas por vários cicínios (cimeiras helicoides) truncados (SCHULTZ, 1984).

A viabilidade do pólen é um parâmetro importante para o estudo de plantas, pois, além de evidenciar a potencialidade reprodutora masculina da espécie, contribui em estudos taxonômicos, ecológicos, palinológicos, fornecendo informações básicas para a aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de melhoramento ou cultivo (ALEXANDER, 1980; ARROYO, 1981; GUINET 1989).

Ao se considerar a importância comercial de *Pelargonium hortorum*, o presente trabalho teve como objetivo realizar a estimativa da viabilidade polínica da espécie com uso de três metodologias de coloração, visando futuros trabalhos de melhoramento genético.

Material e métodos

As inflorescências de uma população de *Pelargonium hortorum* foram coletadas no município de Tupanciretã – RS. Para realizar a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen,



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



estas foram imediatamente fixadas em etanol-ácido acético (3:1), por 24 horas, a temperatura ambiente, transferidas para etanol 70% e, então, armazenadas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras (GUERRA e SOUZA, 2002). Foram utilizados para a coloração três tipos de corantes: orceína acética 2%, carmim acético 2% e Reativo de Alexander.

Para realizar a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen, as lâminas foram preparadas e contados 500 grãos de pólen a partir de cada corante, obtidos de plantas de uma população. Os corantes orceína acética 2% e carmim acético 2% coram imediatamente os grãos de pólen, sendo considerados viáveis os grãos corados e inviáveis os não corados, bem como os diminutos. Na utilização do corante reativo de Alexander, foi necessário realizar a observação somente após 24 horas, sendo considerados viáveis os grãos de pólen com coloração púrpura, enquanto que os com coloração azul-esverdeada foram considerados inviáveis, bem como os diminutos.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que 100% dos grãos de pólen corados com orceína acética 2%, carmim acético 2% e reativo de Alexander foram viáveis, mostrando que não houve diferença significativa entre os diferentes corantes.

Tabela 1 – Comparação da viabilidade polínica de *Pelargonium hortorum* por diferentes metodologias de coloração.

Orceína acética 2%			Carmim acético 2%		Reativo de Alexander	
População	N*	% Viabilidade	N	% Viabilidade	N	% Viabilidade
Tupanciretã/RS	500	100	500	100	500	100

*N= número de grãos de pólen viáveis.

A Figura 1 mostra os grãos de pólen viáveis de *Pelargonium hortorum* corados com reativo de Alexander (Figura 1a), orceína acética 2% (Figura 1b) e carmim acético 2% (Figura 1c).

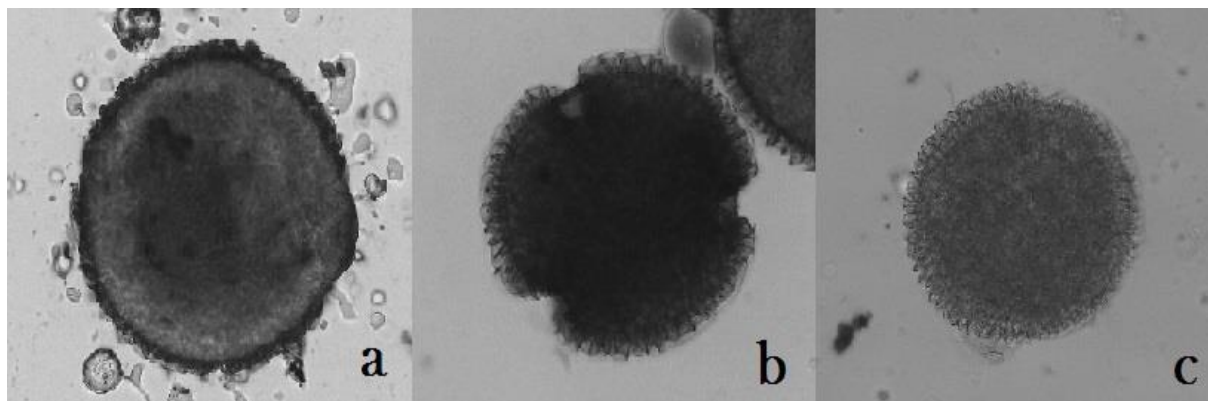


Figura 1 – Grãos de pólen viáveis de *Pelargonium hortorum*. **a:** grão de pólen viável corado com reagente de Alexander; **b:** grão de pólen viável corado com orceína acética 2%; e **c:** grão de pólen viável corado com carmim acético 2%.

Estudos da estimativa da viabilidade polínica pelo método da coloração foram realizados com plantas ornamentais por vários autores. Junior et al. (2011) utilizaram os corantes orceína acética 2%, carmim acético 2% e reagente de Alexander para verificar a estimativa da viabilidade polínica em *Adenocalymma* sp Benth, registrando alta viabilidade (acima de 90%) nas populações estudadas. Plantas medicinais de valor comercial também foram submetidas a diferentes metodologias de coloração para verificação da viabilidade polínica. Frescura et al. (2010) registraram de 65 a 80% de viabilidade em *Casearia sylvestris* Sw. com a utilização de orceína acética 2% e reagente de Alexander. Auler et al. (2006) encontraram de 88,9 a 98,95% de grãos de pólen viáveis para *Baccharis trimera* Less. DC com a utilização de carmim propiônico 2%, orceína acética 2% e reagente de Alexander. Em espécie invasora dos campos sulinos, *Eragrostis plana* Ness, Piccinini et al. (2010) encontraram 95% dos grãos de pólen viáveis através da utilização do corante reagente de Alexander, demonstrando também alta viabilidade.

Conclusão

Por meio da metodologia de coloração comparativa com diferentes corantes, conclui-se que a espécie *Pelargonium hortorum* possui alta taxa de viabilidade polínica, o que viabiliza a inclusão dessa espécie em um programa de melhoramento genético.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Referências

- ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, v.1, n.5, p.13-8, 1980.
- ARROYO, M. T. K. **Breeding systems and pollination biology in leguminosae**. In: POLHILL, M.; RAVEN, P.H. (Eds). *Advances in legumes systematics*, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981, p.723-69.
- AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, p.55-63, 2006.
- FRESCURA, V. D.; TEDESCO, S. B.; DOROW, T. S. C. Testes de coloração para análise da viabilidade polínica de *Casearia sylvestris* (SW). In: 25ª Jornada Acadêmica Integrada da UFSM, Santa Maria. **Anais JAI**, 2010.
- GUERRA, M. S. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.4, p.75-86, 1990.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 191p.
- GUINET, P. H. **Advances in legume biology**: struture evolution, and biology of pollen in Leguminosae. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1989. 842p
- HORN, W. Interspecific crossability and inheritance in *Pelargonium*. **Plant Breed.** 113:3±17; 1994.
- JÚNIOR, J. D. et al. Viabilidade Polínica de *Adenocalymma* sp. In: Congresso de Iniciação Científica, 4ª. (JC), 2011, Cáceres/MT. **Anais...** Cáceres/MT: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PRPPG, Vol. 7 (2011). CD-ROM.
- LOVATTO M. T.; BATTISTIN A. Cytogenetics of five ornamental species of Liliales. **Ciência Rural**, v.27, p.583- 87, 1997.
- MOORE, H. E. **Plant classification 3**: Taxonomy in cultivation. In: Mastalerz, J. M., ed. *Geraniums*, a Penn State manual. University Park, Pennsylvania: Pennsylvania Flower Growers; 1971:14±15.
- NAVARINI, A.P.G. **Caracterização citogenética de populações de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schltdl (Clusiaceae) em comparação com outras espécies do gênero**. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, v.23, p.997-1002, 2000.

PEDROSA, A. et al. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco - V. **Acta Botânica Brasileira**, v.13, p.49-60, 1999.

PICCININI, et al. Estudo sobre a viabilidade polínica de genótipos de *Eragrostis plana* Nees. *In*: 25ª Jornada Acadêmica Integrada da UFSM, 2010, Santa Maria. **Anais JAI**, 2010.

SCHULTZ, A. **Introdução a botânica sistemática**. 4 ed. Porto Alegre, Ed. da Universidade, 1984. v.2, pg. 162.

WHITE, J. **Geranium, IV**. Geneva, IL: Ball Publishing; 1993.

WOOD, H. J. **Pelargoniums**: a complete guide to their cultivation. UK: Wheaton & Co; 1966.



INDICATIVO DE ESTABILIDADE DE TRITICALE VIA ANALISES CITOGENÉTICAS DO GRÃO DE PÓLEN

SOSTER, M.T.B.^{1*}; BRAMMER, S.P.²; NASCIMENTO JUNIOR, A.²; POSSER, A.J..³

¹ Professora, Curso de Agronomia, IFRS-CAMPUS Sertão, Sertão- RS, Brasil. * E-mail: maria.soster@sertao.ifrs.edu.br.

² Pesquisadores Embrapa Trigo

³ Bolsista do curso de Agronomia- IFRS-Campus Sertão

Resumo

Avaliou-se 22 genótipos de triticales (*X Triticosecale* Witt.) oriundos do Programa de Melhoramento da Embrapa Trigo em 2011 quanto à viabilidade polínica. Os materiais foram fixados em Carnoy 1% e avaliadas, três anteras por espigas, variando de oito a onze repetições por genótipo. Foram avaliadas 62.826 células, verificando-se pólenes normais (bi/trinucleados, presença de amido e um poro), atípicos (vazios), com dois poros e polimórficos (com diferentes tamanhos), com objetivo de obter dados para a seleção. A maioria dos genótipos se mostraram estáveis e promissores dentro do programa de melhoramento e um deles, se mostrou menos estável, sugerindo provável instabilidade genética, o que reforça este tipo de avaliação citogenética como seleção assistida aos programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: Hibridação, Cultivares, Melhoramento genético

Introdução

O triticales é um cereal de inverno, fruto do cruzamento artificial de trigo (*Triticum aestivum*) com centeio (*Secale cereale*). Seu cultivo no Brasil iniciou-se no planalto do estado do Rio Grande do Sul, sendo, posteriormente, difundido para o Centro e Sul dos estados de Santa Catarina e Paraná. A partir de então, a área de produção aumentou consideravelmente, abrangendo também os estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Goiás (Iorckeski al., 2008).



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Análises citológicas são atualmente empregadas na seleção assistida, especialmente para a escolha de parentais e os cruzamentos, visando avaliar de modo rápido e eficiente a estabilidade genética. Destaca-se a análise da viabilidade polínica, pois rapidamente pode-se examinar centenas de grãos de pólen e verificar se há presença de micronúcleos. No caso de pólen jovens, pode-se inferir sobre as anormalidades de comportamento cromossômico durante a meiose, e em fase mais tardia, algumas características anatômicas e fisiológicas importantes como: número de núcleos e poros, tamanho do pólen e quantidade de amido (Brammer, et al. 2007).

O objetivo desse trabalho foi analisar a viabilidade de grãos de pólen de triticales visando a obtenção de dados para a seleção de materiais.

Metodologia

Acessos do bloco de cruzamentos de 2011 oriundos do Programa de Melhoramento de Trítale da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, foram submetidos à análises microscópicas no IFRS-Campus Sertão. Para tal, foram coletadas inflorescências na fase anterior à antese e fixadas por 24h em Carnoy (3:1). As amostras foram mantidas em álcool 70%, sob refrigeração, para que os grãos de pólen fossem analisados quanto à sua viabilidade. Utilizou-se três anteras por lâmina, com variações de oito a onze repetições, conforme a disponibilidade enviada para o ensaio. As anteras foram maceradas em lâminas, coradas com Carmim Acético a 1% e analisadas em microscópio ótico.

Os grãos de pólen foram contados (pelo menos 250 por lâmina), para obter uma estimativa confiável, e classificados quanto à viabilidade (normais), atípicos (inviáveis, vazios, duplo poro) e polimórficos (tamanhos diferentes). Avaliou-se 22 acessos. Os dados foram enviados para a Embrapa Trigo para realização dos procedimentos compatíveis com o programa de melhoramento.

Os dados foram apresentados em tabelas descritivas e com análises estatísticas parciais, com medidas de tendência central (médias), ANOVA e teste Tukey a 5% de significância.



Resultados e discussões

Verificou-se a presença de pólenes polimórficos (de diferentes tamanhos) em todos os genótipos, em maior ou menor proporção, bem como pólenes que não foram corados por Carmim Acético 1%, considerados neste estudo como vazios, além de pólenes com dois poros.

Esses dados permitem inferir sobre o comportamento meiótico de linhagens e cultivares, sendo relevantes para o melhoramento genético, pois possibilitam a realização de um mapa daqueles genótipos que são promissores, ou pelo menos, um indicativo disso.

Foi possível constatar variação entre os acessos de tritcale, que, por suas origens e características, devem justificar essas variações, podendo estar associados à genótipos em desenvolvimento, fruto de hibridações recentes, ou associados à cultivares já estabelecidos, sendo que esses dados são condizentes com o programa de melhoramento do cereal, que fica à encargo da Embrapa Trigo.

Foram analisadas um total de 62.826 células de grãos de pólen dos genótipos de Triticale, com média variando de 282 a 292 células por lâmina, embora fosse previsto a análise de pelo menos 250 células por lâmina, fornecendo assim, maior credibilidade dos resultados pelo maior número de células observadas (Tabela 1). Em relação a não ter número de repetições iguais, conforme ANOVA (Anexo1), quanto ao número de células avaliadas, não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey tanto a 5% como a 1%. O coeficiente de variação foi de 11,76, tendo desvio padrão de 34 e média de 292,21 células avaliadas por lâmina.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Tabela 1- Número de células (grãos de pólen) avaliadas por genótipo de tritcale e número médio de células avaliadas por lâmina

Genótipos	Total de células avaliadas	Número médio de células analisadas por lâmina
TPOLO 3-8	2918	292
BRS Netuno	3123	283,9
PFT 0910	2871	287
PFT 0610	2283	285
TPOLO 0629	3035	303
TPOLO 61	2422	302,7
PFT 1203	3162	316
BRS Saturno	2338	292
BRS Ulisses	3026	303
IPR 111	3015	301
PFT 1210	2797	279
PFT 0905	2887	288
PFT 0706	2874	287
PFT 1215	2878	288
PFT 0906	2815	281
Embrapa 53	2884	288
PFT 1005	2921	292
BRS 203	3089	309
PFT 1103	2904	290
PFT 0705	2890	289
BRS Minotauro	2871	287
TPOLO 0608	2823	282
TOTAL	62.826	

Quanto às variações apresentadas pelas células de grão de pólen dos acessos de Tritcale, foram separadas em pólenes normais, corados pelo carmin acético a 1%, pólenes atípicos (não corados pelo corante Carmin Acético a 1%) e pólenes polimórficos (que apresentam diferentes tamanhos), conforme ilustrado na metodologia. Assim, estabeleceu-se uma amplitude de variação, considerando a porcentagem de pólenes normais mais elevadas (máximo) e porcentagem de pólenes normais em menor expressão, nos diferentes genótipos de tritcale, exposto na Tabela 2.

A cultivar BRS203, juntamente com duas linhagens (TPOLO 3-8 e TPOLO 0608) foram os que apresentaram maior quantidade de pólenes normais e menor variação entre eles, podendo ser considerados materiais mais estáveis, ao passo que a cultivar Minotauro, apresentou grande amplitude entre seus materiais, variando em, aproximadamente, 17



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



pontos percentuais, enquanto que o genótipo que menos variou, apresentou índices de 3,9 pontos percentuais (BRS 203), indicado na Tabela 2.

Tabela 2 – Amplitude de pólenes normais dos genótipos de triticales

Genótipos	Porcentagem máxima de pólenes normais	Porcentagem mínima de pólenes normais
BRS 203	100	96,10
TPOLO 3 8	100	95,09
TPOLO 0608	100	95,87
BRS Ulisses	99,70	96,35
PFT 0910	99,67	95,20
PFT 0706	99,66	93,79
BRS Netuno	99,62	90,88
PFT 0705	99,60	96,99
BRS Saturno	99,40	93,41
Embrapa 53	99,35	95,92
IPR 111	99,33	92,94
PFT 1012	99,27	95,68
PFT 1215	99,27	91,72
PFT 1203	99,20	96,49
PFT 1103	99,02	96,15
TPOLO 0629	98,98	95,99
TPOLO 61	98,95	90,00
PFT 1005	98,91	93,59
PFT 0905	98,64	92,66
PFT 0610	98,49	94,49
PFT 0906	98,41	95,15
BRS Minotauro	97,00	79,47

A instabilidade é uma característica herdável, sendo de extrema importância que genótipos de Triticale sejam analisados geneticamente para a detecção de possíveis anormalidades, e que possam ser usadas como inferência na seleção de plantas ou linhas avançadas uniformes. Assim, Piana e Carvalho (2008), destacam que diversas pesquisas já foram desenvolvidas visando determinar a taxa de fecundação cruzada possível em genótipos de triticales, mas os resultados são diversos e variam conforme a ploidia do triticales e o genótipo. Isso pode ser explicado pelo fato de que influências genéticas e ambientais alteram a frequência de alogamia entre as plantas. De modo geral, triticales octoploides apresentam taxas de fecundação cruzada, mas não temos a descrição desses materiais.



Dentre os pólenes atípicos, constatou-se que todos os genótipos os apresentavam em maior ou menor grau. No entanto, o genótipo que apresentou menos pólenes sem corar foi o representante da linhagem PFT 0610, e o genótipo que apresentou mais pólenes atípicos foi o TPOLO 61 (Tabela 2). Pólenes não corados é um indicio de que a viabilidade é afetada, e parece ser mais relevante que o polimorfismo, pois mesmo estando polimórficos, ou seja, com tamanhos diferentes, não significa que afete em sua fertilidade, mas indica uma redução da estabilidade, pois as meioses estão sendo realizadas de forma distinta. Esse fato sugere que as meioses não estão sendo feitas adequadamente e, quando esse processo é verificado na porção masculina, indica probabilidade de que a contra-parte feminina também esteja sofrendo alterações meióticas. Nesse caso, ocorre a inviabilização da produção de gametas, logo, a formação de sementes viáveis, comprometendo tanto o programa de melhoramento e quando a produção de sementes.

Verificou-se que o cultivar BRS Minotauro apresentou maior número de células polimórficas, ao passo que os genótipos PFT 0705 e TPOLO 0608 foram os mais estáveis, podendo ser considerados materiais promissores para o programa de melhoramento de Triticale (Tabela 3).

Tabela 3 – Amplitude de polens polimórficos (tamanhos diferentes) dos genótipos de triticale

Genótipos	Porcentagem máxima de polens POLIMÓRFICOS	Porcentagem mínima de polens POLIMÓRFICOS
BRS Minotauro	20,53	1,12
BRS Netuno	6,76	0
BRS Ulisses	6,25	0
PFT 1005	6,09	0,36
PFT 0610	5,15	1,09
PFT 0910	4,8	0,33
IPR 111	4,41	0,34
BRS Saturno	4,24	0,6
PFT 0905	4,07	0
PFT 0906	3,73	0,71
TPOLO 61	3,57	0,7
TPOLO 3 8	3,47	0
PFT 1215	3,1	0,36
PFT 0706	3,07	0
TPOLO 0629	2,55	0,63
BRS 203	2,29	0
PFT 1203	2,24	0,37
PFT 1103	2,1	0



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



Embrapa 53	2,19	0,33
PFT 1210	2,16	0,36
PFT 0705	1,88	0
TPOLO 0608	1,5	0

No Brasil, conforme a Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa em Trigo e Triticale (2011), somente 13 cultivares de Triticale são recomendados, sendo assim, a contribuição dessa pesquisa para compor dados do programa de melhoramento da espécie, avaliando 22 acessos, é um importante passo, fortalecendo a pesquisa na área e com o cereal e parcerias entre as instituições, bem como o incentivo às práticas de pesquisa dentro da instituição parceira. Além disso, associar instituições de pesquisa é um bom caminho para a geração de dados e iniciação dos alunos à pesquisa científica.

Conclusão

Diferenças genotípicas foram observadas entre os 22 acessos de triticale analisados, representando, deste modo, um passo importante para o andamento do programa de melhoramento, investindo em materiais promissores. O trabalho conjunto do melhorista com o citogeneticista permitiu identificar os acessos mais estáveis, bem como as anomalias na estrutura do grão de pólen. Essas anormalidades, por sua vez, podem afetar a fertilidade, a ocorrência de progênies desuniformes nos cruzamentos e prejudicam a adaptação de cultivares nos diferentes ecossistemas.

Referências

BRAMMER, S. P.; ZANOTTO, M.; ANDRÉIA CAVERZAN, A. Citogenética vegetal: da era clássica à molecular. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 9 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 85). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do85.htm>.

IORCZESKI, E. J. et al. Aveia, cevada, triticale e centeio. In: ALBUQUERQUE, A. C. S. & SILVA, A. G. Agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, p. 185-198.

PIANA, C. F. B.; CARVALHO, F.I.F de Trigo. In: BARBIERI, R. L.; STUMPI, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. 1ª Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 821-851.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA EM TRIGO E TRITICALE. **Informação para a safra 2012.** V Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa em Trigo e Triticale, 25-28 de julho de 2011. Dourados-MS. 204 p.



INVESTIGAÇÃO DO PODER ALELOPÁTICO DE *Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel (POACEAE) E SUA CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

BINOTTO, R.^{1*}; MARANGONI, L. D.²; COPETTI, T. G.³; MANFRON, M. P.⁴

¹ Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - UFSM, RS, Brasil * E-mail: raquelbinotto@yahoo.com.br.

² Engenheiro Florestal, Centro de Ciências Rurais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Graduanda, Curso de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, RS, Brasil.

⁴ Docente do Departamento de Farmácia Industrial, UFSM, RS, Brasil.

Resumo

Visando avaliar o potencial para uso alelopático de *Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel, conhecido como capim-milhã, foi testado o extrato bruto hidroalcoólico (EB) das partes aéreas do milhã em quatro bioensaios, visando avaliar seus efeitos em diferentes espécies alvo. Foram realizados fracionamento desse extrato e cromatografia em camada delgada para as classes químicas flavonoides, alcaloides e saponinas. No primeiro bioensaio, foram testadas as concentrações 0, 1, 2 e 3% do EB sobre alface (*Lactuca sativa* L.), cultivar Regina. Foram avaliados o índice de velocidade de germinação (IVG), o percentual de germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas. No segundo e terceiro bioensaios, as mesmas concentrações de EB descritas anteriormente foram testadas com alface (*L. Sativa*), cultivar Grandes Lagos (fotofase 12, $22 \pm 0,5$ °C) e girassol (*Helianthus annuus* L.) (fotofase 12, $24,1 \pm 0,5$ °C), cultivar graúda. Foram avaliados o IVG e o percentual de germinação das sementes. O quarto bioensaio foi realizado com *Lycopersicon esculentum* L., cultivar Santa Clara, utilizando-se as concentrações de 0 e 3% de EB. Obteve-se confirmação para presença de saponinas e flavonoides e possível ausência de alcaloides. O extrato hidroalcoólico de *D. ciliaris* promoveu efeitos negativos no desenvolvimento inicial de alface e tomate.

Palavras-chave: Capim-milhã. Germinação. Inibição.

Introdução

A necessidade de usos de espécies vegetais como fontes de metabólitos secundários para



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



diversas finalidades nas atividades humanas dá-se devido à forma, quantidade e produção/reprodução desses metabólitos. As substâncias produzidas por certas plantas podem interferir no crescimento e no desenvolvimento de outras plantas, o que vem sendo estudado mais ativamente desde 1937, quando Molish criou o termo Allelopathia (allelon = mútuo, pathos = prejuízo). Molish observou que nogueiras (*Juglans* spp.) produziam uma substância que inibia o crescimento de outras plantas naquele ambiente, determinada como óleo volátil (juglone), reconhecendo, assim, a interação com efeito prejudicial de uma planta em relação à outra (ALMEIDA, 1988).

Efeitos alelopáticos já foram observados em plantas do gênero *Digitaria* Heist, conhecidas por sua agressividade no meio em que se desenvolvem, cobrindo rapidamente o solo; pela resistência ao pisoteio, pragas, doenças, geadas e secas; além da produção elevada de massa foliar e pouca exigência quanto à fertilidade do solo. O gênero *Digitaria*, também conhecido por capim-milhã, pertence à família Poaceae (Gramineae), subfamília Panicoideae, tribo Paniceae (KISSMANN, 1997), que possui características típicas de plantas ruderais. *D. sanguinalis* L., por exemplo, possui estudos na área de alelopatia, que tem como base a ação dos compostos produzidos pela planta e atuantes em espécies vegetais alvos. O gênero abrange 300 espécies, das quais 125 estão presentes no continente americano. *D. nuda* Schumacher, *D. horizontalis* Willd., *D. ciliaris* (Retz.) Koel., *D. sanguinalis* (L.) Scop., *D. bicornis* (Lam.) Roem. & Schult. e *D. decumbens* L. são as espécies de ocorrência no Brasil, com distribuição definida em virtude das condições de clima, relevo e solo (STARCK et al., 2011). O que as distingue visualmente são as características morfológicas da espiguetas, de 2,2 mm a 4 mm.

Mostra-se de imenso valor o desenvolvimento de trabalhos que mostrem os efeitos dos compostos bioativos e que demandam assim expansão dos conhecimentos pertinentes aos fatos apontados nas pesquisas básicas.

Os compostos alelopáticos são produtos do metabolismo secundários que têm a capacidade de provocar sintomas em organismos receptores/alvo. Por isso, em trabalhos científicos tenta-se isolar esses produtos secundários e identificar sua estrutura química. Mas, sabe-se que um mesmo organismo pode produzir diversos aleloquímicos que irão provocar sintomas por estarem em conjunto.

Em algumas espécies vegetais, os principais aleloquímicos foram identificados, compreendendo cinco grupos de acordo com a classe estrutural: ácidos fenólicos, flavonóides, terpenóides, esteróides e alcalóides (WHITTAKER e FEENY, 1971). De



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



acordo com Putnam (1985) foram agrupados em: gases tóxicos, ácidos orgânicos e aldeídos, ácidos aromáticos, lactonas simples insaturadas, terpenóides e esteróis, quinonas, flavonóides, taninos, alcalóides, cumarinas e diversos.

Depois de liberados no ambiente pela volatilização, rizodeposição ou lixiviação, a forma de atuação das substâncias alelopáticas se dá pela sua ação nas diversas funções celulares, assim, seu mecanismo de atuação é similar ao dos herbicidas. Os aleloquímicos podem também causar efeitos indiretos sobre as plantas, pelas alterações nas propriedades e características nutricionais do solo e, também, nas populações e/ou atividades de microrganismos, nematóides e insetos (ALMEIDA, 1988).

Os bioensaios são utilizados para verificar o poder alelopático de plantas sobre o cultivo de outras, haja vista suas vantagens econômicas em análises preliminares e rapidez com que podem ser desenvolvidos. Os bioensaios de quantificação da germinação e de avaliação do crescimento inicial das plântulas alvo são os mais simples e servem para verificar o potencial alelopático de determinada espécie. *Lactuca sativa* é comumente utilizada como alvo em estudos alelopáticos, em virtude de sua sensibilidade, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos, por apresentar germinação rápida dos aquênios, em, aproximadamente 24 h, crescimento linear insensível às diferenças de pH em ampla faixa de variação e insensibilidade aos potenciais osmóticos menores que $-0,167$ MPa (ELAKOVICH, 1999, apud SILVA, 2004). Outras plantas alvos são utilizadas, a exemplo da *Helianthus annuus* (girassol), da mesma família que a alface, Asteraceae.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial para uso alelopático de capim-milhã utilizando extrato bruto hidroalcoólico (EB) das partes aéreas do milhã em fase de florescimento.

Metodologia

A coleta das partes aéreas de *D. ciliaris*, para a confecção do extrato hidroalcoólico, foram realizadas em fevereiro de 2012, no início do florescimento, aproximadamente aos 90 DAT para espécies de gramíneas. O material vegetativo foi coletado com tesoura de poda, acondicionado em sacos de papel e transportado para o laboratório Labinfito no Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



(UFSM). A espécie coletada foi identificada taxonomicamente de acordo com a chave analítica de identificação proposto por Canto-Dorow (2001).

O material vegetativo foi lavado com água, deixado secar sobre papéis e, no dia seguinte, mantido em estufa de ar circulante até a secagem, com posterior moagem em moinho de facas com malha média. A droga obtida foi macerada em etanol 70%, seguido de filtragem em gaze e algodão e em Funil de Büchner. Foram realizadas concentrações em Rotavapor II com recuperação do álcool, durante o período de seis meses. O extrato bruto hidroalcolico resultante foi liofilizado totalizando 35g da droga concentrada.

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Naturais e Exatas, Departamento de Ciências Biológicas da UFSM, com a aplicação do EB em diferentes concentrações sobre alface (*L. sativa*), girassol (*Helianthus Annuus*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*). As sementes das espécies alvo foram adquiridas no comércio local. As sementes de girassol foram submetidas a assepsia com imersão em: álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito 2% por 15 minutos, enxague triplo em água destilada autoclavada e tratamento com fungicida Carbendazin 1%. As sementes de alface e tomate foram tratadas com Captan 1%.

Para aplicação dos extratos, foram utilizadas caixas gerbox, submetidas à pré-lavagem e à limpeza com álcool 70%. Os papéis de germinação foram previamente esterilizados em autoclave a 120 °C por 20 minutos, colocados nas caixas gerbox e umedecidos conforme recomendação das Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009).

No primeiro bioensaio, com alface cv. Regina, foram determinadas a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), durante sete dias. Foram avaliados os comprimentos (cm) de raízes e partes aéreas das plântulas de *L. sativa* após 14 dias. As contagens foram realizadas em câmara de fluxo laminar, com três repetições de quatro plântulas, escolhidas aleatoriamente nas repetições.

No segundo e terceiro bioensaio, com alface, cv. Grandes Lagos, e girassol, foram determinadas a porcentagem de germinação e o IVG, durante sete e dez dias respectivamente. As contagens foram realizadas em câmara de fluxo laminar. No quarto bioensaio foi avaliado o PG em tomate aos 14 dias. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes cada, para alface e tomate, e de 10 sementes para girassol. Foram realizados Análise de Variância para avaliar a significância e Teste de Tukey com 5% de erro



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Para o fracionamento em funil de separação foram utilizados 15g do EB diluído em água destilada para extração dos compostos por polaridade crescente, com os seguintes solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol.

A técnica de cromatografia em camada delgada – CCDs foi realizada para algumas classes de compostos que são conhecidos por serem principais agentes aleloquímicos. Para isso, realizaram-se testes em CCD para saponinas, alcaloides e flavonoides com seus respectivos reveladores. Foram testados as fases móveis para:

- Saponinas: Diclorometano: metanol: água (80:40:5)
- Alcaloides: Triclorometano: metanol: hidróxido de amônio (93:6,5:5)
- Flavonoides: Triclorometano: acetona: ácido fórmico (75:16,5:8,5)

Resultados e discussões

No primeiro bioensaio, nas doses de 1 e 2%, a estatura das plântulas de alface diminuiu 46,18 e 69,88% respectivamente. Não somente o decréscimo do crescimento das plântulas é caracterizado na alelopatia no que se refere ao seu caráter inibidor, como também no presente trabalho observou-se o maior desenvolvimento das partes aéreas, conforme visualizado na Figura 1.

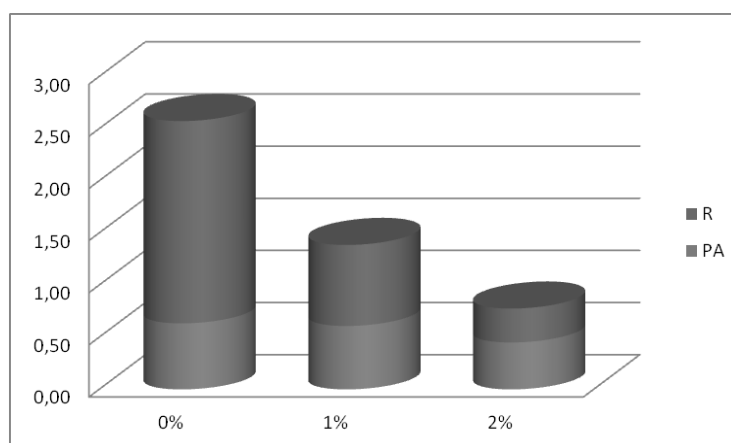


Figura 1 – Estatura de plantas de *L. sativa* sob a presença de diferentes concentrações de Extrato Bruto Hidroalcoólico 70% de *D. ciliaris*.

Pode-se verificar na relação entre partes aéreas e raízes, o aumento da relação PA/R, ou seja, com a diminuição no comprimento das raízes houve aumento do comprimento da parte aérea nas doses de 1 e 2% de EB de *D. Ciliaris*.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Pode-se observar a redução da porcentagem de germinação a partir da dose de 1% do EB de *D. ciliaris* em alface (Tabela 1). Os extratos da parte aérea de *D. ciliaris* nas concentrações de 1% a 3% promoveram reduções na porcentagem de germinação das sementes de *L. Sativa*, porém, não houve sensibilidade na germinação do girassol.

Tabela 1 – Valores médios para a taxa de sobrevivência de *Lactuca sativa* vc. Regina a 25 °C, *L. sativa* cv. Grandes Lagos a 22 °C em 7 dias e *Helianthus annuus* a 24,1 °C ao 10º dia após a semeadura em caixas gerbox nos tratamentos com Extrato Bruto hidroalcoólico 70% (EB) de *D. ciliaris*.

Tratamentos	% de germinação (PG)		
	L. sativa cv. Regina*	L. sativa cv. Grandes Lagos*	H. annuus ^{ns}
Testemunha	98,25a	93,00a	87,50
EB 1%	73,50b	56,00b	100,00
EB 2%	32,00c	6,00c	92,50
EB 3%	7,00d	2,00c	82,50
CV (%)	1.78	48.25	0.59

* Valores seguidos de letra diferente na vertical diferem-se pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

^{ns} Teste de Tukey não significativo a 5%.

A redução na germinação de sementes de *L. sativa* cv. Regina quando utilizadas as doses de 1, 2 e 3% de EB foi de, respectivamente, 24,75; 66,25 e 91,25 %. Enquanto que, para a cv. Grandes Lagos, a redução da germinabilidade foi de 37, 87 e 91%. Extratos aquosos da parte aérea de *Crotalaria juncea* L. reduziu a germinação da *Lactuca sativa* e de *Bidens pilosa* L. em cerca de 89,6% e 35,5% respectivamente, em consequência de seus efeitos alelopáticos (TEIXEIRA et al., 2004).

Os resultados obtidos com as cultivares de alface frente ao extrato corroboram com os obtidos por Alves et al. (1998), que verificaram redução na germinação de sementes de *Cucumis sativus* L. (pepino) após a exposição a concentrações superiores a 2% de extratos da folha de *Canavalia ensiformes* L. DC.

Na Tabela 2 visualizam-se os Índices de Velocidade de Germinação das espécies de alface e girassol.

Tabela 2 – Índices de Velocidade de Germinação de *Lactuca sativa* vc. Regina a 25°C, *L. sativa* cv. Grandes Lagos a 22°C em 7 dias e *Helianthus annuus* a 24,1°C ao 10º dia após a semeadura em caixas gerbox nos tratamentos com Extrato Bruto hidroalcoólico 70% (EB) de *D. ciliaris*.

Tratamentos	IVG		
	<i>L. sativa</i> cv. Regina*	<i>L. sativa</i>	<i>H. annuus</i> ^{ns}



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



cv. Grandes Lagos*			
Testemunha	19,29a	35.4881a	19.83
EB 1%	2,83b	20.99b	13.59
EB 2%	0,53c	2.23c	11.86
EB 3%	0,27c	0.65c	15.46
Média	5,73	16,59	15,18
CV (%)	53,67	94.67	17.61

* Valores seguidos de letra diferente na vertical diferem-se pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

^{ns} Teste de Tukey não significativo a 5%.

Na espécie de tomateiro, foram testadas as doses 0 e 3%, ao 14º dia obteve-se um percentual de germinação de 84% na testemunha e 2% no teste com o Extrato Bruto, onde houve apenas a emissão da radícula.

Verificou-se pela CCD a provável presença de saponinas e flavonoides na composição de *D. ciliaris* e ausência de alcaloides, o que não exclui a possibilidade de moléculas semelhantes a alcaloides existirem na amostra.

Conclusão

Obteve-se confirmação para presença de saponinas e flavonoides e possível ausência de alcaloides na amostra analisada. Os extratos hidroalcoólicos da espécie *D. ciliaris* promoveram efeitos negativos sobre a germinação e o IVG das sementes de *L. sativa*.

Referências

ALMEIDA, F. S. **A Alelopatia e as Plantas**. Londrina: IAPAR, 1988.

ALVES, M. C. S., et al. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, nov. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**.



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



Brasília: MAPA/ACS, 2009.

CANTO-DOROW, T. S. **O gênero Digitaria Haller (Poaceae - Panicoideae - Poniceae) no Brasil.** 2001. 386 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas** - Tomo I: Plantas inferiores e monocotiledôneas. São Bernardo do Campo: BASF, 1997.

MAGUIRE, J.D., Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176–177, 1962.

PUTNAM, A. R. Weed allelopathy. **Weed Physiology**, Boca Raton: CRC Press. p. 131-55. 1985.

SILVA, F. M. da. **Verificação da eficiência dos bioensaios com extratos aquosos no diagnóstico de potencial alelopático:** contribuição ao estudo de espécies nativas brasileiras. 2004. 87 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/4729/000414428.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 6 julho 2011.

STARCK, A. S.; LAABS, M. L.; BRAGA, R. da S. In: Gênero Digitaria. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: <<http://web.dv.utfpr.edu.br/www.dv/professores/arquivos/Luis%20Fernando%20Glasenapp%20de%20Menezes/Digitaria.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2011.

TEIXEIRA, C.M.; ARAÚJO, J.B.S.; CARVALHO, G.J. Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.3, p.691-695, maio/jun. 2004.

WHITTAKER, R. H.; FEENY, P. P. Allelochemis: chemical interaction between species. **Science**, v. 171, n. 3973, p. 757-70, fev. 1971.



NÚMERO DE CROMOSSOMOS EM *Rosmarinus officinalis* L.

FRESCURA, V.D.^{1*}; BARBOSA, F.M.²; SOUZA, J.M.³; LERNER, M.A.³; SCHMITT, O.J.¹; ANDRIOLO, J.L.⁴; TEDESCO, S.B.^{4,5}

¹ Pós-Graduando, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: vividfrescura@yahoo.com.br.

² Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Professor, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Professor, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma espécie que pode ser utilizada para a produção de óleo essencial utilizado na indústria de cosmético. É importante a determinação do número de cromossomos dessa espécie, sobretudo para fins de melhoramento. O presente estudo objetivou realizar a recontagem do número de cromossomos de *R. officinalis*. Foram utilizadas inflorescências de três acessos de *R. officinalis* para o preparo das lâminas pela técnica de esmagamento utilizando o coranteorceína acética 2%. Os resultados do presente trabalho demonstram que nos três acessos estudados o número gamético de cromossomos é $n = 12$ cromossomos.

Palavras-chave: Alecrim. Cromossomos. Meiose.

Introdução

Rosmarinus officinalis L. é uma espécie da família *Lamiaceae* com sinonímia botânica *R. latifolius* Mill., conhecida popularmente como alecrim. A planta possui porte



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



subarbastivo lenhoso, que atinge 1,5 m de altura, fuste ereto e pouco ramificado, folhas lineares, coriáceas e aromáticas, medindo 1,5 a 4 cm de comprimento por 1 a 3 mm de espessura, e flores azulado-claras e pequenas, com aroma forte e agradável (LORENZI e MATOS, 2006). Essa espécie possui relevante importância comercial, especialmente para a produção de óleo essencial utilizado na indústria de cosméticos (SIANI et al., 2000).

Massagem com óleo essencial de alecrim é revigorante e estimula a circulação, atua no alívio de dores reumáticas e musculares, facilita a digestão, é antisséptico, antifúngico e antibacteriano, auxilia no alívio de sintomas de resfriado, no tratamento de acne e oleosidade dos cabelos (BISSET, 1994). O alecrim também é indicado para estimular o apetite, no combate à azia, nos casos de problemas respiratórios, debilidade cardíaca, cansaço físico e mental, no tratamento de hemorróidas, hipertensão, reumatismo, gases no aparelho digestório, dor de cabeça e dismenorreia, além de ser antiespasmódico e cicatrizante (LORENZI e MATOS, 2006).

Considerando que existe um padrão de qualidade para a exportação do alecrim, caracterizado pela presença de folhas com 1,4 a 2,0% de óleo essencial e, no mínimo, 2,5% de ésteres e 10% de borneol (CORRÊA et al., 1994), há a necessidade de melhoramento dessa planta para se alcançar esse padrão de qualidade. Para De Guerra (1988), as análises citogenéticas auxiliam as técnicas de melhoramento de plantas, sendo o número cromossômico um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica, pois este fornece informações para o entendimento das alterações genéticas envolvidas, quando aliado a outros caracteres citológicos.

A análise cromossômica é importante ferramenta para a observação da variabilidade genética, tendo em vista que o número cromossômico pode variar dentro de um mesmo táxon ou entre táxons (GRIFFITHS et al., 2002). Ainda, Carvalho et al. (2009) destaca que o estudo citogenético em espécies de importância econômica pode contribuir de forma significativa em programas de melhoramento genético. Stace (1991) ressalta que as informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos.

Resultados obtidos para o número cromossômico de *R. officinalis* indicam que o $2n=24$ (LÖVE e KJELLQVIST, 1974; FERNANDES e LEITÃO, 1984; ROSÚA, 1985) e $n=12$ (VALDÉS et al., 1978).

A importância da determinação do número de cromossomos de espécies vegetais, especialmente para fins de melhoramento, somada à necessidade de estudos atualizados



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



sobre esse parâmetro, norteiam a realização do presente estudo que objetivou a recontagem do número de cromossomos de *R. officinalis*.

Metodologia

O material vegetal avaliado foi coletado no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. O estudo foi realizado no Laboratório de Citogenética e Genotoxicidade, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foram avaliados três acessos de *R. officinalis* cultivados em casa de vegetação no setor de fitotecnia da mesma universidade.

Foram preparadas mudas por estaquia e as plantas posteriormente cultivadas em vasos de 3,0 dm³ preenchidos com areia grossa, no período de agosto de 2012 a abril de 2013. A irrigação e fertirrigação foram realizadas por gotejamento através de microtubos com o uso de um controlador horário para irrigação de 15 minutos às 08:00 e às 12:00 horas.

A composição da solução nutritiva utilizada na fertirrigação foi de, em mmol L⁻¹: 8,26 de NO₃⁻; 1,86 de NH₄⁺; 4 de H₂PO₄⁻; 6 de K⁺; 2,0 de Ca²⁺; 1 de Mg²⁺ e 1 de SO₄²⁻. Os micronutrientes foram fornecidos nas concentrações de, em mg L⁻¹, 0,03 de Mo; 0,26 de B; 0,06 de Cu; 0,50 de Mn; 0,22 de Zn. O ferro foi fornecido separadamente, na concentração de 1,0 mg L⁻¹ na forma quelatizada. A condutividade elétrica dessa solução nutritiva é de 1,0 dS m⁻¹. A relação iônica entre nutrientes e a quantidade de fertilizantes foi calculada segundo Andriolo (1999), sendo a relação K⁺/(Ca²⁺+Mg²⁺) utilizada como controle, mantendo-a igual a 1, e o pH da solução = 6,0.

Inflorescências de *R. officinalis* foram coletadas e fixadas em etanol:ácido acético (3:1) durante um período de 24 horas, em temperatura ambiente. Após, foram mantidas em etanol 70% e conservadas sob refrigeração até o preparo das lâminas. Foram preparadas lâminas pela técnica de esmagamento (GUERRA e SOUZA, 2002), com o uso do coranteorceína acética 2% e as análises realizadas conforme as associações dos cromossomos na meiose I.

Resultados e discussões

Os resultados do presente trabalho demonstram que nos três acessos de *R. officinalis* (Figura 1) estudados o número haploide de cromossomos é de $n = 12$



cromossomos (Figura 2), corroborando com o resultado apresentado por Valdés et al. (1978).



b



Figura 1 – a) Inflorescência de *R. officinalis*; b) Planta de *R. officinalis*.

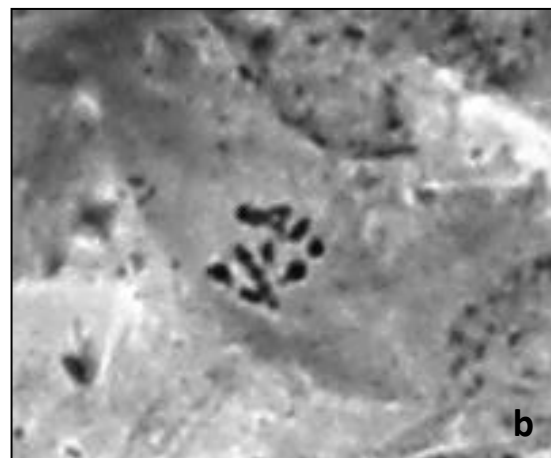
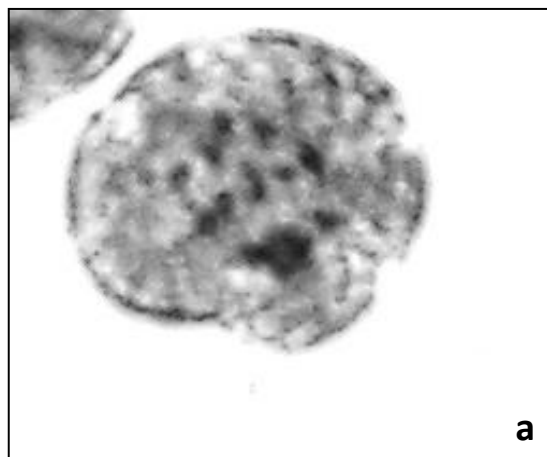


Figura 2 – Células de *R. officinalis* com $n=12$ cromossomos. a) acesso 1: célula em meiose I (diacinese I); b) acesso 3: células em meiose I (diacinese I).

Outras espécies da família Lamiaceae tiveram seu número cromossômico determinado, dentre elas, espécies do gênero *Rosmarinus*, *R. eriocalyx* e *R. tomentosus*, sendo encontrado $2n = 24$ cromossomos para todas as espécies (ROSÚA, 1985) e *Hyptis mutabilis*, com número diplóide de $2n = 28$ cromossomos (FACHINETTO e TEDESCO, 2009). A espécie *Salvia hispânica*, conhecida como chia, também da família Lamiaceae, teve a determinação do número cromossômico $2n = 12$ cromossomos (ESTILAI et al., 1990).

Conclusão

O presente estudo sugere que o número básico de cromossomos para a espécie *R. officinalis* é $n=12$ cromossomos.

Referências

CARVALHO, R., et al. Citogenética como ferramenta para o melhoramento genético vegetal: análise mitótica e meiótica em espécies de Manihot. In: XIII Congresso Brasileiro de Mandioca, 2009, Botucatu, SP. **Resumos...** Botucatu: Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT/UNESP), 2009. p. 645-650.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162 p.



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



ESTILAI, A.; HASHEMI, A.; TRUMAN, K. Chromosome number and meiotic behavior of cultivated, *Salvia hispanica* (Lamiaceae). **Hort Science**, v. 25, n. 12, p. 1646-1647, 1990.

FACHINETTO, J.M.; TEDESCO, S.B. Número cromossômico, análise meiótica e estimativa da viabilidade polínica em populações de *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.11, n.1, p.110-116, 2009.

FERNANDES, A.; LEITÃO, M. T. Contribution à l'étude cytotoxinomique des Spermatophyta du Portugal XVIII---Lamiaceae. **Memórias da Sociedade Broteriana** v. 27, p. 27–75. 1984.

GRIFFITHS, A. J. F., et al. **Introdução a Genética**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 794p.

GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 142p

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**, Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 131p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2006. 512 p.

SIANI, A. C. et al., Óleos essenciais. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n. 70, p. 38-43, set./out. 2000.

STACE, C. A. **Plant taxonomy and Biosystematics**. Cambridge: University Press, 1991. 264p.

ROSÚA, J.L. Notas cariosistematicas de gênero *Rosmarinus* L. (Lamiaceae) en la Peninsula Iberica. **Anales del Jardin Botanico de Madrid**, v.42, p.93-9, 1985.

VALDÉS, B.; PASTOR, J.; UBERA, J. Números cromosômicos para la flora española, 1-14. **Lagascalía**, v. 7, n. 2, p. 192-197, 1978.



VIABILIDADE POLÍNICA DA ESPÉCIE *Sagittaria montevidensis*

TRAPP, K. C.^{1*}; COELHO, A. P. C.²; FRESCURA, V. D.³; TEDESCO, S.B.⁴

1 Graduanda, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *E-mail:kassiacauanatrapp@hotmail.com

2 Engenheira Agrônoma, Mestre, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

3 Bióloga, Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

4 Bióloga, Doutora, Professora do Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a viabilidade polínica de *Sagittaria montevidensis* utilizando dois métodos de coloração, bem como analisar as diferenças da viabilidade em plantas coletadas em uma mesma cidade, porém em pontos distintos, fornecendo dados para apoiar a genética e estudos de caracterização da espécie *S. montevidensis*. Foram coletados botões florais da espécie *S. montevidensis* em três acessos distintos localizados na cidade de Santa Maria-RS. Para avaliação da viabilidade polínica foram preparadas lâminas pela técnica de esmagamento, sendo analisadas duas lâminas com 300 grãos de pólen por acesso em cada corante. Para a coloração dos grãos de pólen foram utilizados dois corantes distintos: orceína acética 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fuscina ácida). Foram considerados grãos viáveis, os pólenes que apresentaram tonalidade mais escura para a orceína acética 2% e os pólenes com coloração púrpura para o Reativo de Alexander. Os grãos inviáveis foram considerados os pólenes com tonalidade mais clara para orceína acética 2% e pólenes com coloração azul-esverdeada para o Reativo de Alexander. Todos os acessos estudados apresentaram estimativa da viabilidade polínica alta com ambos os corantes.

Palavras-chave: Viabilidade polínica. *Sagittaria montevidensis*. Orceína acética 2%. Reativo de Alexander.



Introducao

A familia Alismatacea e formada por plantas arboreas, possuindo, aproximadamente, 14 generos e 60 especies. No Brasil, dois generos sao de ocorrencia natural: *Sagittaria* e *Echinodorus* (LEITE et al., 2007). O genero *Sagittaria* e nativo da regio meridional da America do Sul (FIORILLO, 2007). Pode servir de indicador de ambientes antropizados e aguas eutrofizadas, pois nestes ambientes apresentam maior desenvolvimento vegetativo e maior numero de flores. Al€m disso, e um genero que ocorre em abundancia em agua estagnada e poluıda (CASSOL et al., 2008).

A especie utilizada para esta pesquisa foi a *S. montevidensis*, conhecida popularmente por aguap€, sagit€ria ou falso chap€u-de-couro, pode chegar a uma altura de 1,5 metros. Suas inflorescencias sao racemosas, eretas e emersas, com flores actinomorfas, pediceladas, heteroclamıdeas e trımeras (REGO, 1988; CASSOL et al., 2008). *S. montevidensis* possui valor ornamental em aqu€rios, lagos e jardins bot€nicos. Entretanto, essa especie se tornou um problema em canais de irrigacao e drenagem, sobretudo em culturas de arroz irrigado, al€m de atuar negativamente em corpos hıdricos de reservat€rios, rios e lagos (NOLDIN, et al., 1999; FIORILLO, 2007).

A percepcao da viabilidade polınica de uma especie e importante para se analisar a potencialidade e eficiencia da fecundacao e fertilizacao. Al€m disso, o gr€o de p€len carrega o material gen€tico, possibilitando o melhoramento gen€tico por meio de recombinaoes g€nicas. Sendo assim, quanto maior a viabilidade polınica, maior poder€ ser a variabilidade gen€tica (SOUZA et al., 2002). O estudo da viabilidade polınica e um dos fatores mais importantes no melhoramento gen€tico de plantas, pois reflete a potencialidade do gameta masculino na eficiencia da fecundacao dos €vulos (BIONDO e BATTISTIN, 2001).

Uma das maneiras de se medir a viabilidade polınica e pela coloracao citoquımica. Os corantesorceına ac€tica 2% e reativo de Alexander (fuccina €cida e verde de malaquita) sao comumente utilizados para esta finalidade, sendo o reativo de Alexander o mais indicado, pois a fuccina €cida cora o protoplasma e o verde de malaquita reage com a parede celular (AULER et al, 2006).

Este estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade dos gr€os de p€len de *S.montevidensis*, utilizando dois m€todos de coloracao, bem como analisar as diferenas da



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



viabilidade em plantas coletadas em uma mesma cidade, porém em pontos distintos, fornecendo dados para apoiar a genética e estudos de caracterização dessa espécie.

Materiais e Métodos

Para o estudo da viabilidade polínica, realizado no Laboratório de Citogenética e Genotoxicidade do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), avaliaram-se três acessos de *S. montevidensis* coletados em três diferentes locais do município de Santa Maria-RS. Para a coloração dos grãos de pólen foram utilizados dois corantes distintos: orceína acética 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fuscina ácida).

O material coletado foi armazenado durante 24 horas em fixador etanol:ácido acético (3:1). Após este período, foram colocadas em álcool 70% e armazenadas sob refrigeração. Para a preparação de lâminas, foram retiradas as anteras e foi utilizada a técnica de esmagamento (GUERRA E SOUZA, 2002).

As análises com o corante orceína acética 2% foram realizadas imediatamente após o preparo das lâminas. Para esse corante, a viabilidade foi determinada pela diferenciação de tamanho e pela capacidade de coloração dos grãos de pólen, sendo considerados viáveis os pólenes que apresentaram tonalidades mais escuras e com tamanho maior, e inviáveis aqueles com tonalidade clara e tamanho inferior aos demais. Já com o corante reativo de Alexander, o material foi recoberto com lamínula, vedado com cola e armazenado em ambiente refrigerado. Após 24 horas, foi realizada a análise das lâminas, sendo considerados viáveis aqueles grãos de pólen com tamanho maior e coloração púrpura, enquanto que os pólenes com tamanho menor e os com coloração azul-esverdeada foram considerados inviáveis (FRESCURA et al., 2012).

Foram preparadas duas lâminas por corante em cada um dos acessos, analisando-se 300 grãos de pólen/lâmina em microscópio ótico com lente objetiva de 40x, totalizando 600 grãos de pólen por corante. Após contagem dos grãos de pólen, fez-se a análise da viabilidade polínica da espécie *S. montevidensis*, para isto utilizou-se a fórmula:

$$\text{Viabilidade do pólen (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de grãos de pólen viáveis}}{\text{N}^\circ \text{ de grãos pólen total}} \times 100$$



A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Assistat versão beta 7.5. Os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e Discussão

Foram considerados grãos viáveis, os pólenes que apresentaram tonalidade mais escura para a orceína acética 2% e os pólenes com coloração púrpura para o reativo de Alexander. Os grãos inviáveis foram considerados os pólenes com tonalidade mais clara para orceína acética 2% e pólenes com coloração azul-esverdeada para o reativo de Alexander bem como grãos de pólen com tamanho reduzido para ambos os corantes (Figura 1).

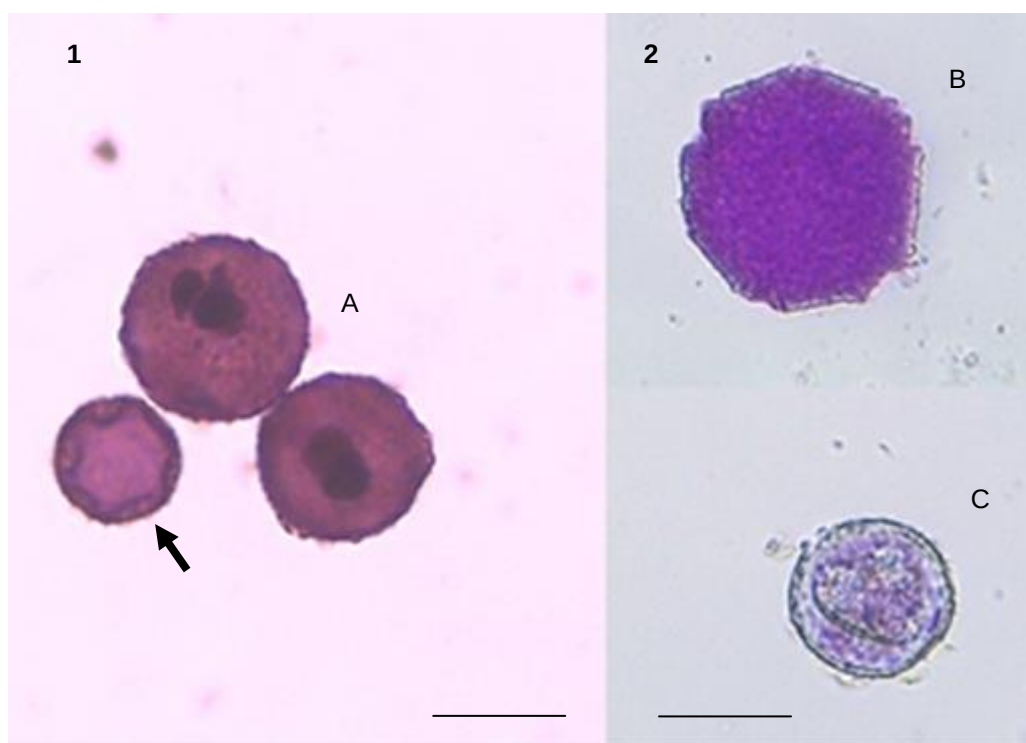


Figura 1: Grãos de pólen corados com orceína acética 2% (1) e reativo de Alexander (2): A-pólen viáveis e pólen inviável (seta); B-pólen viável; C-pólen inviável. Escala 10 µm.

Para a viabilidade polínica, houve diferença significativa apenas entre o acesso 1 e os demais, quando utilizado o corante reativo de Alexander (Tabela 1). Esta diferença na



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



viabilidade entre acessos pode estar relacionada aos distintos períodos de florescimento, as alterações ambientais e diferenças genotípicas (NETO et al., 2006). Souza et al. (2002), Meletti et al. (2003) e Corrêa et al. (2005) relataram que a viabilidade do pólen pode variar consideravelmente entre os indivíduos de uma mesma espécie e entre amostras de um indivíduo. Além disso, essa diferença ocorreu apenas com o corante reativo de Alexander, possivelmente, pelo fato de o corante orceína acética 2% ser menos eficiente, podendo superestimar a viabilidade polínica.

Estudos com outras espécies demonstram que o corante orceína acética 2% pode superestimar a viabilidade polínica. Coelho et al. (2012), ao avaliarem a viabilidade polínica em acessos de *Crotalaria juncea* L., comparando os corantes orceína acética 2% e reativo de alexander, constataram que a orceína acética superestimou a viabilidade do pólen, enquanto que o reativo de Alexander minimizou os problemas para a obtenção de dados sobre a viabilidade polínica. Segundo os mesmos autores, os acessos corados com reativo de alexander apresentaram variabilidade nos resultados de viabilidade polínica o que não ocorreu utilizando orceína acética 2%. Em estudo estimando a viabilidade polínica de *Polygala paniculata* L., Frescura et al. (2012) concluíram que o corante reativo de Alexander apresentou diferença significativa para a viabilidade de pólen se comparado aos demais corantes testados e apresentou maior capacidade de discriminar os grãos de pólen entre viáveis e não viáveis.

A viabilidade polínica nos acessos de *S. montevidensis* é considerada alta quando acima de 70%, conforme Souza et al. (2002) e Frescura et al. (2012). Nesse caso, os três acessos utilizados neste estudo apresentaram alta viabilidade polínica, em ambos os corantes utilizados (Tabela 1). Também foi observado que não houve diferença entre os corantes utilizados em nenhum dos acessos, demonstrando similaridade nos resultados, diferente de estudos realizados com *P. paniculata* (FRESCURA et al., 2012) e *C. juncea* (COELHO et al., 2012), nos quais houve diferença entre os mesmos corantes.



Tabela 1 – Resultados da comparacao da estimativa de viabilidade entre os acessos estudados com os corantes orceina acetica 2% e reativo de Alexander.

Acessos	Viabilidade Polinica com orceina acetica 2% (%)	Viabilidade Polinica com reativo de Alexander (%)
Acesso 1	98,50 ^{aA}	83,83 ^{bA}
Acesso 2	98,83 ^{aA}	97,00 ^{aA}
Acesso 3	98,66 ^{aA}	98,50 ^{aA}

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Conclusão

A partir da realizacao deste trabalho pode-se concluir que, a espécie *S. montevidensis*, possui alta viabilidade polinica. Para *S. montevidensis* os corantes orceina acetica 2% e reativo de Alexander demonstraram resultados similares na determinacao da viabilidade polinica.

Referências

AULER, N.M.F. et al. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.2, p.55-63, 2006.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparacao da eficiencia de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) G. Don e *Rhynchosia* Lour (Leguminosae-Faboideae), nativas na região Sul do Brasil. **Bioikos**, Campinas, v.15, n.1, p. 39-44, 2001.

CASSOL, B. et al. Análise Morfológica de *Sagittaria montevidensis* desenvolvida em diferentes condições de inundacao. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 26, n. 3, p. 487-496, 2008.

COELHO, A. P. C. et al. Pollen grain viability in accessions of *Crotalaria juncea* L. (FABACEAE). **Agrociencia** vol.46 no.5 México jul./ago. 2012. <Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952012000500005&script=sci_arttext>

CORRÊA, M. G. S. et al. Meiose e viabilidade polinica na família Araceae. **Acta Bot. Bras.** 19(2): 295-303. 2005. <Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-33062005000200012&script=sci_arttext>

FIORILLO, C. M. T.. Controle biológico de *Sagittaria montevidensis* com *Cylindrocarpon* sp. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual Paulista. 2007.



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



FRESCURA, V.D. et al. Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. **BIOCEL**, Argentina, v.36, n.3, p.143-145, 2012.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos** – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana, Ribeirão Preto: FUNPEC, 131p. 2002.

LEITE, J.P.V. et al. Contribuição ao estudo farmacobotânico da *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli (chapéu-de-couro) – Alismataceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 17(2): 242-248, Abr./Jun. 2007.

MELETTI, L. M. M. et al. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis).ver. **Bras. Frut.** Jaboticabal 25 (2): 275-278. 2003.

NETO, O.D.S. et al. Viabilidade e germinabilidade polínica de populações de Jurubeba (*Solanum paniculatum*). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.4, n.1, p.67-74, 2006.

NOLDIN, J.A. et al., Resistência de *Sagittaria montevidensis* a herbicidas: primeiras evidencias. Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado., I.: Reunião da cultura do Arroz Irrigado, 23, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa-CPAT, P566-569. 1999.

REGO, S.C.A. Alismataceae no Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 128p. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1988.

SOUZA, M. M. et al. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em Maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciências agrotécnicas**, Lavras. V.26, n.6, p.1209-1217, nov./dez., 2002.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



VIABILIDADE POLÍNICA DE *Lavandula angustifolia* Miller

FREITAS, J. M. B.^{1*}; FRESCURA, V.D.²; BARBOSA, F.M.³; MAMBRI, A. P.⁴; ANDRIOLO, J.L.⁵; TEDESCO, S.B.^{5,6}

¹ Graduando, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *E-mail: jessicamenabarretofreitas@hotmail.com

² Pós-Graduando, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Professor, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁶ Professor, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Lavandula angustifolia Miller é uma espécie utilizada na indústria de cosmético para a produção de óleo essencial, sendo a realização de estudos sobre a determinação da viabilidade polínica relevantes, sobretudo para fins de melhoramento. O presente estudo objetivou analisar a viabilidade polínica de *L. angustifolia* pela técnica de coloração com o corante reativo de Alexander. Foram utilizadas inflorescências de três acessos de *L. angustifolia* para o preparo das lâminas pela técnica de esmagamento. Os resultados do presente trabalho demonstram que a viabilidade polínica de *L. angustifolia* é alta com o corante reativo de Alexander.

Palavras-chave: Lavanda. Grãos de pólen. Reativo de Alexander.



Introdução

Lavandula angustifolia Miller, com sinonímia botânica *L. officinalis* Chaix, é uma espécie da família *Lamiaceae*, subarbusto vivaz, originária da zona europeia mediterrânica, que cresce em solos secos e áridos, calcários e com exposição ao sol (CUNHA et al., 2012).

É uma espécie medicinal com utilização da parte aérea florida, flores e óleo essencial em aromaterapia sendo indicada na medicina alternativa para controlar ansiedade e insônia, estimular o apetite e digestão e para terapias de perturbações de funções circulatórias (CUNHA et al. 2012).

L. angustifolia é uma espécie de interesse econômico e pela produção de óleo essencial podem ser desenvolvidos estudos voltados ao melhoramento da espécie para essa característica.

O estudo citogenético em espécies de importância econômica pode contribuir de forma significativa em programas de melhoramento genético (CARVALHO et al., 2009).

A viabilidade polínica é uma medida de determinação de fertilidade masculina, determinada pela utilização de diversas técnicas, na citogenética, é bastante empregada no monitoramento de pólen em armazenamento, de maneira a garantir a fertilidade e, com isso, tornar possível o cruzamento entre genótipos de importância econômica (SOUZA et. al., 2002).

Para a determinação da viabilidade polínica utilizam-se técnicas de coloração e entre os corantes utilizados destaca-se o reativo de Alexander,orceína acética 2% e carmim acético. No entanto, estudo realizado por Auler et al. (2006), Frescura et al. (2012) e Piccinini et al. (2012), revelam que o mais indicado, para a indentificação da viabilidade polínica, é o corante reativo de Alexander, já que orceína acética 2% e carmim acético podem superestimar a viabilidade polínica, pois ambos coram os grãos de pólen da mesma cor (vermelho), apenas com diferença na intensidade da cor, dificultando a diferenciação entre viáveis e inviáveis.

Nesse contexto, objetivou-se com o desenvolvimento desse trabalho analisar a viabilidade polínica de *L. angustifolia* pelo método de coloração com o corante reativo de Alexander.



Metodologia

O material vegetal avaliado foi coletado no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

O estudo foi realizado no Laboratório de Citogenética e Genotoxicidade do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sendo avaliados três acessos de *L. angustifolia* cultivados em casa de vegetação no setor de fitotecnia da mesma universidade.

Mudas de *L. angustifolia* foram preparadas por estaquia e cultivadas em vasos de 3,0 L preenchidos com areia grossa, no período de agosto de 2012 a fevereiro de 2013.

As inflorescências das plantas foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) durante um período de 24 horas, em temperatura ambiente, mantidas em etanol 70% e conservadas sob refrigeração até o preparo das lâminas.

Foram preparadas lâminas pela técnica de esmagamento (GUERRA E SOUZA, 2002), com o uso do corante reativo de Alexander. Após 24 horas do preparo da lâmina foram realizadas as análises de viabilidade polínica, nas quais foram considerados viáveis aqueles grãos de pólen com tamanho maior e coloração púrpura, enquanto que os pólenes com tamanho menor e os com coloração azul-esverdeada foram considerados inviáveis (FRESCURA et al., 2012).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com duas lâminas para cada acesso estudado, totalizando 150 grãos de pólen em cada lâmina. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Assistat versão 7.6 beta. Os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade, submetidos à análise da variância e comparados pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Resultados e discussões

Os resultados do presente trabalho demonstram que nos três acessos estudados a viabilidade polínica foi considerada alta (Tabela 1), pois segundo Souza et al. (2002) e Frescura et al. (2012) considera-se viabilidade polínica alta, quando esta é superior a 70%.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Não ocorreu diferença significativa entre os acessos de *L. angustifolia* estudados. Este resultado pode estar associado às condições cultivo, que foram as mesmas para os três acessos (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados da comparação da estimativa de viabilidade entre os acessos estudados com o corante reativo de Alexander.

Acessos	Viabilidade Polínica com reativo de Alexander (%)
Acesso 1	75,66 ^{a*}
Acesso 2	75,00 ^a
Acesso 3	82,99 ^a

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Outras espécies foram avaliadas quanto à viabilidade polínica utilizando o corante reativo de Alexander, como por exemplo, *Bacharis trimera* (Less.) DC. (AULER et al., 2006), *Eragrostis plana* Ness (PICCININI et al., 2012), *Polygala paniculata* L. (FRESCURA et al., 2012), dentre outras.

A coloração com reativo de Alexander permite diferenciar grãos de pólen viáveis de inviáveis, assim, o protoplasma celular do pólen viável reage quimicamente com a fucsina ácida dando cor púrpura (Figura 1b), enquanto o pólen inviável (abortado) apresenta a parede celulósica verde ou verde-azulada e o protoplasma, mal distribuído, pouco corado e não raramente ausente (Figura 1a), isso ocorre em virtude da utilização de simultânea de verde-malaquita e fucsina ácida, que apresentam coloração reversa (ALEXANDER, 1980).

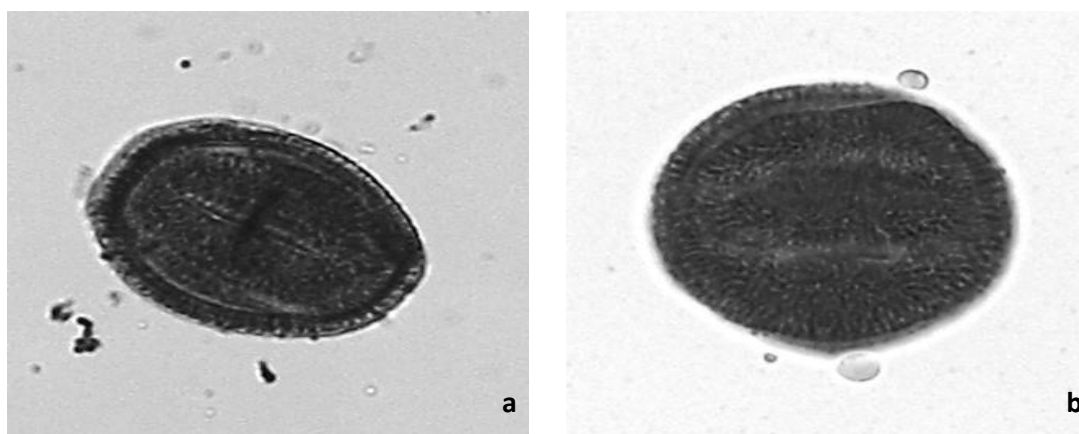


Figura 1 - Grãos de pólen corados com reativo de Alexander. a) grão de pólen inviável; b) grão de pólen viável.

Conclusão

A espécie *L. angustifolia* possui alta viabilidade polínica pela técnica de coloração com o corante reativo de Alexander.

Referências

ALEXANDER, M.P. A versalite stain for pollen, fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**, Baltimore, v.55, p.13-18, 1980.

AULER, N.M.F. et al. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações decarqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.8, n.2, p.55-63, 2006.

CARVALHO, R., et al. Citogenética como ferramenta para o melhoramento genético vegetal: análise mitótica e meiótica em espécies de *Manihot*. In: XIII Congresso Brasileiro de Mandioca, 2009, Botucatu, SP. **Resumos...** Botucatu: Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT/UNESP), 2009. p. 645-650.

CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. Plantas e produtos vegetais em fitoterapia. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012, 729p.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



FRESCURA, V.D. et al. Pollen viability of *Polygala paniculata*L. (Polygalaceae) using different staining methods. **BIOCEL**, Argentina, v.36, n.3, p.143-145, 2012.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos** – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana, Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 131p.

PICCININI, F. et al. Pollen viability of *Eragrostis plana* genotypes from different geographic populations in Rio Grande do Sul. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 1316-1324, 2012.

SOUZA, M. M. et al. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* degener). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.6, p.1209-1217, 2002.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



MELHORAMENTO DE PLANTAS



ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E ANATÔMICAS DE CULTIVARES DE TRIGO SUBMETIDAS À TOXIDEZ POR ALUMÍNIO

ALVES, J.¹, SCHAICH, G.^{2*}, GARLET, L. C.¹; [SCHWALBERT](#), R.¹; FRARI, B. K.¹; ULIANA, S. C.³; NEIS, F. A.⁴; SORIANI, H. H.⁴; OLIVEIRA, J. M.⁵; NICOLoso, F. T.⁵

¹ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

² Engenheiro Agrônomo, Mestrando, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: gabrielschaich@yahoo.com.br.

³ Bióloga, Mestre, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Bióloga, Pós-Doutoranda em Agrobiologia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Professor Associado do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do alumínio (Al) em quatro cultivares de trigo por meio de análises morfofisiológicas e anatômicas, permitindo um melhor entendimento do efeito do metal sobre a espécie, bem como sobre o comportamento das cultivares, a fim de utilizá-las em condições de solos ácidos ou em programas de melhoramento como fonte de variabilidade genética. Para tanto, foram utilizadas as cultivares Frondoso, IAC 5 e BRS 208 em cultivo hidropônico contendo 0 e 4 mg de Al L⁻¹. Foram avaliadas a altura da planta, o comprimento da raiz seminal, a massa seca de raiz e da parte aérea. A cultivar IAC 5 apresentou-se mais tolerante ao Al. O comprimento da raiz seminal foi um bom indicador indireto dos danos gerados pelo alumínio nas células epidérmicas e corticais de raízes seminais expostas ao metal.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.. Alumínio. Toxidez.



Introdução

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é originário do sudeste asiático e, devido ao melhoramento genético e sua alta capacidade de adaptação, a cultura ocupa o segundo lugar em produção mundial de alimentos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2011). No Brasil, a região Sul é responsável por mais de 95% da produção nacional, sendo o Rio Grande do Sul o estado com maior produção, aproximadamente 880.203 hectares plantados e 2.416.684 de toneladas colhidas, resultando em uma produtividade média de 2.745 kg ha⁻¹ (EMATER, 2012). Apesar da produtividade do RS atingir patamares próximos a média mundial, a produtividade média de grãos de trigo no Brasil situa-se abaixo destes valores, em aproximadamente 1.800 kg ha⁻¹ (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2007).

Dentre os fatores relacionados à baixa produtividade nacional, encontra-se a acidez dos solos de cultivo da cultura. À medida que os solos se acidificam atingindo valores de pH menores que 5,5, ocorre o aumento da dissolução de formas sólidas de alumínio (Al), liberando formas iônicas na solução do solo (RITCHIE, 1994) que, na superfície eletronegativa dos colóides, passam a ocupar posições de troca catiônica em substituição aos cátions removidos pela lixiviação, onde concentrações de espécies de Al podem alcançar níveis tóxicos para os organismos (RENGEL e ZHANG, 2003). Nesse sentido, se levarmos em consideração não apenas áreas já cultivadas, mas também terras com potencial para a atividade agrícola, a presença de solos com toxidez de Al no Brasil ocorre em torno de 60% desses (ABREU JR. et al., 2003), afetando a produtividade de trigo pela própria ação da acidez (H⁺), bem como pela diminuição da disponibilidade de nutrientes e aumento da concentração de alumínio trocável no solo (CASTRO, 1983).

Técnicas agrícolas como a aplicação de carbonatos de cálcio (CaCO₃), podem ser utilizadas para minimizar a toxidez do Al ao elevar o pH do solo acima de 5,5 (HEDE et al., 2002), entretanto, em práticas de manejo de solo como o sistema de plantio direto, a deposição superficial do corretivo reduz sua eficiência, eliminando a toxidez do Al apenas nas camadas superficiais do solo (WHITTEN et al., 2000), enquanto a reatividade do Al



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



presente nas camadas subsuperficiais permanece pouco alterada, dificultando o desenvolvimento do sistema radicular em profundidade.

Assim, a seleção de materiais com múltiplos mecanismos de tolerância ao Al constitui uma importante ferramenta para a manutenção da segurança e sustentabilidade da agricultura (TANG et al., 2001), possibilitando a redução do uso de corretivos agrícolas e custo de produção. Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do Al em quatro cultivares de trigo por meio de análises morfofisiológicas e anatômicas, permitindo um melhor entendimento do efeito do metal sobre a cultura, bem como sobre o comportamento das cultivares, a fim de utiliza-las em condições de solos ácidos ou em programas de melhoramento como fonte de variabilidade genética.

Metodologia

O experimento foi conduzido em casa de vegetação semi-climatizada ($25 \pm 3^\circ \text{C}$) pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Foram avaliados 3 cultivares de trigo (BRS 208, IAC 5 e Frondoso) oriundas do banco de sementes da EMBRAPA Trigo e duas doses de alumínio (0 e 4 mg de Al L^{-1}), no delineamento blocos ao acaso, com quatro repetições. As sementes foram primeiramente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (1,5%) e dispostas sobre papel absorvente umedecido com água destilada para germinação no escuro a $25 \pm 2^\circ \text{C}$. Após três dias do início da germinação, plântulas de aproximadamente 3 cm foram dispostas sobre telas de náilon em contato com 10 litros de solução nutritiva de Hoagland (1950) modificada contendo as seguintes concentrações de nutrientes: MgSO_4 (1 mM), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (2,5 mM), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,5 mM), Fe-EDTA (0,1 mM), H_3BO_3 (0,01 mM), MnSO_4 (0,001 mM), ZnSO_4 (0,001 mM), CuSO_4 (0,0005 mM), Na_2MoO_4 (0,0005 mM). K (2,5 mM) foi adicionado utilizando uma mistura de K_2SO_4 e KH_2PO_4 para permitir que a concentração de fósforo fosse zero na solução tratamento. Após 2 dias de aclimação a solução nutritiva foi substituída pela mesma solução acrescida de 0 e 4 mg Al L^{-1} na forma de AlCl_3 por 96 horas. As soluções foram mantidas com pH 4,0 por meio de soluções de HCl e NaOH 1M, aeradas constantemente e renovadas a cada dois dias.

Ao término do experimento foram avaliados o crescimento relativo da raiz principal como indicador do comprimento total do sistema radicular de acordo com metodologia



Simposio de Melhoramento e Propagacao Vegetativa de Plantas



adaptada de Baier et al. (1995), altura de planta, massa seca de parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR) por planta e anatomia de raízes seminais. Os estudos anatômicos foram realizados no Laboratório de Botânica Estrutural da mesma instituição, o material coletado foi fixado em tampão fosfato de sódio 0.1M pH 7.2 com glutaraldeído 3% e Tween 2ml/l. A seguir o material foi lavado em tampão fosfato e, posteriormente, em água destilada e solução de Tween20 a 2ml L^{-1} , durante 30 minutos.

O material fixado foi desidratado em série etílico até etanol absoluto e, posteriormente transferido para soluções de etanol absoluto e clorofórmio, nas proporções de 3:1, 1:1, 1:3, 1:1 e 3:1 (WILKINSON, 1983). Como meio de inclusão, utilizou-se hidroxietilmetacrilato. Foram realizadas secções em micróto mo rotativo LEICA RM2245, na espessura de $5\text{ }\mu\text{m}$ e coradas em azul de toluidina, na concentração de 0,05%, em tampão benzoato, pH 4,4, (FEDER e O'BRIEN, 1968). O registro fotográfico foi realizado em um microscópio LEICA DM2000 acoplado a um sistema de captura de imagens LEICA DFC295.

Os dados foram submetidos aos testes das pressuposições da análise de variância, tendo suas médias separadas pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$) com o auxílio do *software* Sisvar (FERREIRA, 2008).

Resultados e discussões

Com base no comprimento relativo da raiz seminal, as cultivares foram ranqueadas em termos de tolerância ao Al (Figura 1), com a cultivar IAC 5 possuindo maior tolerância, sem entretanto diferir estatisticamente da cultivar BRS 208, e a cultivar Frondoso possuindo uma menor tolerância ou, como será tratado no decorrer do trabalho, uma maior sensibilidade. Ainda neste sentido, a dose de 4 mg de Al L^{-1} demonstrou ser eficiente na diferenciação dos níveis de tolerância das cultivares.

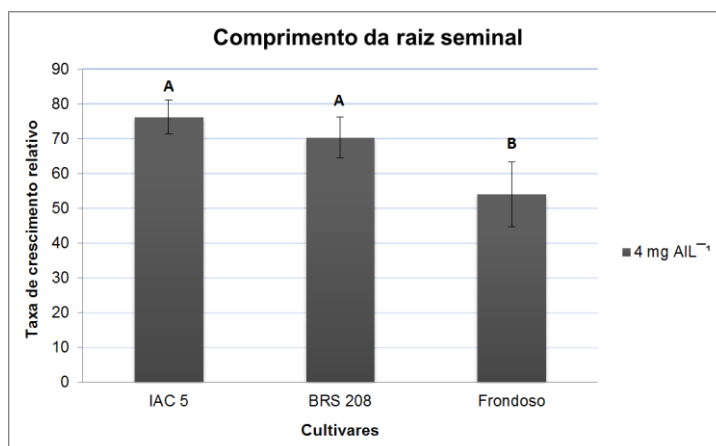


Figura 1 – Comprimento relativo da raiz seminal das cultivares IAC 5, BRS 208 e Frondoso em relação ao tratamento controle. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparações entre cultivares dentro de dose de 4 mg de AIL⁻¹. Teste Tukey, $\alpha=0,05$.

Em relação aos parâmetros de crescimento, não foram observados efeitos do metal sobre a MSPA, bem como um reduzido efeito na altura de planta. Em contra partida, o sistema radicular sofreu inibição em seu crescimento (Figura 2), confirmando o sistema radicular como alvo primário da toxidez por Al (DONCHEVA et al., 2005). Tal comportamento pode ser explicado pela curta duração do experimento, sendo esperado um decréscimo no desenvolvimento da parte aérea de plantas expostas ao Al em um período mais prolongado, devido ao efeito indireto deste na capacidade de absorção de nutrientes, causando desbalanços nutricionais em folhas, que por sua vez podem afetar o funcionamento do aparato fotossintético, bem como reduzir o turgor das células da parte aérea (MOUSTAKAS et al., 1996).

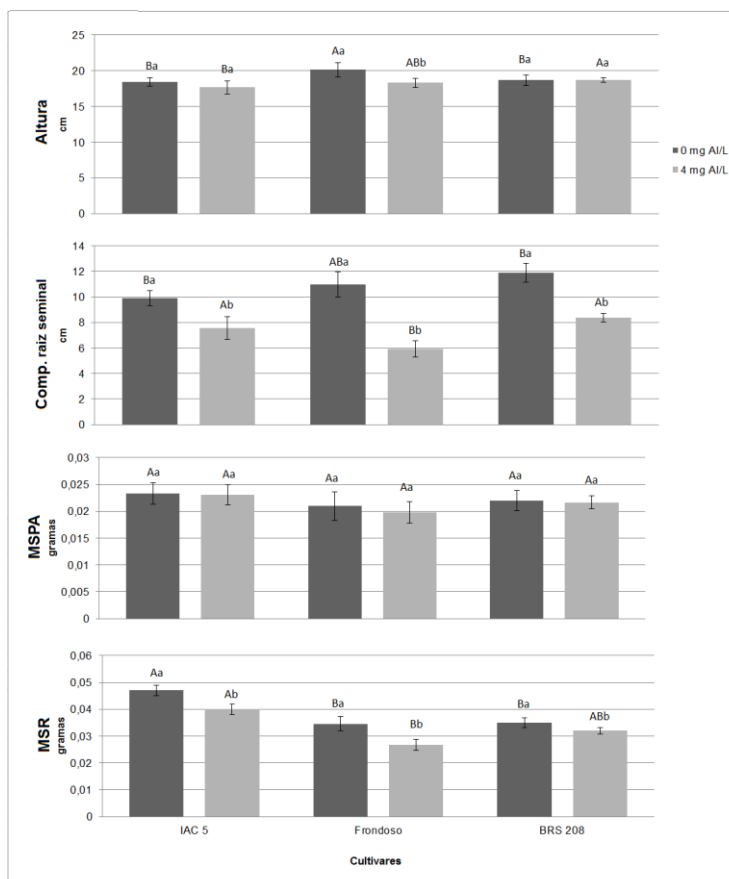


Figura 2 – Crescimento das cultivares de trigo IAC 5, BRS 208 e Frondoso cultivadas em duas doses de Al. MSPA: massa seca de parte aérea; MSR: massa seca de raiz. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparações entre cultivares dentro da mesma dose, enquanto médias seguidas de letras minúsculas indicam comparações entre doses dentro da mesma cultivar. Teste Tukey, $\alpha=0,05$.

Com relação ao crescimento do sistema radicular, é possível notar uma redução média de aproximadamente 15% no comprimento radicular das cultivares e cerca de 7% em sua massa seca. Tal diferença pode estar relacionada com a rápida peroxidação lipídica das membranas e enrijecimento da parede celular principalmente de raízes finas e pêlos radiculares (YAMAMOTO et al., 2001), que devido sua maior área superficial, é danificada mais rapidamente, sem entretanto acarretar em um decréscimo de mesma grandeza na biomassa.

Na anatomia das raízes seminais notou-se que independentemente do grau de tolerância da cultivar, o Al interagiu com membranas e paredes celulares, levando a uma despolarização e redução da permeabilidade seletiva das raízes danificadas (KINRAIDE et al., 1992). Ao compararmos com o tratamento controle (Figura 3a), é possível observar



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



danos nas células epidérmicas (Figuras 3b e 3d setas escuras) bem como o colapso de células do córtex das raízes (Figuras 3b e 3d setas brancas e Figura 3c setas escuras).

O estudo anatômico permitiu ainda identificar o uso de diferentes mecanismos de tolerância ao Al. Na figura 3b, se observa a produção de mucilagem (seta escura) pela cultivar IAC 5, tal mecanismo de exclusão do Al contribui para a redução da entrada do metal no simplasto (TAYLOR, 1991) e pode estar relacionado com a maior tolerância desta cultivar. Por sua vez, a cultivar BRS 208 (Figura 3c) não apresenta uma produção visível de mucilagem, sendo assim, sua tolerância pode estar relacionada a outros fatores como, por exemplo, a exsudação de ácidos orgânicos (RYAN et al., 1995). Como é possível notar, a cultivar Frondoso apresenta um maior dano das células epidérmicas e corticais (Figura 3d), sendo possível notar uma pequena produção de mucilagem (seta escura).

Conclusão

O comprimento relativo da raiz seminal consiste em um parâmetro eficiente na diferenciação dos níveis de tolerância de cultivares de trigo ao Al, servindo como indicador indireto dos danos causados às células epidérmicas e corticais das raízes seminais.

O período de 96 horas de exposição ao Al na dose de 4 mg de AlL^{-1} não é suficiente para gerar danos visuais à parte aérea de plantas de trigo cultivadas em sistema hidropônico.

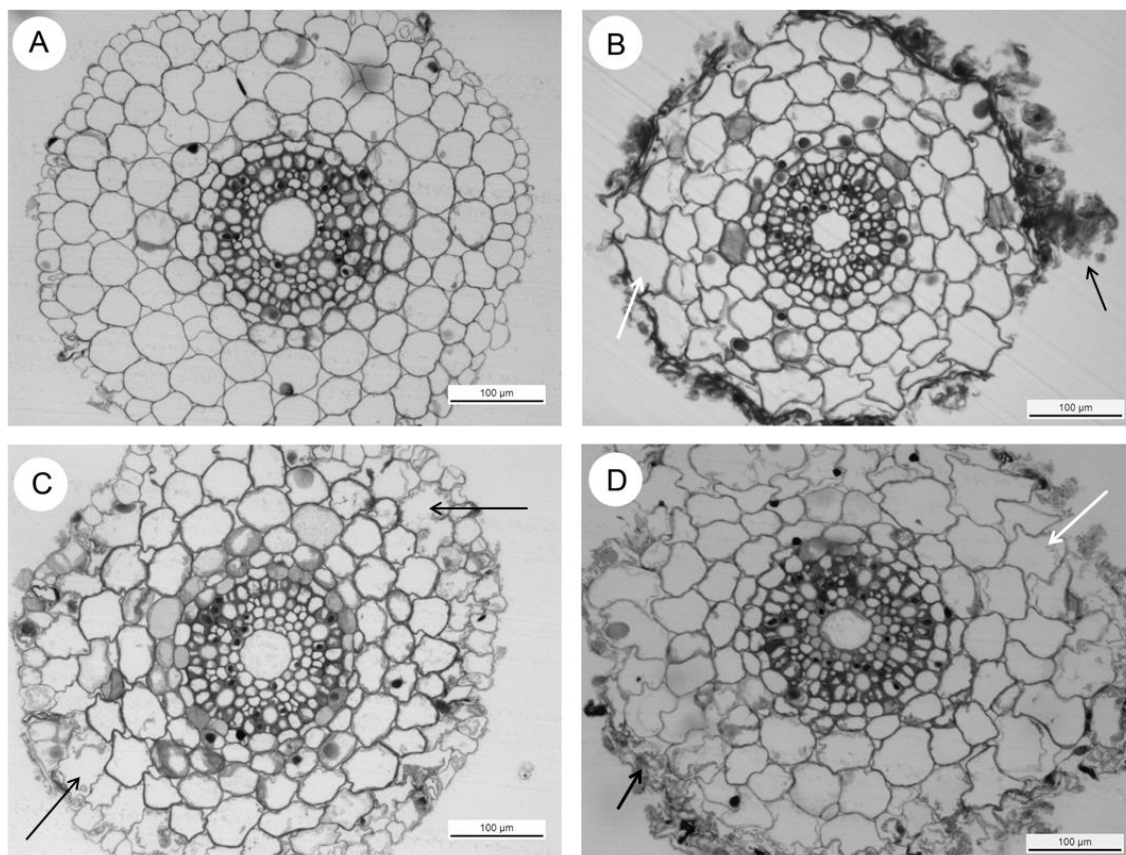


Figura 3 – Cortes histológicos da raiz seminal de cultivares de trigo submetidas à toxidez por Al. A: cultivar IAC 5 na dose de 0 mg de AlL^{-1} tomada como controle; (B) cultivar IAC 5, (C) BRS 208 e (D) Frondoso na dose de 4 mg de AlL^{-1} . Aumento de 20x. Barra correspondente a 100 μm .

Referências

ABREU JR, C. H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A. Relationship between acidity and chemical properties of brazilian soils. **Scientia Agricola**, 60:337-343, 2003.

BAIER, A. C.; SOMMERS, D. J.; GUSTAFSON, J. P. Aluminium tolerance in wheat: correlating hydroponic evaluations with field and soil performances. **Plant Breeding**, Berlin, v.114, p.291-296, 1995.

CASTRO, J.D. Acidez e calagem para a batatinha (*Solanum tuberosum* L.). In: XV REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 1983, Campinas/SP. Anais, Campinas: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p. 79-85. 1983.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Safras - Grãos: Avaliação da Safra Agrícola 2007/2008 – Segundo Levantamento de Intenção de Plantio - Novembro/2007**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf>. Acesso em: 8 fev. 2013.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



DONCHEVA, S.; AMENÓS, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. **Journal of Experimental Botany**, vol. 56, no. 414, pp. 1213–1220, 2005.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

KINRAIDE, T. B.; RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Interactive effects of Al^{3+} , H^{+} , and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. **Plant Physiology**, vol. 99, no. 4, pp. 1461–1468, 1992.

MOUSTAKAS, M.; OUZOUNIDOU, G.; ELEFThERIOU, E. P.; LANNOYE, R. Indirect effects of aluminium stress on the function of the photosynthetic apparatus. **Plant Physiology and Biochemistry**, vol. 34, no. 4, pp. 553–560, 1996.

RENGEL, Z.; ZHANG, W-H. Role of dynamics of intracellular calcium in aluminum toxicity syndrome. **New Phytologist**, Cambridge, v. 159, n. 2, p. 295-314, aug., 2003.

RITCHIE, G. S. P. Role of dissolution and precipitation of minerals in controlling soluble aluminum in acid soils. **Advances in Agronomy**, 53:47-83, 1994.

RYAN, P. R.; DELHAIZE, E.; RANDALL, P. J. Malate efflux from root apices and tolerance to aluminium are highly correlated in wheat. **Australian Journal of Plant Physiology**. 22:531-536, 1995.

TANG, C.; DIATLOFF, E.; RENGEL, Z.; MCGANN, B. Growth response to subsurface soil acidity of wheat genotypes differing in aluminium tolerance. **Plant and Soil** 236: 1–10, 2001.

TAYLOR, G. T. Current views of the aluminum stress response: The physiological basis of tolerance. **Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology** 10: 57–93, 1991.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. **Production, Supply and Distribution**, Online: Custom Query. USA, 2011. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/>>. Acesso em: 8 maio 2013.

WHITTEN, M. G.; WONG, M. T. F.; RATE, A. W. Amelioration of subsurface acidity in the south-west of Western Australia: downward movement and mass balance of surface-incorporated lime after 2–15 years. **Australian Journal of Soil Research** 38:711–728, 2000.

WILKINSON, H. P. Leaf anatomy of *Gluta* (L.) Ding Hou (Anacardiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 86, p. 375-403, 1983.

YAMAMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; MATSUMOTO, H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in Pea roots. **Plant Physiology**, vol. 125, no. 1, pp. 199–208, 2001.



ATIVIDADE DE FOSFATASES ÁCIDAS E CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO EM TECIDOS DE QUATRO GENÓTIPOS DE BATATA CULTIVADOS EM HIDROPONIA

FRARI, B.K.¹; ULIANA, S.C.^{2*}; SORIANI, H.H.³; SAUSEN, D.⁴; ROSSATO, L.V.⁴; NEIS, F.A.²; SCHAICH, G.⁴; ALVES, J.S.¹; HILGERT, M.N.¹; POSSEBON, G.1; TABALDI, L.A.⁵; NICOLOSO, F.T.⁵

¹ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: suzicerezer@gmail.com

² Bióloga, Mestre, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga, Pós-Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Engenheira Agrônoma, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Professor Associado, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de teores contrastantes de P em hidroponia sobre genótipos de batata através de parâmetros bioquímicos (atividade da fosfatase ácida, teor de fósforo nos tecidos). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em sistema hidropônico em areia. Os tratamentos utilizados constaram de quatro genótipos de batata, SMIC148-A (C), SMIF212-2 (M), SMIG145-1 (O) e SMIJ319-7 (S) e dois teores de fósforo (P), 5% de P e 50% (2,32 e 23,23 mg L⁻¹) de P da solução padrão. As avaliações foram realizadas aos 18, 39 e 62 dias após o transplante (DAT). A atividade da enzima fosfatase ácida foi maior em 5% de P nas raízes e menor na quarta folha em período inicial de cultivo. A concentração de fósforo solúvel (Pi), bem como o conteúdo de P total no tecido, foram, em geral, menores no menor teor de P comparado ao maior teor. Os parâmetros bioquímicos utilizados neste estudo podem auxiliar na seleção de genótipos quanto à eficiência de utilização e resposta à aplicação de P, pois o genótipo SMIJ319-7 (S) classificado como eficiente e responsivo (ER) demonstrou alta atividade enzimática tanto em baixo como em alto teor de P, assim como altos valores de Pi e P total nos tecidos.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*. Fósforo. Fosfatases ácidas. Seleção de genótipos.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Introdução

A batata é a planta tuberífera mais cultivada no mundo constituindo uma das mais importantes fontes de energia na alimentação humana. É pertencente à família Solanaceae, gênero *Solanum*, o qual contém mais de 2.000 espécies, das quais mais de 150 são produtoras de tubérculos. A espécie cultivada de maior importância no mundo é a *Solanum tuberosum* L. sendo cultivada em pelo menos 140 países (FORTES & PEREIRA, 2003).

O Estado do Rio Grande do Sul, em comparação com os demais estados produtores apresenta menor produção de batata, e tem-se reduzido em função, em grande parte pela falta de cultivares adaptadas às condições da região, que tem predominância de solos ácidos, com teores tóxicos de alumínio e manganês, e baixos teores dos nutrientes como o fósforo, cálcio e magnésio (FREIRE, 2003). Apesar destes solos conterem grandes quantidades de fósforo (P) total, a sua disponibilidade para as plantas é muito pequena devido à sua tendência em formar compostos de baixa solubilidade, dificultando assim sua absorção pelas plantas (BISSANI et al., 2008) e fazendo com que seja necessária a contínua adubação fosfatada.

Em baixa disponibilidade de P no solo diversos mecanismos tanto de caráter morfológico quanto bioquímico ou fisiológico são utilizados pelas plantas para superarem esta deficiência, aumentando a eficiência tanto de aquisição quanto de utilização do P. Entre estes mecanismos destacam-se o aumento da relação raiz/parte aérea e o incremento da produção/ativação de fosfatases ácidas (RHAGHOTHAMA, 1999). A atividade de fosfatases ácidas, grupo de enzimas que catalisam a hidrólise de uma variedade de ésteres de fosfato, é considerada um indicador do estado nutricional das plantas, pois sua atividade aumenta à medida que se eleva a deficiência desse nutriente (ASCENCIO, 1994).

A seleção de genótipos eficientes na aquisição e utilização do P, ou seja, de alta eficiência nutricional é uma estratégia relevante para reduzir a aplicação de fertilizantes fosfatados. A eficiência de aquisição depende dos ganhos de eficiência de absorção e de enraizamento, incluindo mudanças na arquitetura da raiz e produção de exsudatos (POTTERS et al., 2007). Já a eficiência de utilização do P depende da eficiência de translocação deste nutriente e de conversão em biomassa. Outra estratégia viável é a utilização de genótipos que demonstrem maior incremento de produção com a aplicação de adubos fosfatados, evitando o uso indiscriminado destes e reduzindo assim o custo da produção de batata.



Devido à alta demanda de produção de batata e às características dos solos utilizados nesta cultura, torna-se relevante estudar o comportamento de genótipos desta espécie em relação ao fósforo, com a posterior seleção de genótipos mais eficientes no uso e responsivos à aplicação deste nutriente. Em razão disto este trabalho teve por objetivo caracterizar quatro genótipos de batata em relação à alta e baixa disponibilidade de P, utilizando parâmetros bioquímicos e se estes poderiam ser utilizados como marcadores na escolha de genótipos eficientes no uso do P e responsivos à aplicação deste elemento.

Material e métodos

Material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, RS. O material vegetal utilizado foi proveniente de segmentos nodais (1,0 cm de comprimento) de plantas micropropagadas *in vitro* em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol e 6 g L⁻¹ de agar, no Laboratório de Biotecnologia Vegetal. Após 15 dias de cultivo as plantas foram transferidas para sistema de cultivo em areia por 17 dias para a aclimatização, recebendo três irrigações diárias com solução nutritiva desenvolvida para o cultivo de batata sem solo e mantidas sob sombrite com 60% de sombra durante os cinco primeiros dias.

As plantas foram transplantadas para um sistema hidropônico contendo areia, composto por bandejas pretas de polietileno, nas quais foi colocada uma camada de 7,0 cm de brita média para drenagem da solução de irrigação. Esta camada de brita foi coberta por uma tela fina de polietileno para separar o substrato, o qual foi formado por uma camada de 8,0 cm de areia média. Foram realizadas três irrigações diárias, com a duração de 15 min cada uma de modo que todo o substrato ficasse saturado de solução.

Foram utilizados como tratamentos quatro genótipos de batata, SMIC148-A (C), SMIF212-2 (M), SMIG145-1 (O) e SMIJ319-7 (S), previamente classificados quanto a sua eficiência de uso e resposta ao P, e, dois teores de fósforo (P) na solução nutritiva, uma contendo 5% de P e outra 50% de P da solução padrão, as quais correspondem a 2,32 e 23,23 mg L⁻¹ respectivamente. A fonte utilizada de P foi KH₂PO₄, e para manter o teor de potássio da solução padrão, foi utilizado KCl.



Quantificação da atividade enzimática e do conteúdo de P

As raízes e a quarta folha expandida de plantas aos 18 e 39 dias após o transplântio foram congeladas em N₂ líquido e armazenadas a -80°C. Posteriormente 1,0 g de amostra foi macerada em N₂ líquido e homogeneizadas em tampão Tris-HCl 100 mM (pH 7,4), ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) 1,0 mM e albumina 0,1% na proporção de 1:3 (m/v), depois centrifugadas a 20.000 g durante 30 min a -4 °C e o sobrenadante resultante foi utilizado para o ensaio enzimático. A atividade das fosfatases ácidas foi determinada de acordo com Tabaldi et al. (2007).

O fosfato inorgânico (Pi), produto da reação da enzima, foi quantificado a 630 nm em espectrofotômetro utilizando-se verde de malaquita como reagente colorimétrico e KH₂PO₄ como padrão para a curva de calibração. A concentração de proteínas totais foi quantificada pelo método de Bradford (1976).

O mesmo material utilizado no ensaio da fosfatase ácida foi utilizado para quantificar a concentração de fósforo solúvel tecidual, usando-se para isso curva padrão construída com KH₂PO₄. Uma alíquota da amostra diluída (800 uL) foi incubada a 45°C durante 45 minutos em meio contendo ácido sulfúrico 2,5 N, molibdato de amônio 4,8 mM e ácido ascórbico 35 mM, em um volume total de 1,0 mL. Após o resfriamento à temperatura ambiente, as amostras foram lidas a 650 nm em espectrofotômetro.

As amostras de folhas e raízes de plantas coletadas aos 62 DAT, depois de secas em estufa, foram submetidas a um procedimento de digestão ácida em sistema aberto com bloco digestor. As determinações de fósforo (P) foram feitas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os conteúdos acumulados de P foram obtidos pelo produto entre a concentração de P e a matéria seca de cada parte da planta, sendo expressos em mg planta⁻¹.

O modelo utilizado foi o trifatorial constituído por 4 genótipos, dois teores de P e dois tempos de coleta. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com seis repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se para comparação das médias o teste t, para tempos e teores de P; e teste Tukey, para genótipos, ambos a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.0 (UFLA).

Resultados e discussão



Plantas dos quatro genótipos estudados, submetidas ao maior teor de P (50% de P), aos 18 DAT, apresentaram maior atividade de APases na quarta folha expandida, quando comparadas às plantas submetidas ao menor teor de P (5% de P), com o genótipo SMIJ319-7 (S) demonstrando atividade superior aos demais genótipos.

Já para as APases de raízes aos 18 DAT, houve incremento da atividade desta enzima em 5% de P quando comparado a 50% de P para os genótipos SMIC148-A (C) e SMIG145-1 (O), sendo que para o primeiro foi de aproximadamente o dobro, enquanto que para o segundo o incremento foi 5,0 vezes maior no menor teor de P, por outro lado, o genótipo SMIJ319-7 (S) mostrou resposta inversa, com um acréscimo de 44% no maior teor de P (Figura 1).

A atividade enzimática depende de muitos fatores, como o estágio de desenvolvimento da planta, o que foi verificado neste estudo, sendo que autores avaliando a relação de APases com o teor de fósforo aplicado na cultura, observaram respostas contrastantes, como maior atividade das fosfatases ácidas (APases) sob fornecimento baixo de P, tanto em raízes como na parte aérea (ASCENCIO, 1994; ZIMMERMANN et al., 2004), assim como maior atividade destas enzimas sob fornecimento ideal de P, como observado por Fernandes et al. (2000) em folhas de feijoeiro.

As APases, por estarem presentes em diferentes órgãos e em vários compartimentos celulares, podem exercer diferentes funções na planta, dentre elas a ciclagem de P_i , que é uma fonte importante deste nutriente para o crescimento, especialmente em estágios mais tardios de desenvolvimento da planta e em situações onde a disponibilidade P no solo é baixa (VENEKLAAS, 2012). Desta forma, possivelmente as fosfatases ácidas quantificadas nos genótipos de batata em nosso estudo estejam envolvidas com a realocação do P_i , considerando que em razão da alta atividade das APases nas raízes, sob baixo suprimento de P, a remobilização deste nutriente neste órgão seja alta e a translocação para a parte aérea esteja compensando a demanda da planta por este nutriente para manter seus processos metabólicos ativos, compensando desta forma, uma menor atividade na parte aérea. Por outro lado, a maior atividade de APases na quarta folha em alto P em relação ao baixo P, pode ser em virtude de a planta ter que manter o seu alto crescimento de parte aérea, já que as plantas cultivadas com alto teor de P apresentaram parte aérea bastante desenvolvida.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas

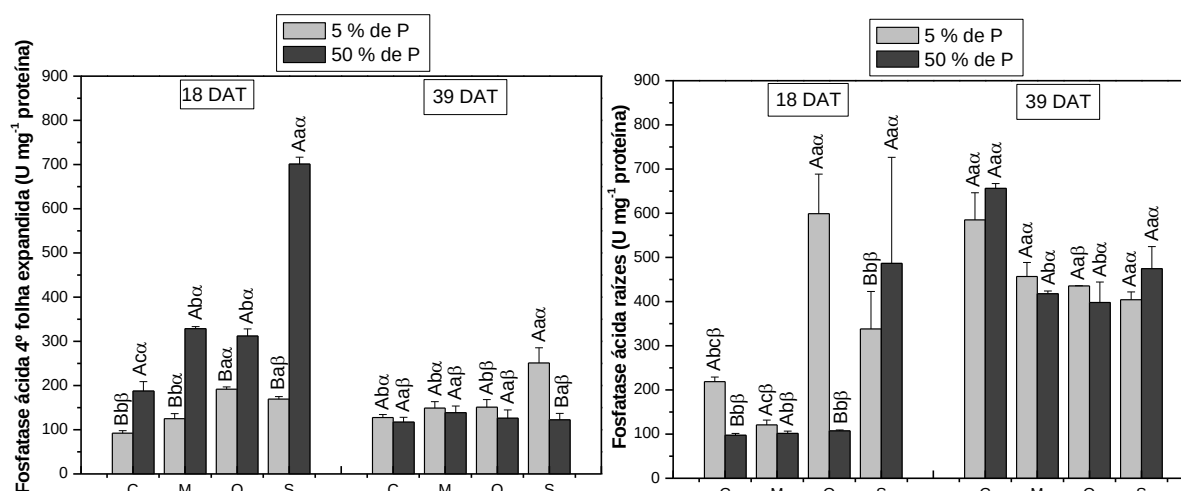


Figura 1 – Efeito de dois teores de fósforo (5 e 50% da concentração padrão da solução nutritiva) na atividade de fosfatases ácidas na quarta folha expandida e na atividade de fosfatases ácidas em raízes dos genótipos SMIC148-A (C), SMIF212-2 (M), SMIG145-1 (O) e SMIJ319-7 (S) avaliados ao 18 DAT (dias após o transplante) e 39 DAT. Médias $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparação entre teores dentro do mesmo genótipo, no mesmo tempo, enquanto que letras minúsculas indicam comparação entre genótipos dentro do mesmo teor, no mesmo tempo. Médias seguidas de letras gregas para comparação entre tempos, dentro de genótipo e teor. Teste t (teores e tempos) e teste Tukey (genótipos) a 5% de probabilidade de erro.

A concentração de Pi presente nos tecidos das plantas de batata cultivadas em 50% de P foi mais elevada que em 5% de P, para todos os genótipos avaliados neste estudo e em ambas as partes analisadas da planta, raízes e parte aérea (Figura 2), o que também foi verificado em plantas cultivadas, como *Brassica napus* (colza) e *Cucurbita maxima* (abóbora) (PANT et al., 2008), refletindo o fornecimento de P dado às plantas.

De maneira geral, para os genótipos testados o conteúdo de P total foi menor em baixo teor de P, com exceção do genótipo SMIF212-2 (M) tanto em folhas quanto em raízes e do genótipo SMIJ319-7 (S) em folhas, que não diferiram entre teores de P. Rodrigues (2004) estudando menta, observou que os teores foliares de P apresentaram uma relação direta com as concentrações de P na solução nutritiva, como observado neste trabalho.

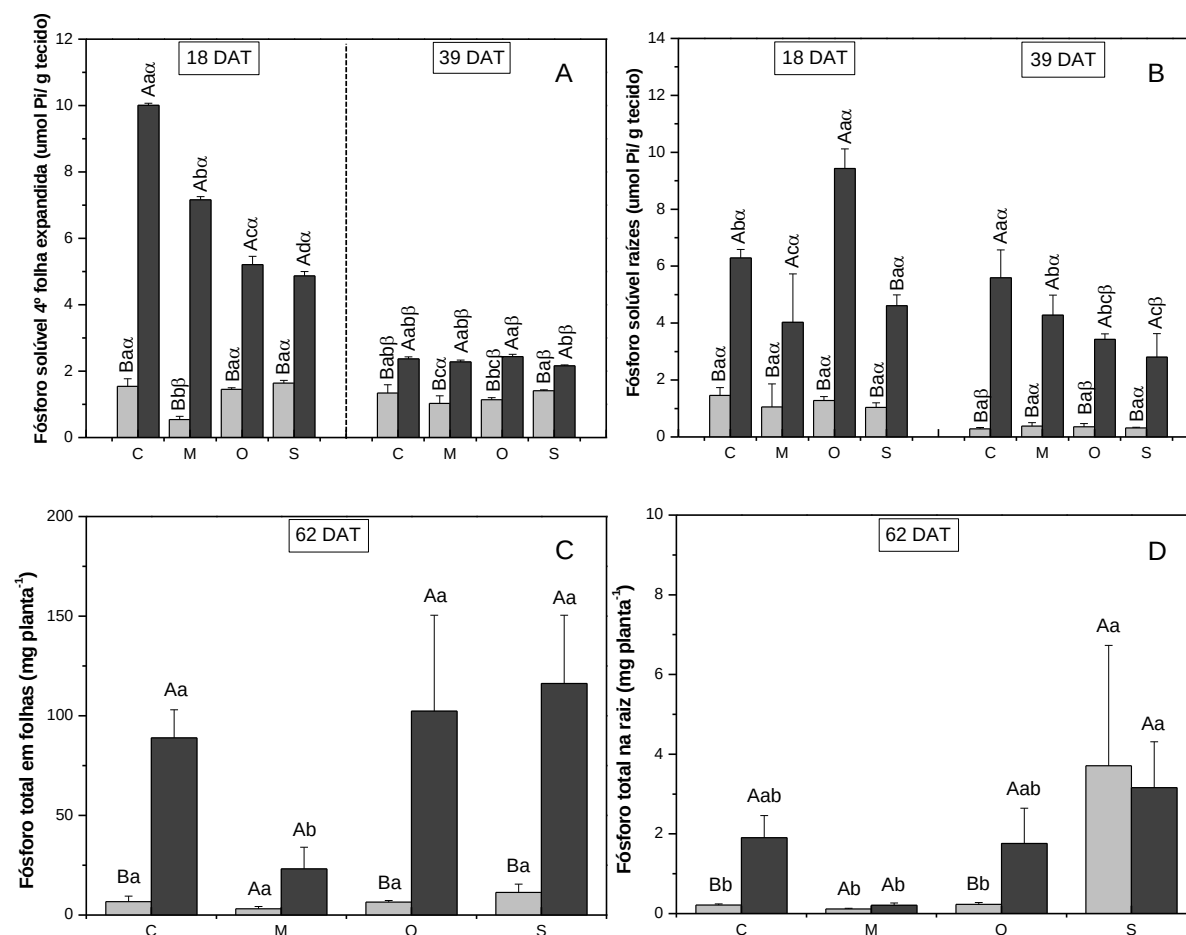


Figura 2 – Efeito de dois teores de fósforo (5 e 50% da concentração padrão da solução nutritiva) na concentração fósforo solúvel (PI) no tecido da quarta folha expandida (A) e nas raízes (B) nos genótipos avaliados aos 18 e 39 DAT; e no conteúdo de fósforo total nos tecidos das folhas (C) e raízes (D) dos genótipos SMIC148-A (C), SMIF212-2 (M), SMIG145-1 (O) e SMIJ319-7 (S) avaliados aos 62 DAT (dias após o transplante). Médias $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparação entre teores dentro do mesmo genótipo, no mesmo tempo, enquanto que letras minúsculas indicam comparação entre genótipos dentro do mesmo teor, no mesmo tempo. Médias seguidas de letras gregas para comparação entre tempos, dentro de genótipo e teor. Teste t (teores e tempos) e teste Tukey (genótipos) a 5% de probabilidade de erro.

Conclusão

O maior suprimento de P aumentou a atividade de fosfatases ácidas tanto na quarta folha de todos os genótipos, como nas raízes das plantas do genótipo SMIJ319-7 (S), principalmente aos 18 DAT, bem como a concentração de P solúvel (PI) e o conteúdo de P total da planta ao final do ciclo.

Os parâmetros bioquímicos utilizados neste estudo podem auxiliar na seleção de genótipos quanto à eficiência de utilização e resposta à aplicação de P, pois o genótipo



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



SMIJ319-7 (S) classificado como eficiente e responsivo (ER) demonstrou alta atividade de Apases tanto em baixo como em alto teor de P, assim como altos valores de Pi e P total.

Referências

- ASCENCIO, J. Acid phosphatase as a diagnostic tool. **Communications in Soil Science and Plant Analyses**, v. 25, p. 1553-1564, 1994.
- BISSANI, C.A. et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Editora Metrópole, 2008. 344 p.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- FERNANDES, L. A. et. al. Frações de fósforo e atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro cultivadas em solos de várzea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 561-571, 2000.
- FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. EMBRAPA, Brasília, 1. ed. 2003. 567 p.
- FREIRE, C. J. S. Correção e adubação do solo. In: PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. (Coord.). **O Cultivo da batata na região sul do Brasil**. 1. ed. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2003. p. 159-176.
- 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.
- PANT, B. D. et. al. MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis. **Plant Journal**, v. 53, p. 731–738, 2008.
- POTTERS, G. et. al. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? **Trends Plant Science**, v. 12, p. 98-105, 2007.
- RODRIGUES, C. R. et. al. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta. **Horticultura brasileira**, v. 22, n. 3, jul./set. 2004.
- TABALDI, L. A. et. al. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 59, p. 43-48, 2007.
- VENEKLAAS, E. J. et. al. Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. **New Phytologist**, Oxford, v. 195, p. 306–320, 2012.
- ZIMMERMANN, P. et. al. Differential Expression of Three Purple Acid Phosphatases from Potato. **Plant Biology**, v. 6, p. 519–528, 2004.



EFEITO DO FÓSFORO NO CRESCIMENTO E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA a DE CULTIVARES DE TRIGO

GARLET, L. C.^{1*}; SCHAICH, G.²; FARIAS, J. G.³; POSSEBOM, G.⁴; SASSO, V.⁴; FARIAS, A.⁴; ALVES, J.¹; FRARI, B. K.¹; [SCHWALBERT, R.¹](#); NICOLOSO, F. T.⁵

¹ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: gabrielschaich@yahoo.com.br.

² Engenheiro Agrônomo, Mestrando, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga, Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor Adjunto do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do fósforo no crescimento e na fluorescência da clorofila a de plantas de trigo, buscando relações deste parâmetro fotoquímico com as demais variáveis. Para tanto, foram testadas as cultivares Galego rapado e IAC 5 nas concentrações de 10 e 125 μM de fósforo, avaliando-se a fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), a eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m) e parâmetros de crescimento. O estudo demonstrou que a deficiência de fósforo reduz o crescimento e a eficiência fotoquímica máxima das cultivares, principalmente da cultivar Galego rapado, considerada menos eficiente na absorção e utilização do fósforo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L. Fluorescência da clorofila a. Fósforo.

Introdução

O trigo (*Triticum aestivum* L.) consiste em uma das primeiras espécies domesticadas pelo homem e tem sido fundamental na base da alimentação mundial, fornecendo carboidratos de baixo custo e complementando a nutrição animal. Avanços no campo da



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



genética aliados ao refinamento nas técnicas de manejo e melhoramento da cultura, permitiram o desenvolvimento de cultivares com maior resistência/tolerância à estresses bióticos e abióticos, bem como melhorias na arquitetura da planta e qualidade do produto final, motivados entre outros fatores, pela estimativa de um aumento de 30% e 44% na demanda por trigo para os anos de 2030 e 2050 respectivamente (FAO, 2006). Na região sul do Brasil, a cultura do trigo constitui em importante ferramenta na otimização do uso do solo no inverno, viabilizando o sistema de plantio direto (SPD) (EMBRAPA, 2009).

Entretanto, devido à aplicação localizada de adubos fosfatados e uma maior quantidade de resíduos orgânicos na superfície do solo, o SPD contribui com o aumento da variabilidade vertical de fósforo (P), gerando um gradiente de concentração a partir da superfície e determinando diferenças na distribuição radicular, com uma maior quantidade de raízes na camada de solo rico em P (KLEPKER e ANGHINONI, 1993; SCHLINDWEIN e ANGHINONI, 2000), fato que compromete o crescimento das raízes em profundidade e reduzem o potencial produtivo das culturas principalmente em períodos de baixa precipitação pluviométrica (RHEINHEIMER et al., 2008).

Neste contexto, a eficiência máxima do fotossistema II (F_v/F_m) constitui um método não destrutivo usado como forma de melhor elucidar a resposta de plantas a fatores abióticos como deficiências nutricionais, servindo como indicador para estresses em plantas por meio da análise do funcionamento do fotossistema II (BALL et al. 1994), visto que variações em parâmetros da fluorescência da clorofila a, refletem alterações nos processos dependentes do transporte de elétrons nas folhas (KRAUSE e WEIS, 1991) e por consequência a síntese de fotoassimilados.

Assim, o presente trabalho busca investigar não apenas o efeito direto da absorção de P no crescimento e fluorescência da clorofila a de plantas de trigo, mas também a correlação deste parâmetro fotoquímico com as demais variáveis, para que os resultados permitam um melhor entendimento dos processos desencadeados pela deficiência de P, visando uma máxima utilização da variabilidade genética dos materiais testados na seleção e melhoramento de plantas de trigo mais produtivas nas condições de baixa fertilidade de P.

Metodologia



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



O experimento foi conduzido em casa de vegetação semi-climatizada ($25 \pm 3^\circ \text{C}$) pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Foram avaliados 4 tratamentos, formados pela combinação das cultivares Galego rapado e IAC 5) oriundas do banco de sementes da EMBRAPA Trigo e duas doses de fósforo (10 e $125 \mu\text{M}$ de P), no delineamento blocos ao acaso, com quatro repetições. As sementes foram primeiramente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (2%) e dispostas sobre papel absorvente umedecido com água destilada para germinação no escuro a $25 \pm 2^\circ \text{C}$. Após três dias do início da germinação, plântulas de tamanho semelhante foram dispostas sobre telas de náilon em contato com 2 litros de solução nutritiva de Hoagland (1950) modificada contendo (mg L^{-1}): 85,31 N; 7,54 P; 11,54 S; 97,64 Ca; 23,68 Mg; 104,75 K; 173,36 Cl; 0,27 B; 0,05 Mo; 0,01 Ni; 0,13 Zn; 0,03 Cu; 0,11 Mn e 2,68 Fe para aclimação. Após 7 dias, as plântulas foram divididas em dois grupos e alocadas sobre as soluções tratamentos contendo 10 e $125 \mu\text{M}$ de P. As soluções foram mantidas com pH 5,5 por meio de soluções de HCl e NaOH 1M, aeradas constantemente e renovadas a cada dois dias.

As plântulas foram mantidas nas soluções tratamento durante 13 dias. Foram avaliadas altura, área foliar e massa seca de parte aérea (MS PA) e raízes (MS de raiz) por planta. A análise da fluorescência da clorofila a foi realizado na última folha expandida de três plantas por tratamento com o fluorômetro de pulso modulado JUNIOR-PAM (Walz, Alemanha). Para tanto, as folhas pré-adaptadas ao escuro por 30 minutos, sendo determinada a fluorescência inicial (F_o) e fluorescência máxima (F_m). A eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m) foi calculada através da razão da fluorescência variável ($F_m - F_o$) e a fluorescência máxima.

Os dados foram submetidos aos testes das pressuposições da análise de variância, tendo suas médias separadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com o auxílio do *software* Sisvar (FERREIRA, 2008). A fim de investigar a correlação dos parâmetros analisados, realizou-se a análise multivariada dos componentes principais (PCA) pelo programa Canoco 4.5. Em função dos parâmetros serem expressos originalmente em unidades diferentes, foi realizado a classificação dos dados dentro de cada variável, em uma escala variando de 1 a 5.

Resultados e discussões



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Não foram observadas diferenças na fluorescência máxima (Fm) das cultivares nos níveis de P testados, por outro lado, a fluorescência inicial (Fo) de ambas as cultivares sofreu um aumento de 19 e 12% para as cultivares Galego rapado e IAC 5, respectivamente, na condição de deficiência de P (10 μ M). Tal aumento está associado ao dano rapidamente reversível na proteína D1 do FSII (FRANKLIN et al., 1992) e pode estar relacionado a uma adaptação do aparato fotoquímico a condições de estresse abiótico. A eficiência fotoquímica máxima do FSII (Fv/Fm) foi reduzida em 7% na cultivar Galego rapado, demonstrando o efeito da deficiência de P no aumento da dissipação da energia por calor e por fotoinibição nesta cultivar (KRAUSE e WEIS, 1991). Apesar de não apresentar diferenças significativas, é possível observar uma tendência de maior eficiência fotoquímica na cultivar IAC 5, quando na concentração de 125 μ M de P (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros de fluorescência da clorofila a: fluorescência inicial (Fo), fluorescência máxima (Fm) e eficiência fotoquímica máxima do FSII (Fv/Fm) nas cultivares de trigo Galego rapado e IAC 5 submetidos à duas doses de fósforo (10 e 125 μ M).

Cultivar	Dose (μ M P)	Fo	Fm	Fv/Fm
Galego Rapado	10	81 Aa*	358 Aa	0,770 Ba
	125	68 Bb	391 Aa	0,825 Aa
IAC 5	10	89 Aa	397 Aa	0,775 Aa
	125	79 Ba	372 Aa	0,786 Ab

* Valores seguidas de letras maiúsculas indicam comparações entre doses dentro de uma mesma cultivar, enquanto valores seguidas de letras minúsculas indicam comparações entre cultivares dentro de uma mesma dose. Teste Tukey, $\alpha=0,05$.

Com relação ao crescimento relativo das cultivares, a deficiência de P resultou na redução de todos os parâmetros avaliados, sendo área foliar e MSPA os mais afetados, com redução média de 43 e 45%, respectivamente (Figura 1). A MS de raízes apresentou uma redução média de 20%, seguida pela altura de planta com redução de 15%, sendo o parâmetro menos afetado pela deficiência de P.

Ao compararmos as cultivares (Figura 2) podemos notar uma maior produção de MSPA e área foliar da cultivar IAC 5 em ambas as condições de suprimento de P, sendo respectivamente cerca de 15 e 26% maiores do que a cultivar Galego rapado. Tal fato demonstra uma maior eficiência de utilização ou absorção de P da cultivar IAC 5 (HORST et al., 2001) que permite a esta um maior crescimento e remobilização do P contido nos tecidos mais velhos (SANCHEZ, 2007), a fim de manter a eficiência fotoquímica máxima do FSII pouco alterada na concentração de 10 μ M. Não foram observadas diferenças na altura



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



ou MS de raízes entre as cultivares na mesma dose, entretanto sob deficiência de P, houve redução destes parâmetros em 15 e 20% respectivamente.

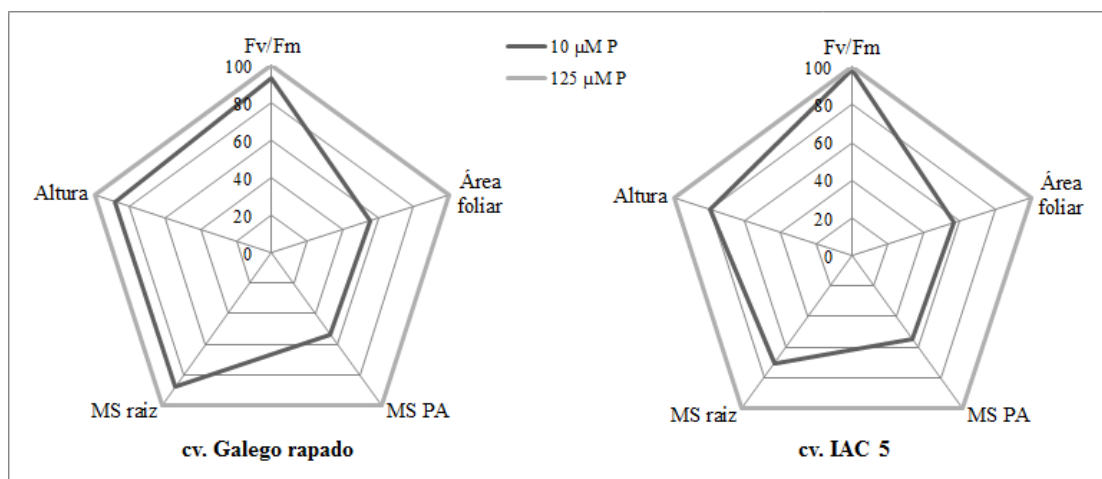


Figura 1 - Efeito da deficiência de fósforo (10 µM P) na fluorescência da clorofila a e parâmetros de crescimento das cultivares de trigo Galego rapado e IAC 5 em relação ao tratamento controle (125 µM P). Fv/fm: eficiência fotoquímica máxima do FSII; MS raiz: massa seca de raízes; MS PA: massa seca de parte aérea.

A análise multivariada dos componentes principais demonstrou que apesar da tendência de redução da eficiência máxima do PSII sob deficiência de fósforo, tanto este como os demais parâmetros fotoquímicos analisados não possuem uma correlação significativa com os parâmetros de crescimento (Figura 3), haja vista a não formação de clusters entre estas duas classes de parâmetros. Assim, apesar de contribuir no entendimento do comportamento das cultivares quanto sua eficiência de uso do fósforo, a fluorescência da clorofila a por si só, não explica os resultados de crescimento obtidos.

Conclusão

A fluorescência da clorofila a foi afetada pela deficiência de fósforo, levando ao aumento da fluorescência inicial (F_0) de ambas as cultivares e a redução da eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m) da cultivar Galego rapado, considerada com base nos parâmetros de crescimento, menos eficiente na absorção e/ou utilização de fósforo.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas

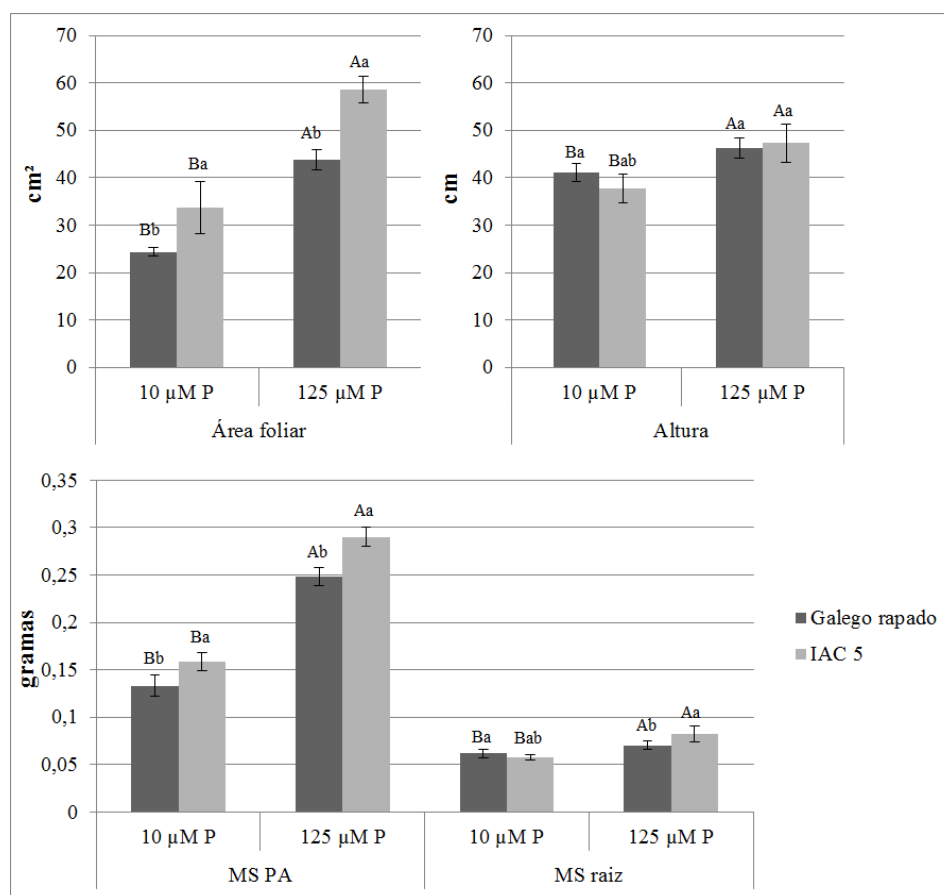


Figura 2 - Efeito do fósforo em parâmetros de crescimento de das cultivares de trigo Galego rapado e IAC 5 cultivadas em sistema hidropônico sob diferentes doses de fósforo. MSPA: massa seca de parte aérea; MS raiz: massa seca de raiz. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparações entre doses dentro da mesma cultivar, enquanto valores seguidas de letras minúsculas indicam comparações entre cultivares dentro de uma mesma dose. Teste Tukey, $\alpha=0,05$.

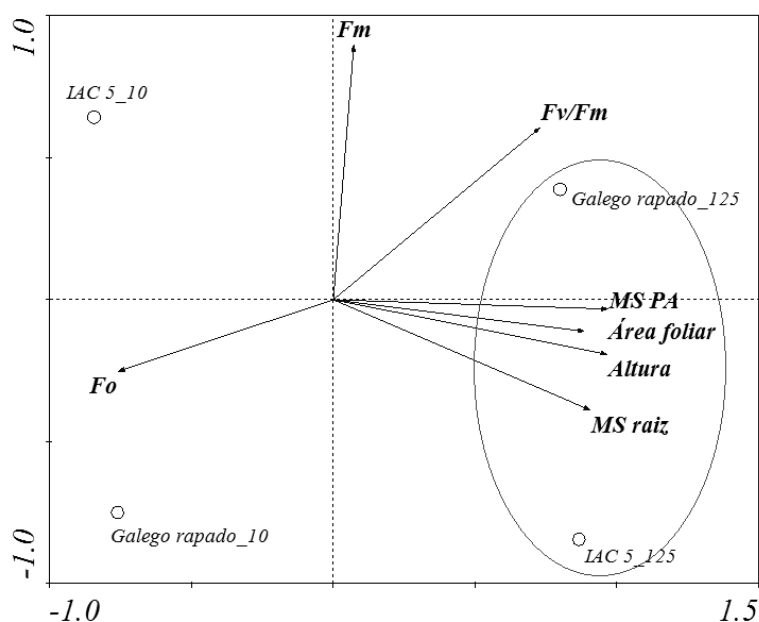


Figura 3 - Análise multivariada dos componentes principais de parâmetros fotoquímicos e de crescimento das cultivares Galego rapado e IAC 5 submetidas as concentrações de 10 e 125 μM P.

Referências

BALL, M.C., BUTTERWORTH, J.A., RODEN, J.S., CHRISTIAN, R. & EGERTON, J.J.G. Applications of chlorophyll fluorescence to forest ecology. **Australian Journal of Plant Physiology**. 22: 311-319, 1994.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistemas de produção: **Cultivo de trigo**. 2009. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Trigo/CultivodeTrigo/index.htm>>. Acesso em 10 de maio de 2012.

FAO – **Food and Agriculture Organization**. World Agriculture: Towards 2030/2050. Interim report. Global Perspective Studies Unit, FAO, Rome. 2006.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

FRANKLIN, L. A. et al. Two components of onset and recovery during photoinhibition of *Ulva rotundata*. **Planta**, v.186, p. 399-408, 1992.

HORST, W. J.; KAMH, M.; JIBRIN, J. M.; CHUDE, V. A. Agronomic measures for increasing P availability to crops. **Plant and Soil** 237: 211–233, 2001.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



KLEPKER, D.; ANGHINONI, I. Phosphate uptake and corn root distribution as affected by fertilizer placement and soil tillage. **Agronomy Trends in Agricultural Science**, [S.l.], v. 1, p. 111-115, 1993.

KRAUSE, G. H., WEIS, E.: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. – Annual Review of Plant Physiology. **Plant Molecular Biology**. 42: 313-349, 1991.

RHEINHEIMER D. S.; GATIBONI L. C.; KAMINSKI J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.576-586, 2008.

SANCHEZ, C.A. Phosphorus. In: BARKER, A.V.; PILBEAM, D.J. (eds). **Handbook of plant nutrition**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, p.51-90, 2007.

SCHLINDWEIN, J. A.; ANGHINONI, I. Variabilidade vertical de fósforo e potássio disponíveis e profundidade de amostragem do solo no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Agosto, vol.30, no.4, p.611-617, 2000.



INFLUÊNCIA DO P NO CRESCIMENTO, EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA E TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS EM GENÓTIPOS DE BATATA

SIQUEIRA, A.F.¹; ROSSATO, L.V.^{2*}; SORIANI, H.H.³; SASSO, V.M.¹; POSSEBOM, G.¹; TABALDI, L.A.⁴; NICOLOSO, F.T.⁵

¹ Graduanda, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

² Bióloga, Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: liana.rossato@gmail.com

³ Bióloga, Pós-Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Professor Adjunto, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Professor Associado, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de fósforo aplicadas no solo sobre os parâmetros de fluorescência da clorofila e o crescimento de quatro genótipos de batata. Os genótipos Dakota Rose (ER), SMIE040 (NER), SMIF313-3 (NENR) e SMINIA 793101-3 (ENR) foram cultivados em vasos contendo 4 kg de solo. Foram utilizadas quatro doses de fósforo: 10, 30, 120 e 240 mg kg⁻¹ de solo. Avaliou-se o número de folhas e a massa seca das folhas por planta, além da análise da fluorescência da clorofila *a*. Observou-se para todos os genótipos incremento na massa seca de folhas e do número de folhas por planta com o aumento da dose de P aplicada no solo. A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi maior nas doses mais altas de P (120 e 240 mg kg⁻¹) para todos os genótipos. A eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm) apresentou redução apenas na menor dose de P (10 mg kg⁻¹) nos genótipos SMIE040 e SMINIA 793101-3. A menor dose de P utilizada no cultivo das batatas gerou um estresse significativo, afetando o sistema de dissipação de energia, com consequente redução de Fv/Fm diminuição na ETR, o que acarretou um menor crescimento de folhas e menor massa seca.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*. Fósforo. Seleção de genótipos. Fluorescência da clorofila *a*.

Introdução



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



A batata (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) ocupa o quarto lugar em volume de produção mundial de alimentos (323 milhões de toneladas), sendo superada somente pelo trigo, milho e arroz (FAO, 2008). Na cultura da batata, a produtividade é significativamente aumentada pela aplicação de fósforo (P), o qual atua como condicionador da produção, estimulando a formação de tubérculos, apressando a maturação, reduzindo o ciclo cultural e aumentando a incidência de tubérculos graúdos (PREZOTTI et al., 1986).

Embora seja um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento da planta, a maior parte do P total do solo não está disponível para a absorção (ABELSON, 2009). Alternativamente à aplicação de fertilizantes fosfatados, este obstáculo à produção vegetal pode ser vencido pelo desenvolvimento de plantas eficientes na absorção e utilização de P.

A deficiência de P pode reduzir tanto o processo respiratório quanto a fotossíntese, e, uma alternativa às medidas de trocas gasosas é a avaliação da eficiência fotoquímica da fotossíntese, obtida por meio das diversas variáveis da fluorescência da clorofila *a*, sendo uma técnica rápida, não destrutiva e sensível, que contribui com o avanço de estudos fisiológicos (KRAUSE; WEISS, 1991). O parâmetro de fluorescência mais utilizado é a razão entre fluorescência variável e fluorescência máxima (F_v/F_m), que reflete a eficiência fotoquímica máxima do FSII e é empregado como um indicador sensível da performance fotossintética da planta (JOHNSON et al., 1993).

Em relação ao P, Gerloff (1976) considera que plantas eficientes são aquelas que produzem maior quantidade de matéria seca por unidade de P absorvido. Juntamente com os trabalhos sobre eficiência nutricional, estudos sobre as metodologias de seleção e discriminação de materiais distintos, aplicados a programas de melhoramento, propõem a discussão quanto à resposta à adubação. Essa resposta está associada à capacidade de aumento da produção de biomassa com o maior suprimento do nutriente. Fageria e Baligar (1993) propuseram a classificação de genótipos de plantas quanto à eficiência de utilização de determinado nutriente e resposta à aplicação, através de uma representação gráfica no plano cartesiano. O diagrama confeccionado gerou quatro grupos de clones: eficientes e responsivos (ER), não eficientes e responsivos (NER); não eficientes e não responsivos (NENR); e eficientes e não responsivos (ENR).

O objetivo deste trabalho foi avaliar se a baixa concentração de fósforo no solo afeta os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e o crescimento em quatro genótipos de batata.



Material e métodos

Os genótipos de batata Dakota Rose (ER), SMIE040 (NER); SMIF313 – 3 (NENR) e SMINIA 793101 – 3 (ENR), os quais se diferem quanto à eficiência e resposta ao fósforo, foram cultivados em vasos contendo 4 kg de solo (Argissolo vermelho) no período de abril a junho de 2012 (safrinha). O fósforo foi adicionado na forma de superfosfato triplo moído e a acidez do solo foi corrigida (pH 5,5). Foram utilizadas quatro concentrações de fósforo: 10, 30, 120 e 240 mg P kg⁻¹ de solo. Após a incorporação, os vasos permaneceram incubando por 30 dias, antes do plantio. Como fonte de nitrogênio foi utilizado 120 kg ha⁻¹ de uréia, parcelados em duas épocas, aplicando-se metade na emergência e o restante aos 30 DAE. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com seis repetições. O experimento foi finalizado de forma independente para cada genótipo.

As plantas foram coletadas quando 50% das plantas na maior dose de P apresentaram senescência, sendo avaliados o número de folhas e a massa seca das folhas por planta. A análise da fluorescência da clorofila na quarta folhas foi realizada com o fluorômetro de pulso modulado JUNIOR-PAM (Walz, Alemanha) em três plantas por tratamento com 48 DAE, no período entre 12:00h e 13:00h. As folhas foram pré-adaptadas ao escuro por 30 minutos para a determinação da fluorescência inicial (Fo) e, posteriormente submetidas a um pulso de luz saturante (10.000 µmol m⁻² s⁻¹) por 0,6 s, determinando-se assim a fluorescência máxima (Fm). A eficiência fotoquímica máxima do FSII (Fv/Fm) foi calculada pela razão entre a fluorescência variável (Fm-Fo) e a fluorescência máxima, e a taxa da transporte de elétrons (ETR) calculada pela fórmula: $ETR = 190 \times 0,84 \times 0,5 \times Y(II)$, sendo $Y(II) = (Fm' - F')/Fm'$, partindo dos parâmetros da curva de indução da fotossíntese.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se para comparação das médias o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico Sisvar 5.0 (UFLA).

Resultados e discussões

O incremento na massa seca de folhas e no número de folhas por planta com o aumento da dose de P aplicada no solo foi verificado em todos os genótipos (Figura 1). Entretanto, não ocorreu diferença significativa entre as maiores doses (120 e 240 mg kg⁻¹) para todos os genótipos, demonstrando que a aplicação de doses acima de 120 mg kg⁻¹ é



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



desnecessária. Em estudos com plantas de milho, Grant (2001) observou que a deficiência de P acarreta restrições no desenvolvimento, que vão desde a diminuição na altura da planta à redução e atraso na emissão e crescimento de folhas, resposta esta que está relacionada com o comprometimento na síntese de um conjunto de proteínas (LI et al., 2007).

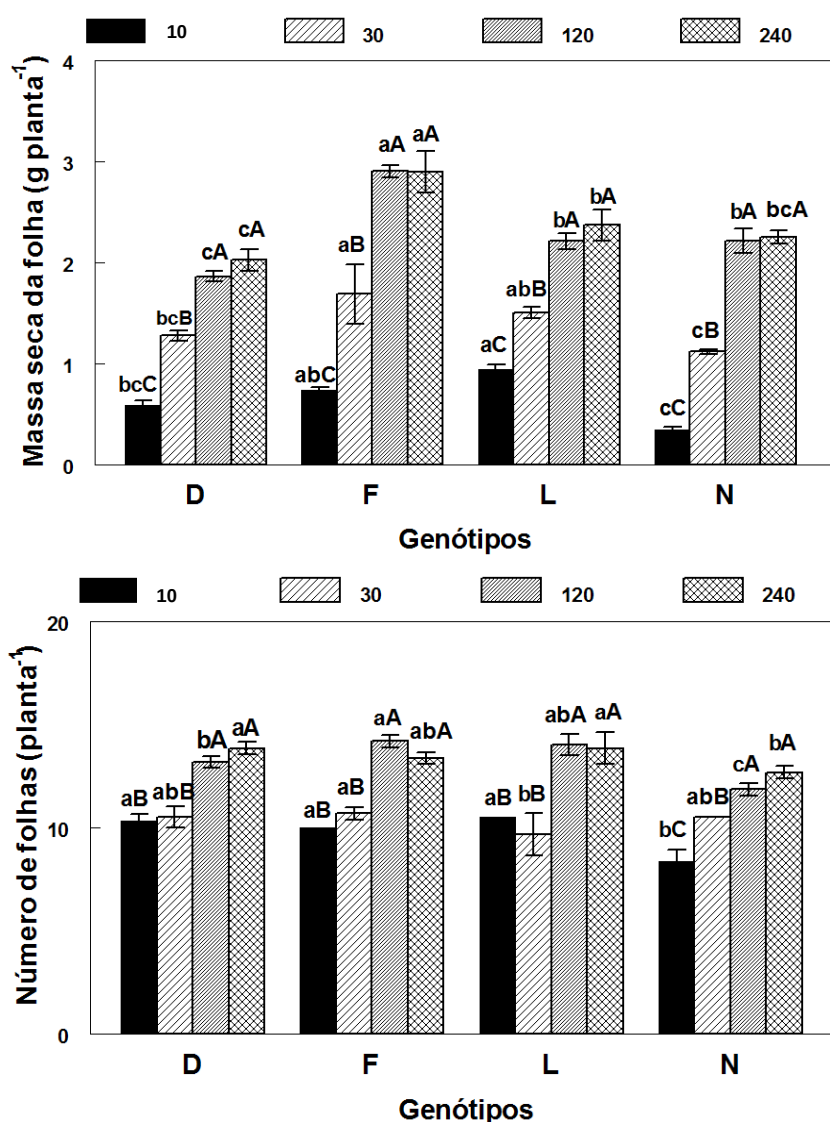


Figura 1 – Massa seca da folha e número de folhas de genótipos de batata submetidos a diferentes concentrações de fósforo no solo. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as doses de fósforo para o mesmo genótipo de batata pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos de batata para a mesma dose de fósforo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

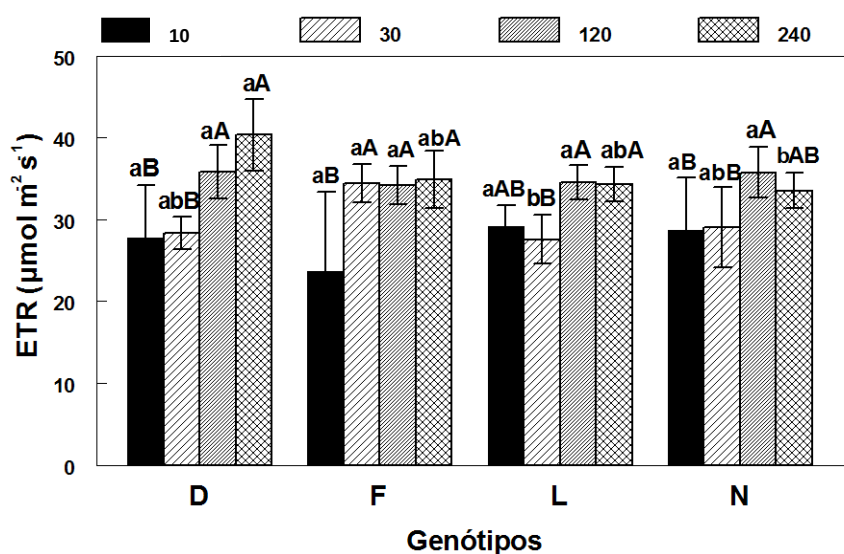


Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi maior nas doses mais altas de P (120 e 240 mg kg⁻¹) para todos os genótipos, em média 35,4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo que o genótipo F (SMIE040) na dose de 30 mg kg⁻¹ apresentou valor semelhante. Para os demais genótipos, a taxa de transporte de elétrons média foi de 28,6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, nas doses de 10 e 30 mg kg⁻¹, podendo ser um indicativo de taxas fotossintéticas mais baixas (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Furbank et al. (1987) também identificaram que a redução da fotossíntese sob deficiência de P depende do seu efeito sobre o sistema de transporte de elétrons.

A eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm) apresentou redução apenas na menor dose de P (10 mg kg⁻¹) nos genótipos F (SMIE040/NER) e N (SMINIA 793101-3/ENR), com valores de 0,42 e 0,58, respectivamente, contrastando com a média dos outros tratamentos (0,62) (Figura 2).



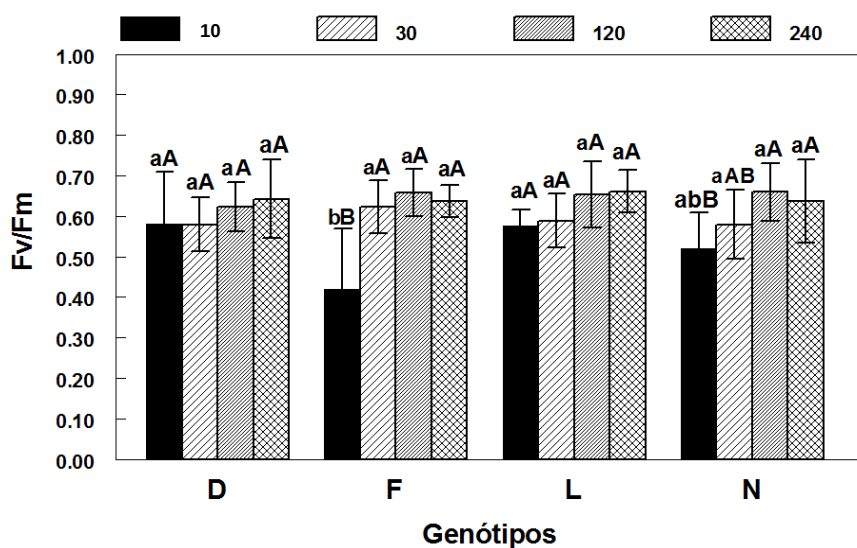


Figura 2 – Taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência quântica máxima do FSII (Fv/Fm) em genótipos de batata submetidos a diferentes concentrações de fósforo no solo. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as doses de fósforo para o mesmo genótipo de batata pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos de batata para a mesma dose de fósforo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Em plantas com suprimento adequado de P tem maior taxa de transporte de elétrons, o que corresponde à eficiência de todo aparato fotossintético. No entanto, plantas crescidas sob deficiência de P apresentam menor taxa de transporte de elétrons em virtude de alterações na estrutura da membrana dos tilacóides e falta de Pi para a síntese de ATP e NADPH (BAKER, 2008).

Conclusão

A menor dose de P utilizada no cultivo dos quatro genótipos de batata gerou um estresse significativo, afetando o sistema de dissipação de energia com consequente redução da eficiência quântica máxima do FSII (Fv/Fm) e diminuição na taxa de transporte de elétrons (ETR), o que acarretou um menor crescimento de folhas e menor massa seca.

Referências

ABELSON, P.H. A potential phosphate crisis. **Science**, v.283, p.2015, 2009.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



BAKER, N.R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis *In Vivo*. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89–113, 2008.

FAGERIA, N.D.; BALIGAR, V.C. Screening crop genotypes for mineral stresses. In: INTSORMIL. Publication n. 94-2. **Proceedings of the workshop on adaptation of plants to soil stresses**. Lincoln: University of Nebraska, 1993.

FAO. FAOSTAT, 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 12 dez. 2008.

FURBANK, R.T. et al. Regulation of photosynthesis in isolated spinach chloroplasts during orthophosphate limitation. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 894, p. 552-61, 1987.

GERLOFF, G.C. Plant efficiencies in the use of nitrogen phosphorus and potassium. In: WHIGHT, M. J. (Ed.). **Proceedings of workshop on plant adaptation to mineral stress in problem soils**. Beltsville: Maryland, 1976. p. 161-173.

JOHNSON, G.N. et al. The dissipation of excess excitation energy in British plant species. **Plant, Cell and Environment**, v.16, p. 673-679, 1993.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p. 313-349, 1991.

LI, K. et. al. Efficient production and characterization for maize inbred lines with low-phosphorus tolerance. **Plant Science**, v. 172, n. 2, p. 255-264, 2007.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668, 2000.

PREZOTTI, L.C. et al. **Nutrição mineral da batata**. Vitória-ES, EMBRAPA, 44p. 1986.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



MODELOS LINEARES PARA ESTIMAR A MASSA DO FRUTO E DO ENDOCARPO DE *Passiflora caerulea* EM POPULAÇÕES DE CRUZAMENTO ABERTO

TOMAZETTI, T.C.^{1*}; ROSSAROLLA, M.D.¹; ZANELLA, A.¹; RADMANN, E.B.²; HEIFFIG-DEL AGUILA, L.S.³; SAAVEDRA DEL AGUILA, J.⁴

¹ Acadêmico (a) do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Campus Itaqui, RS. e-mail: mdrossarolla@gmail.com, tctomazetti@gmail.com, ale.zanella@hotmail.com.

² Engenheira Agrônoma, Dr^a Professora Adjunta, Curso de Agronomia, UNIPAMPA – Campus Itaqui, RS. e-mail: elizeteradmann@unipampa.edu.br.

³ Engenheira Agrônoma, Dr^a Pesquisadora, Embrapa Clima Temperado, Estação Terras Baixas. e-mail: lilia.sichmann@embrapa.br

⁴ Engenheiro agrônomo, Dr. Professor Adjunto, Curso de Enologia, UNIPAMPA – Campus Dom Pedrito, RS. e-mail: juanaguila@unipampa.edu.br.

Resumo

Objetivou-se com este trabalho determinar modelos lineares para estimativa da massa do fruto e do endocarpo de frutos de *P. caerulea*. Foram utilizados 200 frutos coletados de 50 genótipos provenientes da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul, dos quais se mensuram o diâmetro do fruto (DF), o comprimento do fruto (CF), a massa do fruto (MF) e a massa do endocarpo (ME). Foram desenvolvidos modelos de regressão linear utilizando o DF, CF e o produto de DF x CF, para estimar a MF e a ME. As regressões foram avaliadas pelo coeficiente de correlação de Pearson (r), pelo erro padrão (EP) e pela significância do coeficiente angular. Todas as regressões apresentaram r e coeficiente angular significativo a 1% de probabilidade, entretanto, o produto entre DF x CF apresentou menor EP e explicou melhor os resultados de MF e ME. Conclui-se que a massa do fruto e do endocarpo de *P. caerulea* pode ser estimada pela mensuração do diâmetro e comprimento do fruto.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Modelos empíricos. Maracujá silvestre. Domesticação.

Introdução

O maracujazeiro é uma frutífera botanicamente definida como planta trepadeira sublenhosa, da família Passifloraceae e do gênero *Passiflora* (COELHO et al., 2011), que contempla aproximadamente 530 espécies tropicais e subtropicais (VIANA et al., 2003). Há ainda ampla variabilidade genética da cultura a ser conhecida, caracterizada, protegida, conservada e convenientemente utilizada em programas de melhoramento genético (BELLON et al., 2007). Apesar disso, nos pomares comerciais predomina o cultivo de somente uma espécie, o maracujá-azedo (*Passiflora edulis* Sims) (BERNACCI et al., 2008; REIS et al., 2011).

Apesar do maracujazeiro não ser adaptado a todas as condições de ambiente, o seu cultivo está difundido em todo o território nacional, sendo o Brasil o principal produtor do fruto (FONSECA et al., 2009). No entanto, a produtividade média dos pomares de



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



maracujazeiros no país é considerada baixa, principalmente se comparada a dados obtidos em pesquisas, o que ocorre, entre outros fatores, em virtude da utilização de cultivares inadequadas às condições edafoclimáticas da região de plantio (KRAUSE et al., 2012).

No Sul do Brasil, devido ao clima diferenciado da região central, onde o cultivo do maracujazeiro é comumente empregado, não existem genótipos comerciais adaptados ao ambiente. Entretanto, a espécie *Passiflora caerulea* ocorre naturalmente na flora nativa desta região e possui adaptabilidade ao meio. Esta espécie é também relatada na Argentina, onde a população a utiliza para fins terapêuticos e medicinais (SEVERIN et al., 2011).

Por se tratar de uma espécie de menor expressão comercial, pouco estudo se tem a respeito do cultivo de *Passiflora caerulea* e os genótipos nativos apresentam hábitos silvestres, necessitando passar por processos de seleção e domesticação para serem utilizados em programas de melhoramento da espécie, visando adaptabilidade a regiões de clima ameno. Para iniciar o processo de seleção de genótipos, faz-se necessário o conhecimento das características morfológicas e agrônômicas dos frutos, destacando-se massa do fruto e do endocarpo.

Como o maracujazeiro possui ciclo de vida semiperene, o processo de seleção de genótipos superiores requer tempo (REIS et al., 2011). Para seleção de plantas que produzam frutos e endocarpo mais pesados que a média da população, o processo torna-se ainda mais lento. Entretanto, a mensuração do diâmetro e comprimento dos frutos é passível de ser realizada quando os frutos se encontram ligados à planta, podendo ser utilizado para estimar indiretamente valores da massa do fruto e endocarpo, facilitando o processo de seleção.

Com base na perspectiva de selecionar genótipos de *P. caerulea* para serem empregados em programas de melhoramento, o objetivo deste trabalho foi determinar modelos lineares para estimativa da massa do fruto e do endocarpo de frutos utilizando medidas de diâmetro e comprimento do fruto.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no laboratório de Pós Colheita de Frutas da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - Campus Itaqui. Foram coletados frutos de acessos de maracujazeiro silvestre, oriundos de cruzamento aberto e pertencentes à espécie *Passiflora caerulea*, obtidos entre os municípios de Uruguaiana-RS e São Borja-RS. Ao todo foram amostrados 50 acessos, dos quais se obteve quatro frutos por acesso, totalizando 200 frutos testados em cada modelo.

As características avaliadas consistiram em diâmetro do fruto (DF), comprimento do fruto (CF), massa do fruto (MF) e massa do endocarpo (ME). O DF (mm) e CF (mm) foram mensurados com paquímetro digital, possibilitando a obtenção do produto de (DF x CF). A MF (g) e ME (g) foram obtidos com auxílio de balança digital.

Os dados de DF, CF e DF x CF foram correlacionados com os valores de MF e ME, gerando gráficos de dispersão e a função linear, entre as variáveis. Adotada, quando significativa, para estimar a MF e ME.

A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Sapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$), quando considerados normais, os dados foram utilizados sem passar por transformações. Os modelos foram avaliados pelo erro padrão da estimativa (EP) e da significância do coeficiente angular (b) e do coeficiente de correlação de Pearson (r). A análise da estimativa dos modelos foi obtida com o programa estatístico R Core Team (2012).

Resultados e discussões



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



As características de CF, DF, DF x CF, MF e ME apresentaram distribuição normal, obtida pelo teste de Shapiro-Wilk, tornando desnecessária a transformação dos dados para estimativa dos modelos. Os coeficientes de correlação apresentaram 1% de significância para todas as regressões, o mesmo se observou para os coeficientes lineares. Assim, podem-se aceitar estas regressões para estimar os resultados de MF e ME. Entretanto, a melhor estimativa obtida com o produto entre DF e CF. Estes valores apresentaram maior correlação com os valores reais (Tabela 1).

Todas as correlações testadas apresentaram resultados positivos, indicando que a seleção de frutos com maior diâmetro e comprimento pode ser utilizada de forma indireta para selecionar acessos de *P. caerulea* com maior MF e ME.

Tabela 1 – Coeficientes da regressão, erro padrão e correlação de Pearson entre os dados de comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF) e diâmetro x comprimento do fruto (DF x CF) com a massa do fruto e do endocarpo de *Passiflora caerulea*.

Característica	Intercepto (a)	Coeficiente angular (b)	Erro Padrão	Correlação de Pearson (r)
----- Massa do Fruto (g) -----				
CF (mm)	-15,01004**	0,77339**	0,06226	0,69083**
DF (mm)	-15,36393**	0,96392**	0,05257	0,81577**
DF x CF	-3,2551**	0,01442**	0,00073	0,83521**
----- Massa do Endocarpo (g) -----				
CF (mm)	-8,63089**	0,39088**	0,04049	0,60434**
DF (mm)	-8,77306**	0,48548**	0,03458	0,74083**
DF x CF	-2,39773**	0,00707**	0,00048	0,75487**

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

A MF variou de 1,4 g a 35,2 g, com média de 16,5 g e a ME variou de 0,9 g a 16,0 g, com média de 7,5 g. Estes resultados estão abaixo dos verificados em frutos de genótipos melhorados e de espécies de *Passiflora* em processo de domesticação, como *P. setacea* (ATAÍDE et al., 2012), indicando que há necessidade de selecionar genótipos com maior massa para torná-los aptos ao cultivo. O CF, entre os fatores avaliados, demonstrou a menor correlação com os dados de MF e ME (Figuras 1A e 1B), porém, este modelo pode ser considerado válido em virtude da significância dos coeficientes.

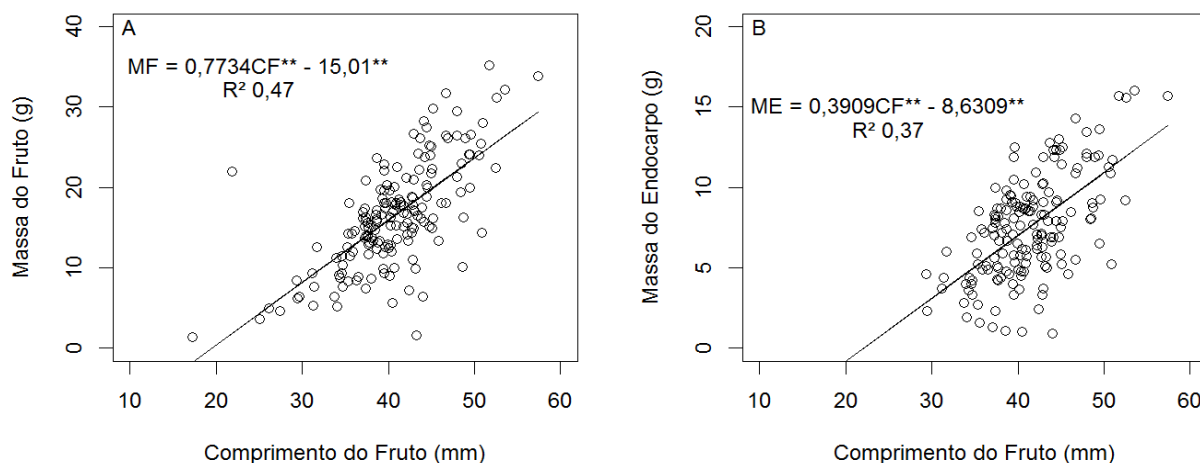


Figura 1 – Relação entre comprimento do fruto de *Passiflora caerulea* e (A) massa do fruto inteiro; (B) massa do endocarpo. ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Quando comparados os fatores DF e CF, isoladamente, observou-se que o DF possui maior influência na MF ($r = 0,82$) e ME ($r = 0,74$) se comparado ao CF ($r = 0,69$ e $r = 0,60$ respectivamente), estes resultados estão de acordo com os verificados por Negreiros et al. (2007) e Santos et al. (2009), ambos em trabalho com *P. edulis* Sims (Figuras 2A e 2B).

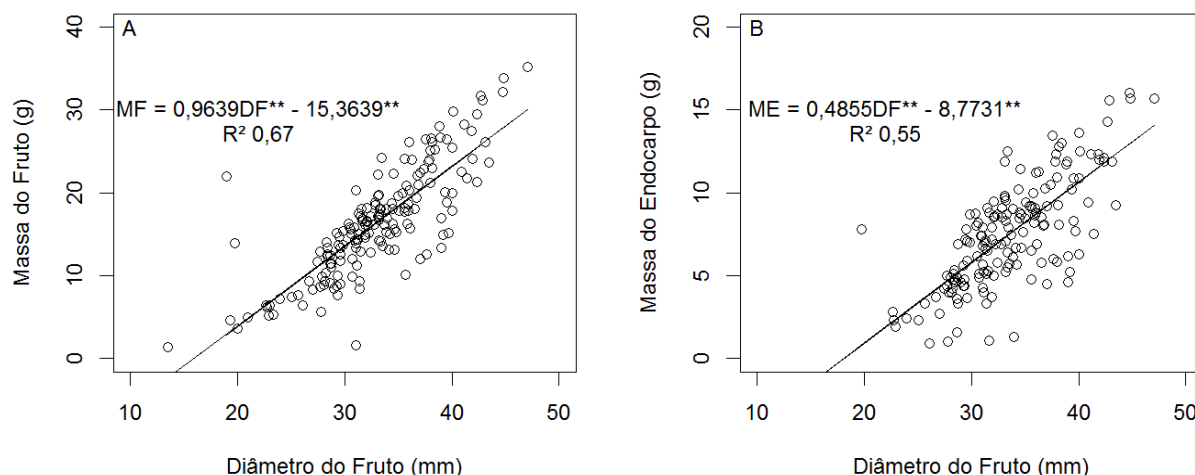


Figura 2 – Relação entre diâmetro do fruto de *Passiflora caerulea* e (A) massa do fruto inteiro; (B) massa do endocarpo. ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

O modelo criado utilizando o DF x CF melhor estimou a MF e ME (Figuras 3A e 3B). Esta relação se deve, principalmente, por terem sido avaliados frutos obtidos de cruzamento aberto e possuírem heterogeneidade na forma, apresentando diferentes relações entre DF e CF, variação esta suavizada quando utilizado o produto DF x CF.

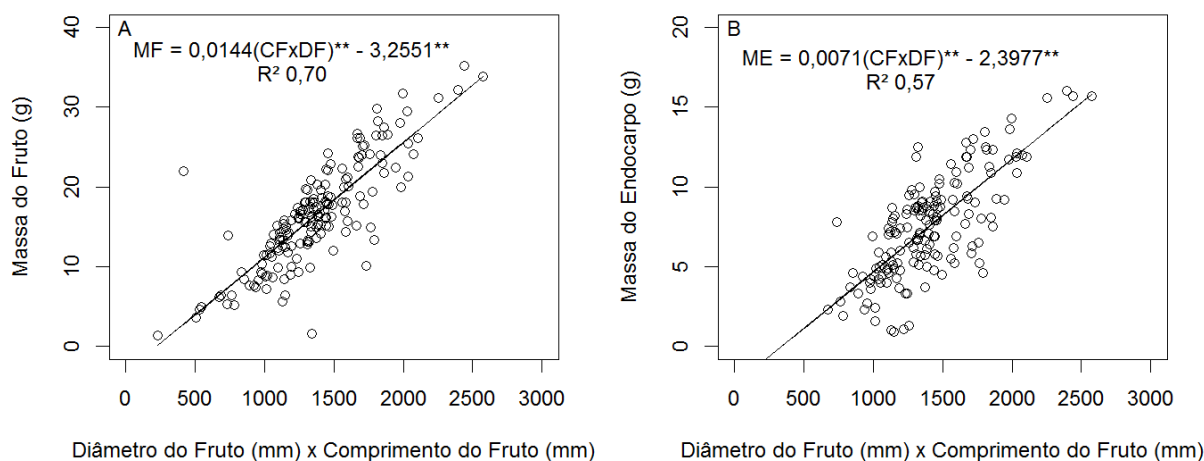


Figura 3 – Relação entre o produto de diâmetro do fruto x comprimento do fruto de *Passiflora caerulea* e (A) massa do fruto inteiro; (B) massa do endocarpo. ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Conclusões

A massa do fruto e do endocarpo de *Passiflora caerulea* pode ser estimada pelo diâmetro e comprimento do fruto.

A massa do fruto e do endocarpo é melhor estimada utilizando o produto entre o diâmetro e o comprimento do fruto.

Referencias Bibliográficas

ATAÍDE, E. M. et al. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* D.C. cultivado em Jaboticabal, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 377-381, 2012.

BELLON, G. et al. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims. com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 124-127, 2007.

BERNACCI, L. C. et al. *Passiflora edulis* Sims: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 566-576, 2008.

COELHO, A. A. et al. Rendimento em suco e resíduos do maracujá em função do tamanho dos frutos em diferentes pontos de colheita para o armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, n. 1, p. 55-63, 2011.

FONSECA, K. G. et al. Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores moleculares RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 145-153, 2009.

KRAUSE, W. et al. Ganho de seleção no melhoramento genético intrapopulacional do maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 51-57, 2012.

NEGREIROS, J. R. S. et al. Relações entre características físicas e o rendimento de poupa do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 540-545, 2007.

R Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

REIS, R. V. et al. Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro-amarelo detectada por marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 1, p. 51-57, 2011.

SANTOS, C. E. M. et al. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims. com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1102-1110, 2009.

SEVERIN, C. et al. Respuesta *in vitro* de diferentes biotipos y explantos de *Passiflora caerulea* L. **Revista Colombiana de Biotecnología**, Bogotá, v. 13, n. 1, p. 73-79, 2011.

VIANA, A. P. et al. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2003.



SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA PARA MÚLTIPLOS CARACTERES DE QUALIDADE EM CONDIÇÕES SUBTROPICAL E TEMPERADA DE CULTIVO

SOUZA, Z. S.^{1*}; BISOGNIN, D. A.²; GNOCATO, F. S.³; ASCOLI, C.⁴

¹ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Estação Experimental de São Joaquim, EPAGRI, São Joaquim, SC, Brasil. E-mail: zilmar@epagri.sc.gov.br

² Engenheiro Agrônomo, PhD, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: dilsonb@smail.ufsm.br

³ Engenheiro Agrônomo, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. E-mail: fgnocato@gmail.com

⁴ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: ascoliclaudinei@gmail.com

Resumo

Este trabalho objetivou avaliar a seleção de clones de batata para múltiplos caracteres de qualidade de processamento industrial em condições subtropical e temperada de cultivo, com valor fenotípico acima da média. Foram avaliados 95 clones selecionados na Estação Experimental de São Joaquim da Epagri, juntamente com cinco cultivares testemunhas. Os clones foram plantados em duas condições de ambiente de cultivo na 5ª geração clonal: na primavera de 2007 em Júlio de Castilhos, RS e no cultivo de verão 2007/08 em São Joaquim, SC. Foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso com duas repetições de 10 covas por parcela, espaçamento de 0,75 x 0,30 m e 2000 kg/ha de adubo NPK 5-20-10, mais 100 kg/ha de N na amontoa. Os resultados evidenciaram a variabilidade genética existente entre os clones avaliados e a importância de selecionar em diferentes condições de ambiente para ampla adaptação. Foram selecionados 25 clones na média dos ambientes com quatro ou cinco valores fenotípicos acima da média nos seguintes caracteres: massa fresca de tubérculos por cova, aparência geral dos tubérculos, teor de massa seca, cor de chips e teor de açúcares redutores.

Palavras-chave: Batata. Melhoramento. Ambiente. Método de seleção.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Introdução

A batata é um produto com grande versatilidade de usos, podendo ser utilizada no preparo de muitos pratos e na obtenção de vários derivados do processamento industrial. A qualidade da batata para processamento está relacionada às características genéticas das cultivares, porém está sujeita a influência das condições de cultivo. As características mais relevantes para a seleção de clones de batata para processamento industrial são: produtividade, aparência dos tubérculos, teor de massa seca, cor de chips e teor de açúcares redutores.

A produtividade é um importante fator na seleção de clones, pois vai definir a viabilidade econômica da utilização comercial da nova cultivar. Novas cultivares com baixos rendimentos causam desinteresses dos produtores pelos baixos retornos econômicos. A aparência geral dos tubérculos é outro importante fator de qualidade na produção de batata para processamento industrial ou para consumo *in natura*. A aparência dos tubérculos se constitui numa seleção múltipla com a combinação equilibrada de vários caracteres favoráveis ao formato, a profundidade das gemas, o aspecto da casca e a cor da polpa dos tubérculos (NEELE et al., 1989; LOVE et al., 1997; BISOGNIN et al., 2008). Outros fatores, como os defeitos fisiológicos internos e externos, também afetam a qualidade dos tubérculos para processamento, todos muito influenciados pelo ambiente (KUMAR et al., 2004).

Além destes caracteres, o teor de massa seca dos tubérculos corresponde à relação entre a massa fresca e a massa seca que pode ser expresso em percentagem, e que está positivamente relacionado com a gravidade específica (BEUKEMA e van der ZAAG, 1990). Altos teores de massa seca aumentam o rendimento dos processados, reduzem a absorção de gorduras durante a fritura, melhoram a textura e a crocância, resultando em produtos de melhor qualidade comercial (LULAI e ORR, 1979; JANSKY, 2008). A cor de chips está associada com os teores de açúcares redutores presentes na matéria prima. Altos teores de açúcares redutores desqualificam os tubérculos de batata para processamento industrial pela formação de cor escura nos produtos finais (SOWOKINOS, 2001; RODRIGUES e PEREIRA, 2003). Os teores de massa seca e de açúcares redutores são características fundamentais na avaliação do potencial qualitativo da matéria prima para processamento e que estão negativamente correlacionados (LISINSKA e LESZCZYNSKI, 1989).



Na seleção de clones de batata para processamento é importante realizar a avaliação em diferentes ambientes, para se conhecer a expressão dos caracteres em diferentes condições de fatores meteorológicos. A seleção com base na média dos ambientes aumenta o progresso genético permitindo a identificação de clones com ampla adaptação para diferentes condições de cultivo (JOHANSEN et al. 1967). O conhecimento do comportamento dos clones em vários locais, anos e as interações obtidas permitirão conhecer os ganhos genéticos de seleção para os caracteres de adaptação, produtividade e qualidade de tubérculos (JOHANSEN et al., 1967). Além disso, estudos realizados na região Sul do Brasil comprovam a grande influência do ambiente nos principais caracteres de qualidade para processamento em condições subtropicais de cultivo (RODRIGUES e PEREIRA, 2003; ZORZELLA et al., 2003; FREITAS et al., 2006; BISOGNIN et al., 2008; MÜLLER et al., 2009).

Este trabalho objetivou avaliar a seleção de clones de batata para múltiplos caracteres de qualidade de processamento industrial em condições subtropical e temperada de cultivo, com valor fenotípico acima da média.

Material e Métodos

Os tubérculos utilizados no plantio foram obtidos no cultivo de verão 2006/07 (4ª geração clonal) na Estação Experimental de São Joaquim da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri). Após a colheita, em abril de 2007, duas amostras com 20 tubérculos de 95 clones e cinco cultivares testemunhas (Agata, Asterix, Atlantic, Baraka e Panda), foram armazenados em câmara fria a 5-6°C até duas semanas antes do plantio.

Uma das amostras (5ª geração clonal) foi plantada na Fundação de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul (FEPAGRO), em Júlio de Castilhos, RS, no cultivo de primavera de 2007 (30/08/2007) e a outra amostra foi plantada na Estação Experimental de São Joaquim da EPAGRI, em São Joaquim, SC, no cultivo de verão de 2008 (08/11/2008), ambas com duas repetições de 10 tubérculos cada, no espaçamento de 0,75 x 0,30 m e com 2.000 kg/ha de adubo NPK 5-20-10 no sulco de plantio, mais 100 kg/ha de N em cobertura na amontoa. Os tratos culturais e fitossanitários foram baseados no sistema convencional de cultivo da batata e padronizados para os dois ambientes.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Após a colheita foi avaliado a massa fresca de tubérculos por cova, aparência geral dos tubérculos, teor de massa seca, cor de chips e o teor de açúcares redutores. A massa fresca de tubérculos por cova foi obtida pela divisão da massa fresca total por parcela pelo número de covas, a avaliação da aparência geral dos tubérculos foi realizada com base em notas de 1 (pior aparência) a 5 (melhor aparência), a massa seca foi calculada após a secagem em estufa até massa constante, a cor de chips foi determinada visualmente em 10 fatias após a fritura, oriundo de uma amostra de cinco tubérculos por clone, em notas de 2 (cor clara) a 9 (cor escura) dos chips. O teor de açúcares redutores determinado pelo método do 2,4 dinitrofenol (LONG e CHISM, 2004), com as adaptações propostas por Freitas et al. (2006). A análise da variância foi realizada conforme um fatorial (clones e locais) no delineamento de blocos ao acaso, com duas repetições, com a utilização do Programa NTIA (EMBRAPA, 1997), e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott (SCOTT e KNOTT, 1974). Para a seleção dos clones na média dos ambientes foram considerados os valores fenotípicos acima da média observados para os cinco caracteres avaliados.

Resultados e Discussão

Os valores da média, coeficiente de variação, desvio padrão, intervalos e o resultado da análise da variância para os cinco caracteres avaliados na média dos ambientes e nos dois ambientes estão na Tabela 1. As diferenças de valores observados para a massa fresca de tubérculos por cova nos ambientes subtropical e temperado e na média dos ambientes são indicativas da variabilidade genética existente e do efeito que o ambiente exerce sobre este caractere. Os valores médios para a aparência geral dos tubérculos indicou um menor efeito ambiental, porém são determinados por vários caracteres com expressão muito influenciada pelo ambiente (BISOGNIN et. al., 2008). O teor de massa seca foi maior no cultivo de verão em condição temperada, considerando as melhores condições meteorológicas do cultivo de verão (BEUKEMA e van der ZAAG, 1990). A cor de chips foi mais clara em condição subtropical de cultivo, o que favorece a aceitação comercial (Kumar et al., 2004), o que refletiu no teor de açúcares redutores, pois estes caracteres estão relacionados (Tabela 1). A colheita em condição temperada é geralmente realizada no outono com redução da temperatura na pós-colheita, e a colheita em condição subtropical realizada no verão, com temperatura mais favorável, o que pode justificar este



resultado, pois temperaturas mais baixas acumulam açúcares redutores (SOWOKINOS, 2001; KUMAR et al., 2004). As diferenças nos valores observados nos ambientes avaliados, para os cinco caracteres estudados evidenciam a grande importância da seleção de clones de batata em diferentes fatores meteorológicos para ampla adaptação (JOHANSEN et al., 1967) (Tabela 1).

Com base no critério de seleção que considera os valores fenotípicos acima da média em cada caractere, na média dos ambientes, foi possível selecionar 25 clones entre os 95 avaliados (Tabela 2). Entre os clones selecionados, apenas três apresentaram todos os valores acima da média nos cinco caracteres, indicando a dificuldade em selecionar para vários caracteres simultaneamente. Os outros 22 clones selecionados tiveram quatro valores acima da média, ou seja, em um dos caracteres avaliados estes clones tiveram um valor abaixo da média (Tabela 2).

A seleção apenas em ambiente subtropical ou temperado pode eliminar clones com boas características, sendo preferível selecionar na média dos ambientes para ampla adaptação (JOHANSEN et al., 1967; BISOGNIN et al., 2008).

Outras informações não constantes nas tabelas são: entre os 25 clones selecionados, 15 também foram selecionados no ambiente subtropical e 17 no ambiente temperado de cultivo. Apenas nove clones foram selecionados nas três situações apresentadas na Tabela 2. A seleção na média dos ambientes possibilitou a inclusão de dois clones não selecionados em condições subtropical ou temperada. Estas informações reforçam a dificuldade em realizar a seleção simultânea de caracteres em diferentes ambientes (JOHANSEN et al., 1967; BISOGNIN et al., 2008).



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



Tabela 1 - Caracteres de produtividade e qualidade para processamento, avaliados em 95 clones de batata de 5ª geração clonal e cinco cultivares testemunhas, em duas condições de ambiente no Sul do Brasil. São Joaquim, SC. 2013

	Massa fresca de tubérculos por cova (g)	Aparência geral dos tubérculos (notas 1 a 5)	Teor de massa seca (%)	Cor de Chips (notas 2 a 9)	Teor de açúcares redutores (mg/g MS)
Média dos ambientes (Júlio de Castilhos, RS e São Joaquim, SC)					
Média	788,1	3,9	22,2	4,7	15,7
C.V.	18,2	13,4	5,3	14,5	75,6
Desvio padrão	300,7	0,8	2,4	0,9	12,4
Intervalos	520,9 - 1244,1	2,5 – 5,0	16,0 - 25,3	3,8 – 7,0	6,0 – 38,8
ANOVA					
G	**	**	**	**	ns
G x A	**	**	ns	*	ns
Ambiente subtropical (Júlio de Castilhos, RS)					
Média	530,9	3,8	20,7	5,0	13,0
C.V.	25,6	7,2	7,1	12,8	74,5
Desvio padrão	163,6	0,6	2,1	0,7	9,7
Intervalos	302,5 – 966,0	2,0 – 5,0	15 – 24,8	4 – 7	4,7 – 41,5
ANOVA (G)	*	**	**	**	ns
Ambiente temperado (São Joaquim, SC)					
Média	1015,2	3,9	23,8	4,4	18,3
C.V.	14,0	17,3	3,2	16,4	74,7
Desvio padrão	225,4	0,9	1,6	0,9	14,1
Intervalos	591,2 – 1659,4	2,0 – 5,0	17,0 – 26,5	3,0 – 7,0	6,3 – 54,0
ANOVA (G)	**	**	**	**	ns

Tabela 2 - Número de clones de batata selecionados na média de ambientes e em ambiente subtropical e temperado, nas diferentes categorias de número de caracteres com valores fenotípicos acima da média. São Joaquim, SC, 2013

Nº de caracteres	Nº de clones		
	Média dos ambientes (Júlio de Castilhos, RS e São Joaquim, SC)	Ambiente subtropical (Júlio de Castilhos, RS)	Ambiente temperado (São Joaquim, SC)
5	3	6	3
4	22	21	26
3	30	38	33
2	28	18	26
1	15	13	11
0	2	4	1



Conclusão

A seleção de clones de batata para múltiplos caracteres é dificultada pelo grande efeito ambiental sobre a produtividade e qualidade de processamento industrial.

Poucos clones apresentaram valor fenotípico acima da média para todos os caracteres.

Referências

BEUKEMA, H. P.; Van Der ZAAG, D. E. **Introduction to potato production**. Wageningen: PUDOC, 1990. 207 p.

BISOGNIN, D. A. et al. Produtividade e qualidade de tubérculos de clones de batata. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 43-56, 2008.

EMBRAPA. **Ambiente de software NTIA**: manual do usuário. Campinas: Embrapa-CNPTIA, 1997. 258 p. (Versão 4.2.2).

FREITAS, S. T. et al. Qualidade para processamento de clones de batata cultivados durante a primavera e o outono no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 80-85, 2006.

JANSKY, S. H. Genotypic and environmental contributions to baked potato flavor. **American Journal of Potato Research**, v. 85, p. 455-465, 2008.

JOHANSEN, R. H. et al. The influence of environment on the specific gravity plant maturity and vigor of potato progenies. **American Potato Journal**, v. 44, p. 107-122, 1967.

KUMAR, D.; SINGH, B. P.; KUMAR, P. An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. **Annual Applied Biologist**, v. 145, p. 247-256, 2004.

LISINSKA, G.; LESZCZYNSKI, W. **Potato science and technology**. London: Elsevier Applied Science, 1989. 391 p.

LONG, A. R.; CHISM, G. M. **Physical and chemical methods of evaluation foods**, Disponível em: <<http://food.oregonstate.edu/research/test/reducing.html>>. Acesso em: 25 mar. 2009.

LOVE, S. L.; WERNER, B. K.; PAVEK, J. J. Selection for individual trait in the early generations of a potato breeding program dedicated to producing cultivars with tubers having long shape and russet skin. **American Potato Journal**, v. 74, p. 199-213, 1997.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



LULAI, E. C.; ORR, P. H. Influence of potato specific gravity on yield and oil content of chips. **American Potato Journal**, v. 56, n. 2, p. 379-390, 1979.

MÜLLER, D. R. et al. Expressão dos caracteres e seleção de clones de batata nas condições de cultivo de primavera e outono. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1237-1334, 2009.

NEELE, A. E. F.; LOUWES, K. M. Early selection for chip* quality and dry matter content in potato seedlings populations in greenhouse or screnhouse. **Potato Research**, v. 32, p. 293-300, 1989.

RODRIGUES, A. F. S.; PEREIRA, A. S. Correlações inter e intragerações e herdabilidade de cor do chips, matéria seca e produção em batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 5, p. 599-604, 2003.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for gruping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p. 507-512, 1974.

SOWOKINOS, J. R. Biochemical and molecular control of cold-induced sweetening in potatoes. **American Journal of Potato Research**, v. 78, p. 221-236, 2001.

ZORZELLA, C. A. et al. Caracterização física, química e sensorial de clones de batata processados na forma de chips. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 1, p. 15-24, 2003.



VARIABILIDADE E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES DE FRUTOS DE MARACUJAZEIRO (*Passiflora caerulea*)

ROSSAROLLA, M.D.^{1*}; TOMAZETTI, T.C.¹; ZANELLA, A.¹; RADMANN, E.B.²; HEIFFIG-
DEL AGUILA, L.S.³; SAAVEDRA DEL AGUILA, J.⁴

¹ Acadêmico (a) do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Campus Itaqui, RS. e-mail: mdrossarolla@gmail.com, tctomazetti@gmail.com, ale.zanella@hotmail.com.

² Engenheiro agrônomo, Doutora Professora Adjunto Fruticultura, Curso de Agronomia, UNIPAMPA – Campus Itaqui, RS. e-mail: elizeteradmann@unipampa.edu.br.

³ Engenheiro agrônomo, Dr^a Pesquisadora, Embrapa Clima Temperado, Estação terras baixas. e-mail: lilia.sichmann@embrapa.br

⁴ Engenheiro agrônomo, Doutor Professor Adjunto Fitossanidade, Curso de Enologia, UNIPAMPA – Campus Dom Pedrito, RS. e-mail: juanaguila@unipampa.edu.br.

Resumo

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a variabilidade existente entre frutos de maracujazeiros nativos e a correlação entre os caracteres observados. Foram coletados 50 acessos de maracujazeiros da espécie *Passiflora caerulea*, dos quais se obteve 200 frutos. Foram avaliados os caracteres de volume (cm³), comprimento (mm), diâmetro (mm) e massa (g) do fruto, parâmetros de coloração (L*, a* e b*), espessura (mm), massa fresca (g) e massa seca (g) do pericarpo, parâmetros de coloração (L*, a* e b*) e massa (g) do endocarpo. Observou-se o coeficiente de variação das variáveis e a correlação pelo coeficiente de Pearson. O coeficiente de variação foi acima de 30% para a maioria dos caracteres avaliados. A correlação do volume do fruto foi maior com o diâmetro do que com o seu comprimento. O diâmetro também se correlacionou com a massa do fruto, alguns parâmetros da coloração do pericarpo apresentou correlação com a coloração do endocarpo. Existe alta variabilidade entre os genótipos avaliados, a mensuração do diâmetro dos frutos pode ser utilizada para estimar a massa e o volume dos mesmos, a coloração interna pode ser auferida pelos parâmetros de coloração do pericarpo.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Seleção fenotípica. Frutas nativas.

Introdução

O maracujazeiro pertence à família *Passifloraceae* e ao gênero *Passiflora*, reunindo mais de 500 espécies distribuídas pelos trópicos, sendo o Brasil centro de origem de, aproximadamente, 1/3 das espécies e o principal país produtor da fruta (GANGA et al., 2004). Entretanto, a falta de genótipos altamente produtivos e a grande variabilidade



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



existente em pomares comerciais são causas de baixa produtividade, o que reflete a necessidade do melhoramento genético para esta cultura (GONÇALVES et al., 2007).

Estudos de melhoramento genético visam ao desenvolvimento de materiais superiores com relação, principalmente, aos caracteres de interesse agrônomo e tendem a utilizar a hibridação intra-específica para a transferência de genes de interesse. Para isto, faz-se necessário o estudo da variabilidade genética presente na população base, pois o processo genético depende basicamente da magnitude da variabilidade genética, que é intrínseca a cada população de trabalho (VIANA et al., 2003; KRAUSE et al., 2012).

Em programas de melhoramento genético, ao longo do processo de seleção, objetiva-se melhorar um caráter principal, além de manter ou aprimorar a expressão de outros caracteres simultaneamente. Nesse aspecto, o conhecimento das relações existentes entre caracteres, tais como estimados pelas correlações, tem sido de grande relevância no melhoramento vegetal, pois fornece informações úteis ao melhorista que auxiliam no processo seletivo (LOPES et al., 2002; NOGUEIRA et al., 2012), sobretudo quando se deseja realizar seleção simultânea de caracteres ou seleção indireta (NEGREIROS et al., 2007).

Com base neste contexto, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar a variabilidade existente entre frutos de maracujazeiros nativos e a correlação entre os caracteres observados.

Material e Métodos

Foram coletados frutos oriundos de cruzamento aberto de 50 acessos de maracujazeiros nativos da região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul, classificados botanicamente como pertencentes à espécie *Passiflora caerulea*, totalizando uma amostra de 200 frutos analisados. Os frutos foram coletados no estágio final de maturação, durante o mês de outubro de 2012, sendo avaliadas suas características (volume, largura, comprimento e massa), além daquelas do pericarpo (coloração, espessura, massa fresca e massa seca) e do endocarpo (coloração e massa).

A coloração foi mensurada utilizando colorímetro digital (Minolta/CR 400) através de quatro medidas equatoriais, obtendo-se os parâmetros L^* , a^* e b^* , sendo L^* varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* varia de -120 (verde) a 120 (vermelho) e b^* varia de -120 (azul) a 120 (amarelo) (OLIVEIRA et al., 2012). O volume do fruto foi determinado pelo volume de água deslocado pela sua imersão. A massa foi obtida em balança digital. A espessura do pericarpo, o comprimento e o diâmetro do fruto foram obtidos com auxílio de um paquímetro digital.

Observaram-se os valores de média, mínima, máxima, desvio padrão e coeficiente de variação das variáveis. Foram estimados os coeficientes de correlação, calculados pelo método de Pearson (r). Este coeficiente varia de -1 (correlação perfeita negativa) a 1 (correlação perfeita positiva), valores próximos a 0 indicam não haver correlação entre as variáveis (FIGUEIREDO FILHO e SILVA JUNIOR, 2009). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa estatístico R Core Team (2012).

Resultados e discussões

Verificou-se que as variáveis de volume e massa do fruto, espessura, massa fresca e seca do pericarpo, massa do endocarpo e parâmetro de coloração a^* do pericarpo e endocarpo apresentaram coeficiente de variação acima de 30% (Tabela 1). O elevado coeficiente de variação entre as características avaliadas é um indicativo da variabilidade



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



existente entre os genótipos, portanto, há alta probabilidade de sucesso no desenvolvimento de populações melhoradas (FREITAS et al., 2011).

Tabela 1 – Variabilidade de características físicas de frutos de *Passiflora caerulea*, 2013.

Característica	Mínimo	Máximo	Média + Desvio-padrão	Coefficiente de Variação (%)
Fruto				
Volume (cm ³)	5,00	55,00	26,15 + 9,58	36,63
Comprimento (mm)	17,20	57,42	40,69 + 5,84	14,35
Diâmetro (mm)	13,50	47,06	33,02 + 5,53	16,75
Massa (g)	1,40	35,20	16,46 + 6,54	39,73
Pericarpo				
L*	45,30	74,03	64,09 + 7,26	11,33
a*	-22,71	33,10	7,61 + 4,75	62,46
b*	25,10	72,89	54,58 + 12,87	23,58
Espessura (mm)	0,73	6,70	3,05 + 0,96	31,48
Massa fresca (g)	3,20	19,34	9,35 + 3,48	37,22
Massa seca (g)	0,30	1,58	0,81 + 0,26	32,10
Endocarpo				
L*	24,33	70,19	38,04 + 9,17	24,11
a*	-12,62	32,32	20,28 + 10,09	49,75
b*	12,77	42,37	20,21 + 3,22	15,93
Massa (g)	0,90	16,00	7,53 + 3,19	42,36

As correlações foram significativas para a maioria dos caracteres mesmo para valores de r baixos (Tabela 2), podendo este resultado ser explicado pelo elevado tamanho da amostra. Para discussão será utilizado somente as correlações entre -1 e -0,7 e entre 0,7 e 1, consideradas correlações fortes (FIGUEIREDO FILHO e SILVA JUNIOR, 2009).

Tabela2 – Coeficientes de correlação entre os as características dos frutos de *Passiflora caerulea*, coloração (L*, a* e b*), massa seca (Ms), massa fresca (Mf), espessura (Esp), Diâmetro (Diam.) e comprimento (Comp.), 2013.

	----- Endocarpo -----				----- Pericarpo -----						----- Fruto -----		
	Massa	b*	a*	L*	MS	Mf.	Esp.	b*	a*	L*	Massa	Diam.	Comp.
Fruto													
Vol.	0,78**	0,03 ^{ns}	0,24*	-0,14 ^{ns}	0,78**	0,81**	0,23**	-0,05 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,83**	0,90**	0,79**
Comp.	0,60**	0,08 ^{ns}	0,18*	-0,09 ^{ns}	0,70**	0,69**	0,22**	0,09 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,69**	0,74**	
Diam.	0,74**	0,03 ^{ns}	0,18*	-0,08 ^{ns}	0,74**	0,79**	0,19*	0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,82**		
Massa	0,85**	0,04 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,82**	0,88**	0,27**	-0,16*	-0,09 ^{ns}	-0,15 ^{ns}			
Pericarpo													
L*	-0,01 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,47**	-0,61**	-0,33**	-0,33**	-0,19*	0,93**	0,68**				
a*	-0,02 ^{ns}	-0,26**	0,46**	-0,64**	-0,18*	-0,27**	-0,06 ^{ns}	0,77**					
b*	-0,06 ^{ns}	-0,19*	0,41**	-0,60**	-0,37**	-0,36**	-0,20**						
Esp.	0,07 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,27**	0,41**							
Mf.	0,64**	0,06 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,89**								
MS	0,58**	0,02 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,10 ^{ns}									
Endocarpo													



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



L*	-0,23**	0,40**	-0,89**
a*	0,33**	-0,18*	
b*	0,01 ^{ns}		

*, **: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, respectivamente.

^{ns}: não-significativo.

A massa do endocarpo apresentou forte correlação com os caracteres de volume (0,78), massa do fruto (0,85) e diâmetro (0,74) (Figura 1 A). Estes resultados corroboram com os resultados encontrados por Morgado et al. (2010) em pesquisa com maracujazeiro-azedo, nos quais também foi observada forte correlação entre o comprimento do fruto e a massa do endocarpo (0,89).

O volume do fruto apresentou maior correlação com o diâmetro (0,90) em comparação ao seu comprimento (0,79), resultado semelhante foi observado para a massa do fruto, que apresentou maior correlação com volume (0,83) e diâmetro do fruto (0,82) (Figura 1 B), estando menos correlacionada ao comprimento (0,69). Estes resultados estão de acordo com os relatados por Negreiros et al. (2007) e Oliveira et al. (2008), ambos em trabalho com maracujazeiro-amarelo, Entretanto, Morgado et al. (2010) verificaram maior correlação entre o comprimento do fruto e sua massa (0,97). As correlações verificadas neste trabalho indicam que a seleção de frutos de maior massa e volume, pode ser realizada através da mensuração do diâmetro dos frutos no campo, facilitando os trabalhos de seleção.

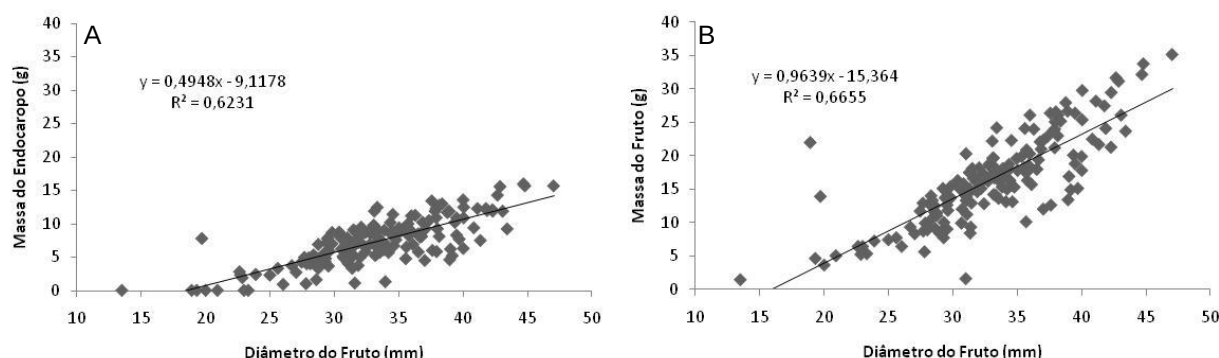


Figura 1 – Efeito do diâmetro do fruto sobre a massa do endocarpo (A) e massa do fruto (B) em frutos de *Passiflora caerulea*, 2013.

Os parâmetros de coloração do pericarpo indicaram que existe correlação entre a luminosidade (L*) e a predominância da cor amarela (b*) característica do fruto maduro, também resultando na redução da coloração verde (-a*), o que se deve à degradação dos pigmentos verdes durante o processo de amadurecimento.

Conclusões

Existe alta variabilidade entre os genótipos de maracujazeiros coletados na região.

A mensuração do diâmetro dos frutos de *P. caerulea* pode ser utilizada para estimar a massa e o volume do fruto e massa do endocarpo.

Referencias Bibliográficas

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JUNIOR, J. A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, p. 115-146, 2009.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



- FREITAS, J. P. X. et al. Avaliação de recursos genéticos de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 9, p. 1013-1020, 2011.
- GANGA, R. M. D. et al. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares faFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 494-498, 2004.
- GONÇALVES, G. M. et al. Seleção e herdabilidade na predição de ganhos genéticos em maracujá amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 193-198, 2007.
- KRAUSE, W. et al. Ganho de seleção no melhoramento genético intrapopulacional do maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 51-57, 2012.
- LOPES, A. C. A. et al. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 341-348, 2002.
- MORGADO, M. A. D. et al. Correlações fenotípicas em características físicoquímicas do maracujazeiro-azedo. **Acta Agronômica**, v. 59, n. 4, p. 457-461, 2010.
- NEGREIROS, J. R. S. et al. Relação entre características físicas e o rendimento de poupa de maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 546-549, 2007.
- NOGUEIRA, A. P. O. et al. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 877-888, 2012.
- OLIVEIRA, E. J. et al. Seleção em progênies de maracujazeiro-amarelo com base em índices multivariados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 11, p. 1543-1549, 2008.
- OLIVEIRA, T. A. et al. Efeito do biofilme de gelatina e cloreto de cálcio na coloração de quiabo armazenado sob refrigeração. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Patos, v. 8, n. 2, p. 07-11, 2012.
- R Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- VIANA, A. P. et al. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2003.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE PLANTAS



AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA MINIESTAQUIA E APLICAÇÃO DE AIB EM *Jacaranda mimosifolia* D. DON.

JUNG, A. P.¹; BASSO, L. J.²; MANTOVANI, N. C.³;

¹ Engenheira Florestal, Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, RS, Brasil. * E-mail: ana_p_jung@hotmail.com.

² Engenheira Florestal, Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, RS, Brasil.

³ Engenheiro Florestal, Dr. Prof. Adjunto do Departamento de Engenharia Florestal, Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da miniestaquia e os efeitos da aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de *Jacaranda mimosifolia* D. DON. Os tratamentos constituíram-se de miniestacas basais tratadas com as concentrações de 0, 6.000 e 8.000 e 10.000 mg.L⁻¹ de AIB em pó. Foi utilizado o delineamento experimental DIC, constituído de 4 tratamentos em cinco repetições, compostas por 10 miniestacas/repetição. Aos 70 dias em casa de vegetação avaliou-se a sobrevivência, o enraizamento e a formação de brotos nas miniestacas. Os resultados indicaram que a testemunha promoveu maior sobrevivência, a concentração de 10.000 mg.L⁻¹ de AIB foi a melhor para o enraizamento e a de 6.000 mg.L⁻¹ para o número de raízes. Houve 100% de miniestacas brotadas em todos os tratamentos. A miniestaquia do Jacarandá é viável, entretanto, o uso do fitorregulador mostrou-se dispensável na produção de mudas dessa espécie, pois o enraizamento ocorre sem a aplicação de AIB. A aplicação da auxina, independente da concentração, causou efeito negativo na sobrevivência das miniestacas.

Palavras-chave: Ácido Indolbutírico, Tipo de miniestaca, Enraizamento.

Introdução

Pertencente a família Bignoniaceae, a espécie arbórea decídua *Jacaranda mimosifolia* D. Don é conhecida popularmente por Jacarandá mimoso e ocorre naturalmente



no noroeste da Argentina, no nordeste da Bolívia e do Paraguai (COSTA et al., 2011). Todavia, há muito tempo esta espécie vem sendo amplamente utilizada na arborização urbana de parques, praças, ruas, calçadas e na formação de alamedas de diversas cidades do Brasil, devido ser uma árvore extremamente ornamental, apresentando floração exuberante e durável de cores intensas que variam do azul ao violeta (LORENZI, 2002a), além de possuir o sistema radicial pouco agressivo à pavimentação.

Apesar de ser uma espécie apreciada pelas suas características, pouco se conhece sobre a aplicação da miniestaquia nesta espécie com o objetivo de formação de mudas de qualidade visando também a produção de madeira. A produção de mudas de espécies ornamentais ou madeiras, como o Jacarandá Mimoso, utilizando-se das técnicas da propagação vegetativa, principalmente da miniestaquia, pode se tornar imprescindível quando se deseja uma produção acelerada, uniforme e com mudas de boa qualidade.

Contudo, quando se trata de propagação via miniestaquia muitas espécies arbóreas necessitam da aplicação de reguladores de crescimento para favorecer o processo de formação de raízes. As auxinas são os reguladores de crescimento mais utilizados para a indução de raízes, sendo o ácido indolbutírico (AIB), a principal auxina utilizada para este fim (SOUZA et al., 1995).

Para o Jacarandá mimoso não foram encontradas informações sobre seu cultivo em minijardim clonal e sua propagação por miniestacas. Deste modo, os objetivos deste trabalho foram avaliar a viabilidade da miniestaquia e os efeitos da aplicação de diferentes concentrações de AIB em miniestacas basais.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no período de outubro a dezembro de 2011, no Viveiro Florestal do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), *campus* de Frederico Westphalen. O município localiza-se na região do Médio Alto Uruguai do estado, sob coordenadas geográficas de 27°22'47" S e 53°25'41" W, a 480 m de altitude média. O clima da região, segundo a classificação climática de Köppen, é do tipo Cfa, ou seja, subtropical úmido com temperatura média anual de 18,8°C e temperatura média do mês mais frio de 13,3°C.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação revestida de prolipropileno transparente (150 micras) sob tela de sombreamento de cor preta (50%). No interior da casa de vegetação instalou-se o minijardim clonal constituído de canteiros suspensos, na



forma de tanques em estrutura de fibra de vidro com um sistema de irrigação composto de 4 linhas de mangueiras promovendo o gotejamento diretamente na base das minicepas.

As minicepas de jacarandá foram formadas a partir de mudas de origem seminal de árvores matrizes selecionadas na região. A nutrição das minicepas foi realizada cerca de um mês antes da coleta das brotações, visando o crescimento vegetativo para a obtenção dos brotos, na qual utilizou-se NPK na formulação 10-20-10, aplicando-se aproximadamente 1,70g/planta.

Para a avaliação do efeito do regulador de crescimento AIB no enraizamento adventício das miniestacas foram utilizados como propágulos vegetativos brotações provenientes das minicepas do minijardim clonal. Os tratamentos constituíram-se de AIB na formulação em pó, nas concentrações de 0, 6.000, 8.000 e 10.000 mg.L⁻¹, aplicadas na base de miniestacas retiradas de porções basais das brotações.

As miniestacas foram preparadas e padronizadas com 7cm de comprimento, com a remoção da gema apical e mantendo-se um par de folíolos cortados ao meio. Imediatamente depois de confeccionadas, as miniestacas foram armazenadas em recipiente contendo água destilada para evitar a desidratação. A coleta das brotações e o preparo das miniestacas foram realizados no período matinal.

O estaqueamento foi realizado em tubetes de polipropileno de 55cm³ contendo substrato florestal e dispostos em bandejas de 12 x 8 células. As bandejas contendo os tratamentos foram mantidas durante 70 dias em casa de vegetação, revestida de polipropileno transparente (150 micras) sob tela de sombreamento de cor preta (50%) e irrigação por aspersão.

Aos 50 dias da instalação do experimento foi realizada a avaliação da sobrevivência das miniestacas e, na saída da casa de vegetação, aos 70 dias, as avaliações constaram da porcentagem de sobrevivência (miniestacas vivas, mesmo sem ter formado raiz), porcentagem de miniestacas com brotações novas, porcentagem de enraizamento (miniestacas vivas com pelo menos uma raiz de no mínimo 1mm de comprimento), número médio de raízes por miniestaca e comprimento médio das três maiores raízes.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), constituído de 4 tratamentos (concentrações de AIB) em cinco repetições, sendo cada uma compostas por 10 miniestacas.

As avaliações estatísticas dos dados foram realizadas com o *software Statistical Analysis System* (SAS, 1999), no qual os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram submetidas à Análise de Regressão, a nível de 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).



Resultados e discussão

A análise de variância revelou efeito das concentrações de AIB sobre a sobrevivência de miniestacas em casa de vegetação. Na Tabela 1, verificam-se os valores médios das variáveis aos 70 dias.

Tabela 1 – Médias de porcentagem de sobrevivência aos 50 dias (S50%) e aos 70 dias (S70%), porcentagem de brotações novas (B%), porcentagem de enraizamento (E%), número de raízes (NR) e comprimento das raízes (CR) de *Jacaranda mimosifolia*, em função da concentração de Ácido Indolbutírico (AIB). CESNORS/UFSM, Frederico Westphalen, RS, 2011.

Tratamentos AIB	S50 %	S70 %	B%	E%	NR	CR (cm)
0 mg.L ⁻¹	70 *	70 *	100 ^{ns}	69,17 *	8,26 *	8,26 ^{ns}
6.000 mg.L ⁻¹	52	52	100	66,10	13,11	9,73
8.000 mg.L ⁻¹	44	44	100	91,66	11,02	7,91
10.000 mg.L ⁻¹	54	48	100	94,30	12,33	11,71
Média Geral	55	53,50	100	80,30	11,18	9,40

Em que: ^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$), pelo teste F.

* significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$), pelo teste F.

A porcentagem de sobrevivência permaneceu estável entre os dois períodos avaliados (50 e 70 dias), exceto para a concentração de 10.000 mg.L⁻¹, na qual o percentual decresceu cerca de 6%. Wendling et al. (2005) afirmam que a avaliação da sobrevivência das plantas aos 50 dias é uma idade em que já mostra efeitos mais drásticos do ambiente, sendo mais fácil a ocorrência de diferenças entre os tratamentos.

O uso do AIB ocasionou a redução na sobrevivência das miniestacas. Assim, a ausência de AIB (testemunha) promoveu maior sobrevivência das miniestacas em ambas as datas avaliadas. A maior frequência de sobrevivência na testemunha (90,6%) também foram observadas por Kleber et al. (2010), ao estudarem a propagação vegetativa de *Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan via miniestaquia, verificando a redução progressiva desta variável conforme aumentava-se a concentração de AIB.

A justificativa para a menor sobrevivência com o uso do AIB provavelmente seja a de que o regulador de crescimento tenha proporcionado um efeito fitotóxico, causando maior estresse às miniestacas e, conseqüentemente, menor capacidade de sobrevivência. Nachtigal et al. (1994) relacionam a menor porcentagem de sobrevivência com o efeito fitotóxico do AIB, principalmente pela formação de uma camada de abscisão foliar que provoca queda das folhas e posterior morte das miniestacas.



Aparentemente, a emissão de brotos não foi inibida pelo aumento da concentração do AIB, pois todas as miniestacas que sobreviveram até o período de avaliação emitiram brotos novos (Tabela 1), não ocorrendo diferença significativa entre os tratamentos em relação à porcentagem de brotações novas (B%). A importância da formação de novos brotos nas estacas, segundo Hartmann et al. (2002), está no fato de aumentar a síntese de carboidratos, contribuindo no desenvolvimento de um sistema radicial mais vigoroso.

Resultado inferior ao do presente experimento foram observados por Kleber et al. (2010), em miniestaquia de *Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan, na qual constataram que sem a aplicação do AIB ocorreu maior percentual de miniestacas com novas brotações (56,25%), verificando redução nesta variável conforme se aumentou a concentração da auxina, apesar dos tratamentos não diferirem estatisticamente entre si.

O enraizamento das miniestacas mostrou efeito significativo em relação à concentração de AIB aplicada e se comportou de modo inverso à sobrevivência. Neste estudo foi observado que entre as miniestacas que sobreviveram ao possível efeito fitotóxico provocado pelo AIB foram obtidas altas porcentagens de enraizamento, quando se aumentou a concentração do regulador de crescimento. Entretanto, a emissão de raízes nas miniestacas testemunha demonstra que o desenvolvimento de raízes nessa espécie independe do uso do AIB.

De acordo com a equação ajustada, foi verificada tendência crescente da curva de regressão até a concentração de 10.000 mg.L^{-1} de AIB, o que promoveu uma estimativa de 94,3% de miniestacas enraizadas neste tratamento (Figura 1), indicando que doses superiores dessa auxina podem ser testadas, visando à obtenção do seu ponto de máxima eficiência técnica.

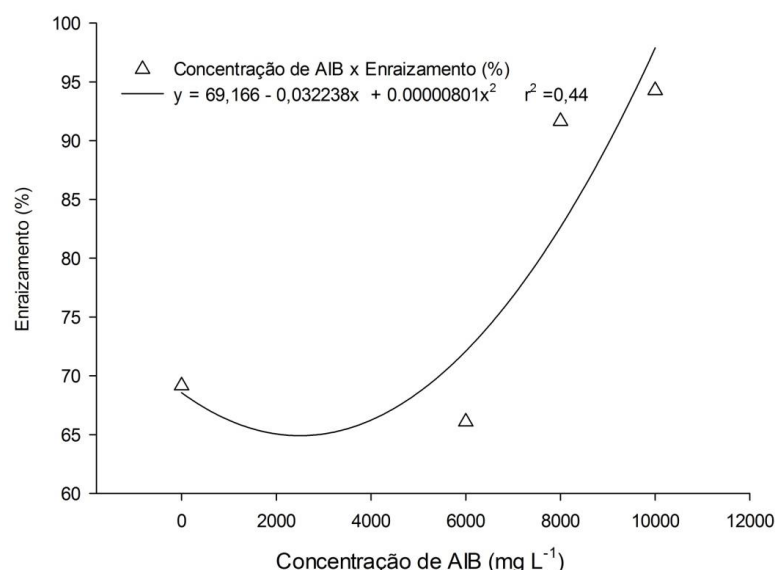


Figura 1 – Relação entre a concentração de AIB (mg.L⁻¹) e a porcentagem de enraizamento em miniestacas de *Jacaranda mimosifolia*, aos 70 dias de permanência em casa de vegetação.

A utilização de AIB estimulou a formação do sistema radicial em relação ao número de raízes emitidas/miniestacas nesta espécie, ocorrendo diferença significativa entre as médias dos tratamentos. Em geral, a produção média de raízes por miniestaca foi de aproximadamente 11. A testemunha apresentou cerca de 8 raízes/miniestaca enquanto a concentração de 6.000 mg.L⁻¹ de AIB proporcionou a produção de 13 raízes/miniestaca, indicando a importância do regulador de crescimento no aumento do número de raízes (Tabela 1).

Para a variável comprimento médio das três maiores raízes (CR) foi observado melhor resultado quando se utilizou a concentração de 10.000 mg.L⁻¹ da auxina, que proporcionou uma média de 11,71 cm de raízes, apesar de não existir diferenças significativas entre os tratamentos.

Conclusão

Conclui-se que a miniestaquia do *Jacaranda mimosifolia* é viável para a produção de mudas desta espécie. O uso do AIB mostrou-se dispensável para a indução de raízes e, a aplicação da auxina causou efeito negativo na sobrevivência das miniestacas. Contudo, a auxina induziu a uma melhor formação do sistema radicial.



Referências Bibliográficas

COSTA, R. S. et al. Caracterização morfológica de folhas e flores de espécies de Jacaranda (Bignoniaceae), cultivadas em Jaboticabal – SP. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, nº 1, 2011.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation - principles and practices**. 7ed. New Jersey: Prentice Hall, 880p., 2002.

KLEBER, J. et al. Propagação vegetativa de *Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan por miniestaquia em sistema de jardim clonal. In: 25 a Jornada Acadêmica Integrada da Universidade Federal de Santa Maria, 2010, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, p. 54., 2002a.

NACHTIGAL, J.C.; HOFFMANN, A.; KLUGE, R.A. . Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) com o uso do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.16, n.1, p.229-235, 1994.

SOUZA, C. de; NACHTIGAL, J. C; KERSTEN, E. Efeito da Lesão e do Ácido Indolbutírico no Enraizamento de duas Cultivares de Ameixeira (*Prunus salicina*, Lindl) Através de Estaca. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.1, nº 3, 171-174, Set.-Dez., 1995.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.921-930, 2005.



DIFERENTES GRANULOMETRIAS DE CASCA DE ARROZ CARBONIZADA NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*

KRATZ, D.^{1*}, WENDLING, I.², PIRES, P.P.³

¹ Eng. Florestal, M.Sc., Doutoranda em Engenharia Florestal, UFPR, Curitiba, PR, Brasil. dagkratz@yahoo.com.br

² Eng. Florestal, Dr., Pesquisador da Embrapa Florestas, Colombo, PR, Brasil. ivar.wendling@embrapa.br

³ Eng. Florestal, M.Sc., Doutoranda em Engenharia Florestal, UnB, Brasília, DF, Brasil. pirespatricia@unb.br

Resumo

Objetivou-se avaliar a influência da utilização de diferentes granulometrias de casca de arroz carbonizada (CAC) no enraizamento e vigor radicial de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*. Para tanto, foram preparados 5 substratos a base de CAC (CAC: Casca de arroz carbonizada integra; CAC2: granulometria maior que 2 mm; CAC3: granulometria entre 1 – 2 mm; CAC4: granulometria entre 0,5 – 1 mm; CAC5: granulometria menor que 0,5 mm), nos quais as miniestacas foram enraizadas para produção das mudas (60 dias em casa de vegetação, 30 dias em casa de sombra e 30 dias em área de pleno sol). Avaliou-se: 1) a sobrevivência das miniestacas, número de raízes e comprimento da maior raiz na saída da casa de vegetação; 2) a sobrevivência na saída da casa de sombra e; 3) enraizamento a pleno sol. Com base nos resultados obtidos, concluiu-se que a casca de arroz carbonizada integra e com granulometria entre 0,5 – 1 mm propiciaram os maiores valores de enraizamento na miniestaca de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*.

Palavras-chave: Eucalipto. Clonagem. Substrato.

Introdução

O substrato possui funções de servir de sustentação das estacas durante o período de enraizamento e proporcionar aeração adequada ao desenvolvimento das raízes, bem como fornecer condições de umidade e nutrição para o crescimento radicial (XAVIER et al., 2009). Os substratos utilizados no enraizamento devem ser suficientemente porosos (macroporos) para possibilitar boa aeração para a estaca, pois o oxigênio é indispensável à respiração das raízes que surgem e, ao



mesmo tempo, armazenar certa quantidade de água (microporos), suficiente para o desenvolvimento inicial da muda (HARTMANN et al., 2011; CALDEIRA et al., 2011).

Este substrato deve ser isento de sementes de plantas invasoras, pragas e fungos patogênicos, evitando-se assim, a necessidade de sua desinfestação (HARTMANN et al., 2011; GONÇALVES et al., 2000). Estas características são encontradas na casca de arroz carbonizada, aliado à alta porosidade, boa aeração e baixa capacidade de retenção de água (WENDLING e GATTO, 2002). Além de ser estável física e quimicamente.

Segundo Couto et al. (2003) a baixa densidade da casca de arroz carbonizada é uma característica importante quando se deseja aumentar a porosidade total do substrato, proporcionando maior drenagem da água de irrigação e uma melhor aeração do sistema radicial da muda. Devido a estas características a casca de arroz carbonizada vem sendo utilizada na produção de mudas, combinado com outros elementos, como fibra de coco, vermiculita e casca de pinus (KRATZ et al., 2012, SILVA et al., 2012).

As características físicas de um substrato estão condicionadas ao tamanho e arranjo das partículas, onde altas proporções de frações maiores tornam o meio com alto espaço de aeração, enquanto partículas menores fecham os poros, aumentando a microporosidade e diminuindo a macroporosidade (FERMINO, 2003). Baseado nisso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes granulometrias de casca de arroz carbonizada no enraizamento e vigor radicial de miniestacas do híbrido *Eucalyptus benthamii* Maiden e Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden.

Metodologia

O experimento foi realizado no laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas em Colombo, PR, de setembro a dezembro de 2009. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é temperado, do tipo Cfb, com temperatura do mês mais frio entre -3°C a 18°C, sempre úmido, chuva em todos os meses do ano e temperatura do mês mais quente inferior a 22°C.

As brotações utilizadas para o preparo das miniestacas foram provenientes de minicepas de híbridos de *E. benthamii* x *E. dunnii*, propagadas pela técnica de estaquia convencional e cultivadas em sistema semi-hidropônico (BRONDANI, 2008). As minicepas receberam solução nutritiva por gotejamento, a qual foi distribuída três vezes ao dia a uma vazão total diária de 5 L m⁻². A solução nutritiva foi composta por monoamônio fosfato (0,04 g L⁻¹), sulfato de magnésio (0,40 g L⁻¹), nitrato de potássio (0,44 g L⁻¹), sulfato de amônio (0,31 g L⁻¹), cloreto de cálcio (0,79 g L⁻¹), ácido bórico (2,88 mg L⁻¹), sulfato de manganês (3,70 mg L⁻¹), molibdato de sódio (0,18 mg L⁻¹), sulfato de zinco (0,74 mg L⁻¹) e hidroferro em pó (81,80 mg L⁻¹).

As miniestacas foram preparadas deixando-se o ápice e dois pares de folhas com redução de aproximadamente 50% da área foliar e comprimento médio de 7 cm ($\pm$ 1 cm). Após a confecção das miniestacas, a região basal foi imersa em solução contendo 2000 mg L⁻¹ de ácido indolilbutírico (AIB) e, em seguida, foram estaqueadas em tubetes de 55 cm³ com inserção de aproximadamente 2 cm da miniestaca nos diferentes substratos formulados a base de casca de arroz carbonizada (CAC): CAC



íntegra (CAC), CAC com granulometria maior que 2 mm (CAC1), CAC com granulometria entre 1 – 2 mm (CAC2), CAC com granulometria entre 0,5 – 1 mm (CAC3) e CAC com granulometria menor que 0,5 mm (CAC4). Para a obtenção das granulometrias de casca de arroz carbonizada foram utilizadas quatro peneiras com as seguintes malhas: maior que 2 mm; entre 1 e 2 mm; de 0,5 a 1 mm e menor que 0,5 mm.

A caracterização física e química dos substratos foi realizada no laboratório de Solos da Embrapa Florestas, conforme a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 17 do Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2007) (Tabela 1).

Tabela 1. Densidade aparente (Dap), porosidade total (Pt), macroporosidade (Macro), microporosidade (Micro), potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (CE) e capacidade de troca catiônica (CTC).

Substrato	Dap. (g/cm ³)	Pt	Macro (%)	Micro	p H (H ₂ O)	CE mS cm ⁻¹	CTC (mmol _c dm ⁻³)
CAC	0,29	72,03	27,74	44,29	8,58	1,48	37,6
CAC1	0,19	53,08	30,25	22,83	8,51	1,26	85,6
CAC2	0,26	63,17	32,08	31,10	8,47	1,30	68,8
CAC3	0,33	54,33	11,27	43,06	8,47	1,68	79,6
CAC4	0,32	51,98	5,32	46,66	8,44	1,94	79,8

CAC - Casca de arroz carbonizada; CAC1 - Casca de arroz carbonizada com granulometria maior que 2 mm; CAC2 - Casca de arroz carbonizada com granulometria entre 1 – 2 mm; CAC3 - Casca de arroz carbonizada com granulometria entre 0,5 – 1 mm; CAC4 - Casca de arroz carbonizada com granulometria menor que 0,5 mm.

As bandejas preparadas com as miniestacas foram acondicionadas em casa de vegetação com temperatura entre 20 e 30°C e umidade relativa do ar superior a 80%, controladas automaticamente por termostato e umidostato, respectivamente, permanecendo por 60 dias. Após este período, o material foi transferido para a casa de sombra, visando à aclimatação (50% de sombreamento e irrigação por microasperção, com nove irrigações diárias com duração de 1 minuto e vazão de 144 L hora⁻¹), permanecendo por 30 dias. Em seguida, as miniestacas foram transferidas para a área de pleno sol visando sua rustificação por 30 dias, com irrigação feita por microasperção (quatro irrigações diárias de 30 minutos com vazão de 97 L hora⁻¹).

Ao longo do experimento avaliaram-se a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SSCV), número de raízes (NR) e comprimento da maior raiz na saída da casa de vegetação ($C > R$), sobrevivência na saída da casa de sombra (SSCS) e enraizamento na área de pleno sol (EAPS).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 14 tratamentos e 5 repetições de 12 miniestacas. Inicialmente os dados foram submetidos ao teste Bartlett ($p < 0,05$), a fim de verificar a condição de homogeneidade de variância e, em seguida, a análise de variância



(ANOVA) ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), prosseguindo para o teste Scott-Knott ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) a fim de observar as diferenças entre as médias.

Resultados e discussões

A análise de variância revelou efeito significativo do substrato para as variáveis relacionadas a sobrevivências e enraizamento nos diferentes ambientes (SSCV, SSCS, EAPS) e no comprimento total de raízes (CTR) (Tabela 2).

Tabela 2. Sobrevivência na saída de casa de vegetação (SSCV), sobrevivência na saída de casa de sombra (SSCS), enraizamento na área a pleno sol (EAPS), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR) e comprimento total de raízes (CTR) de miniestacas de *E. benthamii* x *E. dunnii*.

Substrato	SSCV	SSCS	EAPS	NR	CMR	CTR
		%		(muda ⁻¹)	cm	
CAC	64,0 a	56,0 a	49,8 a	3,0 a	8,5 a	17,8 a
CAC2	54,0 b	46,0 b	40,0 b	3,0 a	7,9 a	15,6 a
CAC3	40,0 b	32,0 c	29,0 c	3,0 a	5,8 a	12,5 a
CAC4	73,6 a	62,0 a	60,0 a	3,0 a	7,2 a	13,8 a
CAC5	45,0 b	26,0 c	26,0 c	3,0 a	6,6 a	10,0 b

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. CAC - Casca de arroz carbonizada íntegra; CAC2 - Casca de arroz carbonizada com granulometria maior que 2 mm; CAC3 - Casca de arroz carbonizada com granulometria entre 1 – 2 mm; CAC4 - Casca de arroz carbonizada com granulometria entre 0,5 – 1 mm; CAC5 - Casca de arroz carbonizada com granulometria menor que 0,5 mm.

A CAC e CAC4 apresentaram as maiores porcentagens de sobrevivência e enraizamento (SSCV, SSCS e EAPS), tendo a CAC3 e CAC5 mostrado as menores taxa de enraizamento (Tabela 2). Desta forma, justifica-se o peneiramento de CAC apenas para a obtenção da granulometria entre 0,5 e 1 mm (CAC4). Contudo, destaca-se a utilização da CAC na forma íntegra devido a maior praticidade no preparo desse substrato, reduzindo o custo com mão de obra e o tempo.

A casca de arroz pura também apresentou resultados promissores para Silva et al. (2012), os quais verificaram na miniestaquia do híbrido *E. urophilla* x *E. grandis* que esse substrato proporcionou a formação de 100% de mudas aptas para plantio, com qualidade boa e ótima do sistema radicial, qualidade essa relacionada a maior agregação do substrato as raízes

O baixo enraizamento observado no híbrido *E. benthamii* x *E. dunnii* (média de 55% no presente estudo para os melhores substratos) está atribuído a recalcitrância ao enraizamento destas espécies indicadas para regiões mais frias. Segundo Assis e Mafia (2007) esta característica é observada para as espécies de *Eucalyptus* subtropicais, como



E. nitiens, *E. regans*, *E. benthamii* e *E. dunnii*, que possuem baixas taxas de enraizamento quando comparadas com espécies tropicais como o *E. grandis* e *E. urophylla*. De acordo com estes autores esse comportamento, dificulta o uso destes materiais genéticos em programas clonais visando à resistência ao frio.

No que se refere ao vigor radicial, avaliado pelas características: número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR) e comprimento total de raízes (CTR), verificou-se que apenas para o CTR ocorreu diferença significativa entre os substratos (Tabela 2), tendo a CAC com granulometria menor que 0,5 mm (CAC5) apresentado menor comprimento total (10 cm), as demais granulometrias resultaram em média de 15 cm de CTR.

O menor vigor radicial e percentual de miniestacas enraizadas na CAC5 pode estar relacionado a baixa macroporosidade deste substrato. Corroborando com Alfenas et al. (2004), os quais mencionam que o excesso de água na fase de crescimento de raízes pode provocar falta de aeração, com a morte de mudas enraizadas e aumento da incidência de doenças. Segundo Freitas et al. (2009), o maior vigor radicial pode proporcionar melhor desenvolvimento das mudas em condições adversas e que este é influenciado por vários fatores, dentre eles o substrato.

Conclusão

A casca de arroz carbonizada influenciou no enraizamento e vigor radicial das miniestacas de *Eucalyptus benthamii* x *E. dunnii*. A forma integral e com granulometria de 0,5 a 1 mm proporcionou os maiores índices de enraizamento..

Referências

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 442 p.
- ASSIS, T. F. de. MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biotecnologia florestal**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2007. p. 93-121.
- BRONDANI, G. E. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage x *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2008. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.
- CALDEIRA, M. V. W., WENDLING, I., PENCHEL, R. M., GONÇALVES, E. O., KRATZ, D., TRAZZI, P.A. Propriedades de substratos para produção de mudas florestais. In: CALDEIRA, M. V. W., GARCIA, G. O., GONÇALVES, E. O., ARANTES, M. D. C.; FIEDLER, N. C. **Contexto e Perspectivas da Área Florestal no Brasil**. Alegre:Suprema; 2011. p. 141-160.



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 Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 2, p. 125-128.

FERMINO, M. H. O. Uso da análise física na avaliação da qualidade de componentes e substratos. In: FURLANI, A.M.C. et al. **Caracterização, manejo e qualidade de substratos para a produção de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, p.29-37, 2002.

FREITAS, T. A. S.; BARROSO, D.; CARNEIRO, J. G. de A.; PENCHEL, M.; FIGUEIREDO, F. A. M. M. A. Mudanças de eucalipto produzidas a partir de miniestacas em diferentes recipientes e substratos. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.4, p.519-528, 2006.

GONÇALVES, J. L. M.; SANTARELLI, E. D.; MORAES NETO, S. P. de; MANARA, M. P. Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização. In: GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p.309-350.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 8th. ed. Boston: Prentice-Hall, 2011. 915 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa SDA Nº 17**. Diário Oficial da União- Seção 1, nº 99, 24 de maio de 2007. Métodos Analíticos Oficiais para Análise de Substratos para Plantas e Condicionadores de Solo. Brasília, 2007.

SILVA, R. B. G.; SIMÕES, D.; SILVA, M. R. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.3, p.297-302, 2012.

WENDLING, I., GATTO, A. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002, 146 p.

XAVIER A., WENDLING I. SILVA. R. L. 2009. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG: ed. UFV. 272 p.



EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE *Lagerstroemia indica* L. COM FLORES DE COLORAÇÃO BRANCA E RÓSEA POR MEIO TÉCNICA DE ALPORQUIA

SALLA, V.P.^{1,2*}; ZULIAN, D.F.^{1,2}; MOURA, A.P.C.¹; LIMA, D.M.³

¹ Acadêmico(a) do curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV). *E-mail: vanessa_pad@hotmail.com

² Bolsista da FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA/UTFPR – Brasil.

³ Bióloga, Doutora., UTFPR-DV, Estrada para Boa Esperança, km 04, Dois Vizinhos – PR. danielamlima@ufpr.edu.br.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estudar o enraizamento de alporques de resedá com flores de coloração branca e rósea com aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico. O experimento foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos, nos meses de agosto a outubro de 2012. Os ramos semilenhosos sofreram um anelamento total de 1,5 cm, sendo envolvidos por algodão umedecido em soluções de diferentes concentrações de AIB (0, 1000, 2000 e 3000 mgL⁻¹), cobertos com substrato vermiculita de granulometria fina e com sacos de polietileno amarrados com barbante nas extremidades. O experimento foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 3 repetições, com 3 alporques por tratamento, em um arranjo fatorial de 4X2 (quatro concentrações de AIB para duas colorações de flores - branca e rósea). Aos 60 dias após a instalação foram avaliadas as variáveis: porcentagem de enraizamento, número e comprimento médio raízes formadas por alporque, porcentagem de alporque com calos. Verificou-se interação entre os fatores analisados para variável número de raiz, para as demais variáveis não foi possível análise estatística. Para o presente trabalho o método de alporquia apresentou vantagens pelo percentual de enraizamento obtido (100%) com aplicação de auxina e pela facilidade de propagação.

Palavras-chave: *Lagerstroemia indica* L.. Auxina. Alporquia.

Introdução

A espécie *Lagerstroemia indica* L. nativa da Índia e pertencente a família Lythraceae, sendo conhecida popularmente como resedá, extremosa, flor-de-natal e julieta (LORENZI et al., 2003). Normalmente são características desta família espécies arbóreas,



com folhas opostas e em menor frequência folhas alternas ou verticiladas, simples, estípulas vestigiais ou ausentes e margem inteira. Suas florações são frequentemente vistosas, bissexuadas, actinomorfas ou zigomorfas, diclamídeas ou monoclamídeas e seus frutos são em forma de cápsulas onde raramente apresentam o formato de baga (SOUZA e LORENZI, 2008).

A espécie *L. indica* é caducifólia e atinge de 3 a 5 metros de altura possui tronco ereto, liso, com caneluras uniformes helicoidais e escamação da casca fina. Possui copa aberta, com folhas simples, elíticas ou ovalado-alongadas, sésseis, opostas com comprimento entre 2 a 5 centímetros. É uma espécie muito utilizada no paisagismo para a composição de parques, jardins e arborização urbana, devido à intensa floração que incide entre novembro e fevereiro, podendo as inflorescências apresentar cores variadas como brancas, rosa-claras, rosa-escuras e arroxeadas (LORENZI et al., 2003).

A alporquia ou mergulhia aérea, também é considerada um método de propagação vegetativa, semelhante à estaquia, com a diferença de que na alporquia as partes postas a enraizar não são destacadas da planta-mãe (RIBEIRO et al., 2005). A técnica consiste basicamente em realizar um anelamento dos ramos para interromper o fluxo de seiva contido em um determinado ponto da planta, assim este ramo é forçado a emitir novas raízes, sendo os melhores períodos para realizar esta técnica o início da primavera ou o final do verão (NORONHA, 2007).

O ácido indolbutírico (AIB) é um regulador vegetal que auxilia na propagação vegetativa, sendo considerada também a auxina mais utilizada no método de indução de enraizamento adventício, pois esta é considerada uma substância com ação localizada, e bastante resistente à degradação biológica (FACHINELLO et al., 1995).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o enraizamento de alporques de resedá com flores de coloração branca e rósea com aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico.

Metodologia

O experimento foi realizado nas dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos, entre os meses de agosto e outubro de 2012.

Ramos semi-lenhosos de duas matrizes de *L. indica* com diferentes colorações de flores (róseas e brancas), localizadas nas dependências do Câmpus foram selecionados e sofreram um anelamento total de 1,5 cm. Os mesmos foram envolvidos por algodão umedecido em soluções de diferentes concentrações de AIB (0, 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹).



Os mesmos foram cobertos com substrato vermiculita de granulométrica fina umedecida e protegidos com sacos de polietileno amarrados com barbante nas extremidades.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições, em arranjo fatorial 4 x 2 (quatro concentrações de AIB para duas colorações de flores: branca e rósea). Aos 60 dias após a instalação foram avaliadas as variáveis: porcentagem de alporques enraizados, número e comprimento médio de raízes por alporque (cm) e porcentagem de alporques com calos.

Para a comparação de médias foi utilizado o teste de Tukey a 5% de significância. Para as variáveis número médio de raízes por alporque e porcentagem de alporques com calos efetuou-se análise de regressão. A variável número médio de raiz por alporque sofreu transformação de dados por raiz de x. Para as variáveis porcentagem de alporques vivos e comprimento médio das três maiores raízes não foi possível a realização de análise estatística.

A análise estatística foi realizada por meio do programa ASSISTAT 7.6 beta, licenciado pelo Professor Doutor Francisco de Assis Santos e Silva, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil.

Resultados e discussões

Por meio da realização da análise de variância sobre a porcentagem de enraizamento, não foi verificada interação significativa entre os fatores concentração de AIB X coloração da flor ($p = 0,3193$), sendo esses fatores considerados independentes. Para a variável coloração também não se obteve significância com $p = 0,1983$ (Tabela 1). Procedeu-se então à regressão entre a concentração e a porcentagem de enraizamento, porém esta não apresentou significância.

Em relação às médias gerais de enraizamento de resedá com flores brancas e róseas não foi verificada diferença significativa, sendo que a cor rósea apresentou numericamente as maiores porcentagens de enraizamento, com as concentrações de 1000 e 2000 mg L⁻¹, ambas com 100%. Já para a cor branca a concentração 3000 mg L⁻¹ apresentou melhor enraizamento (100%) (Tabela 1). Porém Pivetta et al. (2012) em experimento com a espécie espiroleira (*Nerium oleander* L.) obteve diferenças na porcentagem de enraizamento com as duas variedades de espiroleira (a de flores brancas e de flores rosas), sendo que no período de inverno a variedade de coloração rosa mostrou a maior capacidade de enraizamento (77,00%), uma vez que a variedade de coloração branca obteve uma média de (56,00%) de enraizamento. Os dois autores obtiveram uma



maior porcentagem de enraizamento para a coloração rosa, diferentemente dos resultados expostos onde não se obteve nenhuma variação estatística significativa para ambas às cores, portanto, fica evidente o fato de que a resposta ao enraizamento está diretamente relacionada a cada espécie.

Tabela 1. Porcentagem de enraizamento e comprimento médio das raízes de *L. indica*.

Conc. AIB (mg L ⁻¹)	Enraizamento (%)			Comprimento Médio das Raízes (cm)		
	Coloração			Substrato		
	Brancas	Róseas	Média	Branca	Róseas	Média
0	11,11	22,22	16,66ns	0,39	5,65	3,02
1000	11,11	100,00	55,55ns	0,15	6,52	3,33
2000	22,22	100,00	61,11ns	3,33	6,98	5,15
3000	100,00	22,22	61,11ns	5,28	0,50	2,89
Média	36,11 ns	48,89ns		1,84	4,91	
CV (%)	64,44					

CV= coeficiente de variação; *Dados sem análise estatística; ns= não significativo a 5% de probabilidade para interação concentração de AIB x Coloração.

Para a variável comprimento médio de raízes foi constatada a necessidade da transformação dos dados, pois não houve normalidade. Porém nenhuma transformação empregada proporcionou normalidade dos dados. Desse modo, não foi possível realizar a análise estatística (Tabela 1), sendo a maior média de (5,15 cm) para a concentração de 2000 mg L⁻¹ de AIB.

Em estudo com estaquia de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), Ribas et al. (2007) encontraram um efeito positivo no uso do AIB em relação ao comprimento das três maiores raízes, onde a concentração 2000 mg L⁻¹ apresentou o melhor resultado (10 cm).

A análise estatística revelou que houve interação entre os fatores testados (concentração de AIB e coloração da flor) com $p= 0,0033$ (Tabela 2), para o número médio de raízes.

Os dados obtidos para a variável número médio de raízes por alporque mostra que a coloração rósea com o emprego de AIB na concentração de 3000 mg L⁻¹ apresentou o menor resultado com média de 1,00 raiz por alporque (Tabela 2). O decréscimo na quantidade de raízes com emprego das concentrações 3000 e 4000 mg L⁻¹ de AIB também foi observado por Smarsi et al. (2008) em alporquia realizada com e *Litchi chinensis* (lichia) onde as mesma provocaram redução no número de raízes com média de 2,00 e 3,00 raízes por alporque no substrato húmus.

Tabela 2. Número médio de raízes por alporque e porcentagem de alporques com calos, de *L. indica*.



Conc. AIB (mgL ⁻¹)	Número Médio de Raízes*			Alporques com Calos (%)		
	Coloração			Coloração		
	Branca	Róseas	Média	Branca	Róseas	Média
0	1,00b	9,00 a	5,00	22,22	11,11	16,66 ns
1000	0,33 b	19,00 a	9,66	22,22	100,00	61,11 ns
2000	11,67 a	41,33 a	26,5	22,22	22,22	22,22 ns
3000	18,00 a	1,00 b	9,5	11,11	100,00	55,55 ns
Média	6,20	17,58		15,55 ns	36,11 ns	
CV (%)	57,80					

CV= coeficiente de variação; *Dados transformados através da $\sqrt{x}$; ns= não significativo a 5% de probabilidade para interação concentração de AIB x Coloração. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Já para as outras concentrações não foi obtida diferença estatística, mostrando que há pouca influência destas concentrações com relação à formação de raízes para esta coloração. Porém, para as flores de coloração branca percebeu-se que as concentrações 2000 e 3000 mg L⁻¹ apresentaram as maiores médias com 11,67 e 18,00 raízes, respectivamente (Tabela 2). Este mesmo efeito foi observado por Wagner Júnior et al. (2005) em alporquia com *Prunus persica* (L.) Batsch (pessegueiro) onde o aumento das concentrações de AIB promoveu aumento no número de raízes, sendo que para as concentrações 2000 e 3000 mg L⁻¹ os resultados foram de aproximadamente 7 e 10 raízes por alporque, respectivamente.

Para a variável porcentagem de alporques com calo não houve interação entre os fatores analisados, apresentando um valor de $p = >0,050$, demonstrando que as variáveis são independentes. A variável coloração da flor também não foi significativa apresentando um valor de $p = >0,050$ (Tabela 2). Para a variável concentração de AIB foi realizada a regressão sendo esta significativa com um valor de $p = <0,010$.

Por meio da análise de regressão entre concentração e número de raízes obteve-se o modelo quadrático como significativo (Tabela 3), assim como por meio da análise de regressão entre concentração e porcentagem de calos o modelo quadrático foi significativo (Tabela 3).

Através da análise de regressão efetuada para a variável número médio de raiz por alporque x diferentes concentrações de AIB mostrou que o emprego de 2000 mg L⁻¹ proporcionou o maior número de raiz com em média 20 raízes por alporque (Figura 1A). Nesta mesma figura a linha de tendência mostra um acréscimo no número de raízes até a concentração 2000 mg L⁻¹, sendo observado que com concentrações mais elevadas os valores tendem a decrescer. Estes resultados são variados conforme a espécie em estudo, como os resultados obtidos por Almeida et al. (2004) em alporquia de *Dovyalis* sp., no qual



as concentrações de AIB aplicadas (0, 1000, 3000, 5000 e 7000 mg/kg) não apresentaram diferença estatística entre si para a variável em questão.

Tabela 3. Coeficientes de determinação e p-valor dos modelos gerados para a variável número médio de raízes por alporque e porcentagem de alporques com calos de *L. indica*.

Número Médio de Raízes		
Modelo	R ²	p-valor
Quadrático	0.69783082	0.0269
Porcentagem de Alporques com Calos		
Modelo	R ²	p-valor
Cúbica	1.00000000	<0,010

São escassos os dados referentes à relação entre coloração da flor e concentração de auxinas para a alporquia, entretanto alguns estudos foram realizados pela técnica de estaquia. Lima et al. (2006) em estudos com as duas espécies de *Calliandra* (*Calliandra selloi* (Sprg.) Macbr. e *Calliandra tweediei* Bentham) notou que para a variável número de raízes por estaca o fator coloração de estames foi o único que apresentou efeito sobre essa variável.

A regressão realizada para a variável porcentagem de alporques com calos (Figura 1B) mostrou que a concentração 1000 mg L⁻¹ apresentou a maior média, com aproximadamente 60%, sendo verificado para as demais concentrações o declínio das médias.

Notou-se a presença de calos em todos os tratamentos empregados como no trabalho de Bitencourt et al. (2007) em alporquia de *Ginkgo biloba* L.. Porém, para esta variável, o emprego dos tratamentos não foi significativo (Tabela 2). A relação entre o processo de calogênese e rizogênese ainda não é bem esclarecido, segundo Wagner Júnior et al. (2005) esta relação em alguns casos pode até se tornar um processo competitivo com o crescimento de raízes.

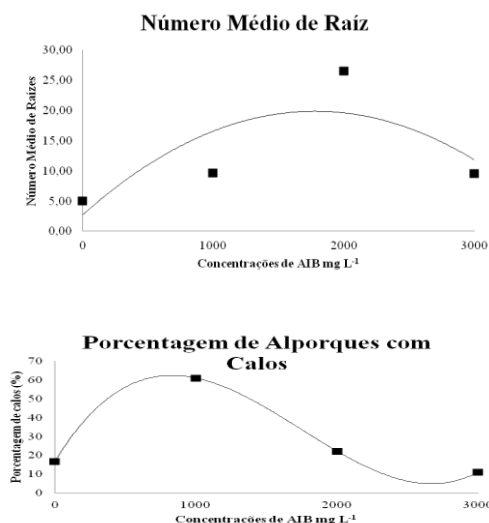


Figura 1. Número médio de raízes por alporque e porcentagem de alporques com calos de *L. indica*.

Conclusão

A utilização de AIB é viável para a formação de maior número de raízes por alporque e consequentemente de um sistema radicial de melhor qualidade.

Para o presente trabalho o método de alporquia apresentou vantagens pelos percentuais de enraizamento e pela facilidade de propagação da espécie por meio dessa técnica.

Referências

- ALMEIDA, E. J. de et al. Propagação de *Dovalys* sp. pelo processo de mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 511-514, dez. 2004.
- BITENCOURT, J.; MAYER, J. L. S. ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa de *Ginkgo biloba* por alporquia. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 71-74, ago. 2007.
- FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2 ed. Pelotas: UFPel, 1995. 178p.
- LIMA, D. M. de et al. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 7, n.1 -2, p. 105-111, 2006.
- LORENZI, H. et al. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003.



NORONHA, A. F. **Reprodução de plantas por via assexuada - alporquia**. Caçapava, 2007. Disponível em:

<http://www.fundevap.org.br/Downloads/Reprodu%E7%E3o%20de%20plantas%20por%20via%20assexuada%20-%20Alporquia.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2013.

RIBAS, C. P. et al. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas das cultivares de pessegueiro della nona e eldorado. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 439-442, 2007. (Nota Científica).

RIBEIRO, G. D. et al. Enxertia em fruteiras. Embrapa. Porto Velho – Rondônia. 2005.

SMARSI, R.C. et al. Concentrações de Ácido Indolbutírico e Tipos de Substrato na Propagação Vegetativa de Lichia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 07-11, 2008.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008, 2 ed. 703p.

SMARSI, R. C. et al. Concentrações de ácido indolbutírico e tipos de substrato na propagação vegetativa de lichia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 007-011, mar. 2008.

WAGNER JUNIOR, A. et al. Efeito da aplicação do ácido indolbutírico no enraizamento de ramos de pessegueiro “Biuti” através do processo de alporquia. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 52, n. 304, p. 975-985, 2005.



ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *Alternanthera dentata* (Moench) Stuchlik EM DIFERENTES DOSES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO

MENEGAES, J. F. ^{1*}; BACKES, F. A. A. L. ²; SANTOS, K. G. F. ¹; BELLÉ, R. A. ²; BACKES, R. L. ³

¹ Acadêmica, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * janine_rs@hotmail.com

² Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor do Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador do CEPAP – Epagri, Chapecó, SC, Brasil.

Resumo

O trabalho teve o objetivo de verificar o comportamento das estacas de penicilina na formação de raízes e nas características aéreas das mudas sob diferentes doses de ácido indolbutírico. O experimento foi conduzido no Setor de Floricultura da UFSM no período de fevereiro a março de 2013. Foram utilizadas estacas herbáceas de *Aternanthera dentata* submetidas a tratamento com AIB na forma de pó, nas concentrações (zero, 125, 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹) colocadas para enraizar em bandejas com 32 alvéolos em casca de arroz carbonizada. O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados, com cinco tratamentos composto de seis repetições, sendo cada unidade experimental constituída por oito estacas, e os dados submetidos à análise de regressão. Observou-se que à medida que se aumentou as doses de AIB houve uma diminuição no número de brotos, no número de folhas e no comprimento das raízes. Para o número de raízes verificou-se que a presença do regulador de crescimento influenciou na formação das mesmas. Conclui-se que a penicilina pode ser propagada sem o uso de ácido indolbutírico, sendo que nas condições deste experimento os benefícios do regulador de crescimento são no aumento do número de raízes formadas nas estacas.

Palavras-chave: Estaquia. Ácido indolbutírico. *Alternanthera dentata*.

Introdução

Plantas do gênero *Althernanthera* são conhecidas por possuírem propriedades antimicrobianas, antivirais e atividade analgésica (FERREIRA et al., 2003), muitas destas espécies são utilizadas como ornamentais e na medicina popular, sendo comumente encontradas em ambientes abertos (SOUZA & LORENZI, 2005). A espécie *Alternanthera dentata* (Moench) Stuchlik é conhecida popularmente como penicilina, periquito, periquito-gigante, folha-rubi, planta-do-cálico, terramicina, doril, perpetua-roxa e perpetua-dentada (PEREIRA, 2007; LORENZI & SOUZA, 1999). É



nativa do Brasil amplamente encontrada nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (PEREIRA, 2007), herbácea ereta ou semi-prostrada, de 30-50 cm de altura, folhas ovalado-alongadas, vermelho-arroxeadas na face superior e arroxeadas na inferior (LORENZI & SOUZA, 1999), inflorescências em capítulos globosos terminais, pequenos, de coloração verde-esbranquiçada, com flores diminutas, pouco atrativas (RIBEIRO & PAIVA, 2012), multiplica-se facilmente por estacas (LORENZI & SOUZA, 1999). É utilizada na medicinal popular para infecções, febre com dor de cabeça, lavar sarna e feridas bravas (SENS, 2002), e no paisagismo, cultivada em maciços para efeito de massa colorida, a pleno sol, em canteiros de terra bem esterçada, permeável e mantida úmida através de irrigações periódicas (LORENZI & SOUZA, 1999).

A estaquia é considerada a principal técnica de propagação vegetativa de muitas culturas hortícolas. A razão principal para o seu emprego é a capacidade de reproduzir, de uma forma exata, as características genéticas de qualquer planta individual (HARTMANN et al., 2002), processo no qual ocorre a indução do enraizamento adventício em segmentos destacados da planta-mãe, que, uma vez submetidos a condições favoráveis, originam uma muda (IDO & OLIVEIRA, 2012). São fatores importantes na propagação vegetativa, à época de coleta das estacas e o uso de reguladores de crescimento, que visam estabelecer um equilíbrio hormonal adequado ao enraizamento (FERRI et al., 1996).

O ácido indolbutírico (AIB) é provavelmente a principal auxina sintética de uso geral porque não é tóxica para a maioria das plantas, mesmo em altas concentrações (BRAZÃO, 2009). Segundo Botelho et al. (2005), o AIB é também bastante efetivo para um grande número de espécies, sendo relativamente estável e, por isso, pouco suscetível à ação dos sistemas enzimáticos de degradação das auxinas. Nas estacas tratadas com este composto, é possível encontrar resultados variáveis, consoante à espécie ou cultivar utilizada, o tipo de estaca, a época do ano, a concentração, entre outras (MACHADO et al., 2005).

Este ensaio tem por objetivo verificar o comportamento sobre a propagação de estacas de penicilina na formação de raízes e nas características aéreas das mudas sob diferentes doses de ácido indolbutírico.

Metodologia

O experimento foi realizado no período de fevereiro a março de 2013, sendo conduzido em casa de vegetação do Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foram utilizadas estacas herbáceas com a média de 15,5cm de altura, 4mm de diâmetro e com três gemas nodais. As estacas foram coletadas e preparadas com corte em bisel (transversal) abaixo da gema inferior e acima da gema superior, mantendo 50% da área foliar apenas nos nós superior e mediano. Em seguida ao corte, as bases das estacas foram submetidas aos tratamentos com AIB na forma de pó, nas concentrações (zero, 125, 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹). As estacas, imediatamente após o tratamento, foram colocadas em bandejas



de plástico alveoladas (32 células), contendo o substrato casca de arroz carbonizada, enterrados 3cm da base da estaca. As bandejas foram dispostas no estufim, dentro da casa de vegetação, com irrigações diárias. As características fitotécnicas avaliadas foram número total de brotações, número de folhas, número de raízes e comprimento de raízes (cm). O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos casualizados, com cinco tratamentos composto de seis repetições, sendo que cada unidade experimental era constituída por oito estacas. Os dados foram submetidos à análise de regressão.

Resultados e Discussão

O enraizamento das estacas da espécie tratadas com os diferentes níveis de ácido indolbutírico não foi influenciado pelas doses sendo que para todos os tratamentos foi observado uma taxa de 100% de enraizamento. Os resultados da análise de regressão para as diferentes doses de AIB aplicadas em estacas de *Alternanthera dentata* são apresentados nas Figuras 1 a 4.

Verificou-se que houve uma tendência linear decrescente, isto é, uma diminuição no número de brotações à medida que se aumentou a dose de aplicação do ácido indolbutírico nas estacas, correspondendo a uma variação de 4% em relação às plantas de maior e menor brotações (Figura 1).

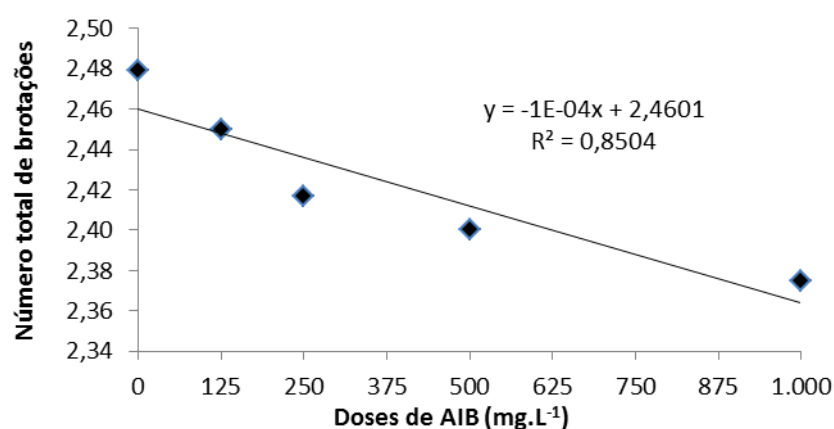


Figura 1 – Número total de brotações formadas nos diferentes nós da estaca de *Alternanthera dentata* em função de diferentes doses de AIB (mg.L⁻¹).

A mesma tendência do parâmetro anterior é observada para o número total de folhas formadas, assim como para as folhas oriundas nos brotos do nó apical, onde verificou-se que a ausência de aplicação do hormônio proporcionou o melhor resultado (Figura 2). Esses resultados refletem o comportamento em relação ao número de brotos que surgiram em maior número e como consequência produziram um maior número de folhas.

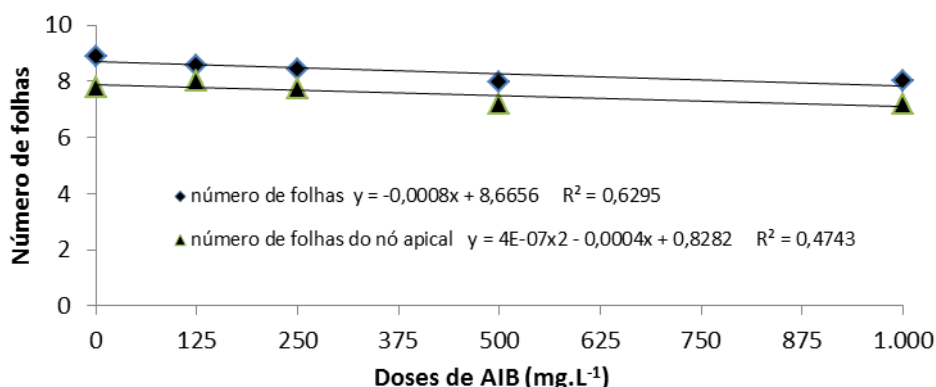


Figura 2 – Número total de folhas e número de folhas do nó apical formados nos brotos de *Alternanthera dentata* em função de diferentes doses de AIB (mg.L⁻¹).

Quanto a variável número de raízes verificou-se que a presença do regulador de crescimento influenciou na formação de raízes com a tendência linear crescente. A dose de 1000 mg.L⁻¹ contribuiu para a formação de um maior número, chegando a 65 raízes por estaca, correspondendo a um aumento de aproximadamente 10% no número de raízes (Figura 3).

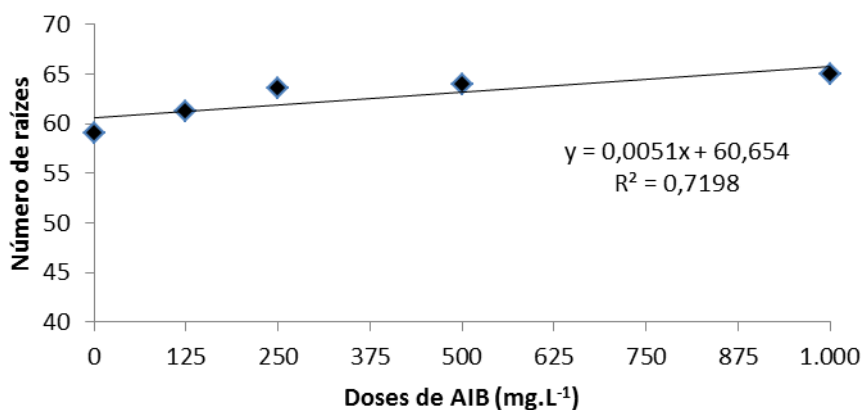


Figura 3 – Número de raízes formadas em estacas de *Alternanthera dentata* sob diferentes doses de AIB (mg.L⁻¹).

Quanto ao comprimento máximo de raiz verificou-se que houve pouca variação entre os diferentes tratamentos observando-se uma tendência linear decrescente, isto é, há uma redução deste em função do aumento da dose (Figura 4).

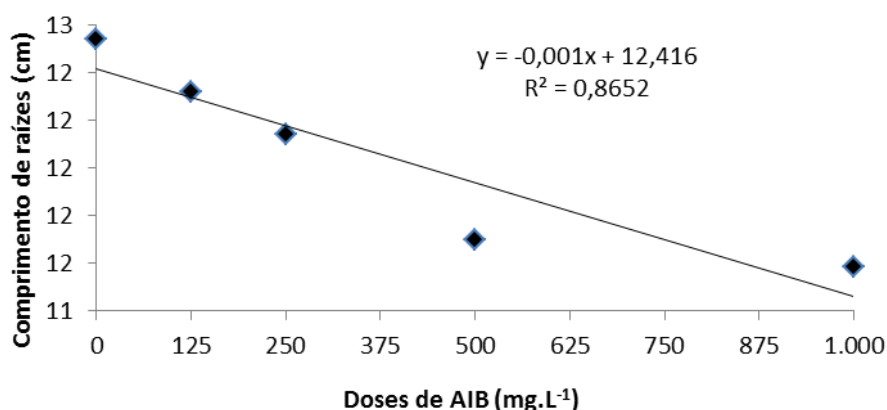


Figura 4 – Comprimento máximo de raiz (cm) em estacas de *Alternanthera dentata* em função de diferentes doses de AIB (mg.L⁻¹).

A produção de raízes mais longas pelas estacas que não receberam o regulador de crescimento pode ser explicada pela formação de um menor número de raízes nas estacas o que favoreceu um direcionamento de reservas para um maior crescimento das mesmas. O inverso é observado nas doses de 1000 mg.L⁻¹ onde se observa que o menor comprimento de raízes é resultante de um maior número de raízes formadas como também em detrimento da formação de brotos e folhas formadas.

Conclusão

A espécie pode ser propagada sem o uso de regulador de crescimento ácido indolbutírico resultando em melhores características da parte aérea das mudas formadas.

Os benefícios do regulador de crescimento, nas condições do experimento, são no aumento do número de raízes formadas nas estacas.

Referências

- BOTELHO, R.V. et al. Efeitos de reguladores vegetais na propagação vegetativa do porta-enxerto de videira "43-43" (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). Revista Brasileira de Fruticultura, 27: 6-8. 2005.
- BRAZÃO, J. S. A. Enraizamento de estacas semilenhosas de variedades de videira (*Vitis vinifera* L.) (Dissertação de Mestrado em Viticultura e Enologia). Universidade Técnica de Lisboa - Universidade do Porto. Lisboa. 2009.
- FERREIRA, E. A. et al. Estudo anatômico de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. IV – *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Amaranthus tenella* e *Euphorbia heterophylla*. Planta Daninha. v. 21, n. 2, p. 263-271. Viçosa. 2003.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



- FERRI, V. C.; KERSTEN, E.; MACHADO, A. A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas de kiwi (*Actinidia deliciosa*, A.Chev.) cultivar Hayward. Revista Brasileira de Agrociência, v.2, nº 1, 63-66, Jan.-Abr. 1996.
- HARTMANN, H.T. et al. *Plant Propagation: principles and practices*. 7th ed. Prentice-Hall, New Jersey, USA, 880 p. 2002
- IDO, O. T.; OLIVEIRA, R. A. Agricultura Geral - Apostila 6 - Propagação de plantas. UFPR. Setor de Ciências Agrárias. 2012.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. São Paulo: Plantarum. 1020p. 1999.
- MACHADO, M.P. et al. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira "VR043-43" (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). Revista Brasileira de Fruticultura. 27: 476-479. 2005.
- PEREIRA, D.F. Morfoanatomia e histoquímica comparativa entre *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze e *Alternanthera dentata* (Moench) Stuchlik; estudo fitoquímico e biológico de *Alternanthera brasiliana*. 2007. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2007.
- RIBEIRO, M. N. O.; PAIVA, P. D. O. Flores na web Dicionário de Flores – Periquito. 2012. Disponível em: <<http://www.floresnaweb.com/dicionario.php?id=234>>, Acesso em: 10 mar. 2013.
- SENS, S. L. Alternativas para a auto-sustentabilidade dos Xokleng da terra indígena Ibirama. (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Produção. Florianópolis. 2002.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. 1.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 640p. 2005.



ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *Buxus sempervirens* EM FUNÇÃO DE CONCENTRAÇÕES DE AIA

NAVROSKI, M. C.^{1*}; PEREIRA, M. O.²; VENDRUSCOLO, R. B.³; ARAKI, E. K.³; FERRETO JUNIOR, T. R.³; WALTER, R. A.³; GABRIEL, J. V.³

¹ Engenheiro Florestal, Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina. Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, Brasil. * E-mail: navroski@cav.udesc.br.

² Engenheira Florestal, Mestranda, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

³ Graduando em Engenharia Florestal, Universidade do Estado de Santa Catarina. Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, Brasil.

Resumo

Com o objetivo de gerar informações sobre a propagação vegetativa de buxinho (*Buxus sempervirens*), um arbusto muito utilizado na arborização urbana, foi conduzido ensaio para avaliar o enraizamento estacas sob diferentes concentrações de ácido indol acético (AIA). Estacas caulinares foram tratadas com 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg L⁻¹ de AIA, sendo o estudo instalado em delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições e 5 estacas por unidade experimental. Aos 150 dias após a aplicação dos tratamentos foram realizadas avaliações de porcentagem de enraizamento, número de raízes por estaca e comprimento de raízes. O enraizamento das estacas caulinares de *Buxus sempervirens* é influenciado pelas concentrações de AIA, sendo que o máximo enraizamento (90,90%) foi obtido com a imersão das bases das estacas em 2000 mg L⁻¹ de AIA. O tratamento sem uso de AIA também originou o enraizamento de estacas, mas em concentrações menores. O aumento da concentração de AIA provocou diminuição da porcentagem de enraizamento das estacas. O número e comprimento de raízes apresentou comportamento similar, ou seja, uma dose com máxima eficiência. Independente do uso de AIA houve enraizamento das estacas, mas o uso de AIA na faixa de 2000 - 3000 mg L⁻¹ proporcionou as melhores respostas.

Palavras-chave: Buxinho. Propagação vegetativa. Estaquia. Auxina.



Introdução

A propagação das plantas ornamentais vem se difundindo com o objetivo de melhorar a qualidade de vida da população, que cada vez mais investe no paisagismo dos ambientes, gerando o crescente interesse pelas técnicas particulares de produção dessas plantas (CUQUEL et al., 1992). O Buxinho é um arbusto lenhoso muito utilizado no paisagismo, seu crescimento é muito lento, mas o arbusto pode alcançar de 2 a 5 metros de altura. Possui folhas muito verdes, bem adensadas, e são relativamente fáceis de moldar, pois seus ramos não crescem rapidamente. Pode ser cultivada em vasos ou diretamente no solo, sendo comumente utilizada para a produção de bonsais. Sua madeira é muito dura e é utilizada em alguns instrumentos musicais. Em jardins é utilizado com frequência como planta para bordaduras, muros e topiarias.

A estaquia, uma das formas de clonagem vegetal, possibilita uma uniformidade das plantas, um grande número de mudas produzidas a partir de apenas uma planta matriz, além da antecipação do período de florescimento, já que se tem a redução do período juvenil (HARTMANN et al., 2002). Tratar as estacas com auxinas sintéticas pode estimular a emissão de raízes em espécies cujo enraizamento não é tão alto em condições naturais, mas tem também como objetivos aumentar a produção de mudas em menor espaço de tempo, com maior número e maior vigor das raízes, além de aumentar a uniformidade do enraizamento (BOLIANI e SAMPAIO, 1998). Estas características acabam por diminuir o tempo de permanência da estaca no leito de enraizamento (FERREIRA et al., 2001) e de formação das mudas (ALVARENGA e CARVALHO, 1983). Outro fator importante é o de que as mudas com melhor sistema radicial terão maiores chances de sobrevivência, proporcionando melhor ancoragem quando transplantadas para vaso ou campo (REIS et al., 2000).

O ácido indol acético (AIA) é a principal auxina das plantas, sendo ativa em concentrações extremamente baixas. O AIA não é apenas sintetizado nas plantas, mas também inativado durante os processos de crescimento e diferenciação. O buxinho pode ser propagado via estaquia, entretanto o enraizamento muitas vezes pode ser reduzido devido ao longo período para que ocorra a iniciação radicial. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes concentrações de AIA no enraizamento de estacas caulinares de *Buxus sempervirens*.



Metodologia

A coleta de material vegetativo foi realizada em outubro de 2012, em indivíduos adultos de *Buxus sempervirens* localizado nas dependências do Campus III da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Lages, SC.

A técnica foi realizada utilizando-se estacas caulinares semilenhosas de aproximadamente 7-8 cm de comprimento. Foram mantidos três pares de folhas na porção apical da estaca, com as folhas cortadas pela metade, a base foi cortada em bisel e o ápice cortado transversalmente acima da última gema lateral.

A desinfestação do material foi realizada por imersão total das estacas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5% durante 10 minutos, sendo posteriormente lavadas em água corrente por 5 minutos. A base das estacas foi imersa em soluções hidroalcoólicas de diferentes concentrações de ácido indol acético (AIA) por um período de 10 segundos. O tratamento controle foi veiculado com solução hidroalcoólica isento de regulador vegetal.

O experimento foi executado em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, compostos por diferentes concentrações de AIA (0; 1000; 2000; 3000 e 4000 mg L⁻¹). Foram utilizadas 5 repetições e 5 estacas por unidade experimental.

O plantio foi realizado em sacos plásticos com 500 cm³, contendo vermiculita de granulometria média e substrato comercial (1:1 v/v). O substrato comercial para plantas misto (Tecnomax®), segundo o fabricante, é composto por turfa, vermiculita expandida, casca de pinus e carvão vegetal. As características descritas na embalagem do produto são: pH=6,0 (± 0,5); condutividade elétrica=0,7 (± 0,3) mS cm⁻¹; densidade=500 kg m⁻³; capacidade de retenção de água – CRA (p/p)= 150% e umidade máxima (p/p)= 50%. As estacas foram mantidas em casa de sombra, localizada no Centro de Ciências Agroveterinárias, fazendo-se a irrigação duas vezes ao dia.

Aos 150 dias após a aplicação dos tratamentos foi feita a avaliação do experimento, sendo analisadas as seguintes variáveis: porcentagem de enraizamento (estacas com raízes de, no mínimo, 1 mm de comprimento); número de raízes por estaca (total de raízes emitidas) e comprimento das raízes formadas por estaca (comprimento das três maiores raízes formadas, em cm).

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. Quando houve homogeneidade das variâncias os dados foram submetidos à análise de variância e quando houve diferença significativa pelo teste de F, houve aplicação de regressão polinomial ao nível de 5% de probabilidade. A análise dos dados foi realizada



no pacote estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011). Os gráficos foram desenvolvidos em Microsoft Excel.

Resultados e discussões

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas. A porcentagem de enraizamento de estacas de *Buxus sempervirens* é influenciada pela concentração de AIA aplicado. O maior enraizamento foi obtido com a concentração 2000 mg L⁻¹ de AIA, obtendo-se uma concentração de máxima eficiência técnica (CMET) de 2200 mg L⁻¹ de AIA (Figura 1). Nesta concentração o enraizamento foi superior a 90%, já na ausência da auxina (0 mg L⁻¹) o enraizamento foi de 45,5%. Estes resultados mostram a importância do suprimento de auxina exógena no enraizamento de estacas da espécie. Hartmann et al. (2002) relatam que o emprego de auxinas se faz útil, para estimular e acelerar o enraizamento das estacas, uniformizando e induzindo a formação de raízes.

Acima da CMET inicia-se uma tendência de queda do enraizamento, caracterizada pelo comportamento quadrático, sendo que a porcentagem de enraizamento obtida na maior dosagem testada (4000 mg L⁻¹) foi de 72,0%. Esta tendência de queda no enraizamento com o aumento da concentração do AIA é devido provavelmente ao efeito fitotóxico do regulador vegetal.

Resultados semelhantes foram observados por Cunha et al. (2004), no enraizamento de estacas de *Sapium glandulatum*, indicando um possível início de toxidez de auxina acima de determinadas concentrações. De acordo com Alvarenga e Carvalho (1983) e Hartmann et al. (2002), quando a auxina é aplicada em estacas ocorre aumento da sua concentração, o que produz efeito estimulador na indução de raízes até um ponto máximo, a partir do qual qualquer acréscimo do nível de auxina torna-se inibitório.

O teor adequado de auxina exógena, para estímulo de enraizamento, depende da espécie e da concentração da auxina existente no tecido. É necessário que haja um balanço adequado entre auxinas, giberelinas e citocininas, ou seja, equilíbrio entre promotores e inibidores do processo de brotação e iniciação radicular (FACHINELLO et al. 2005).

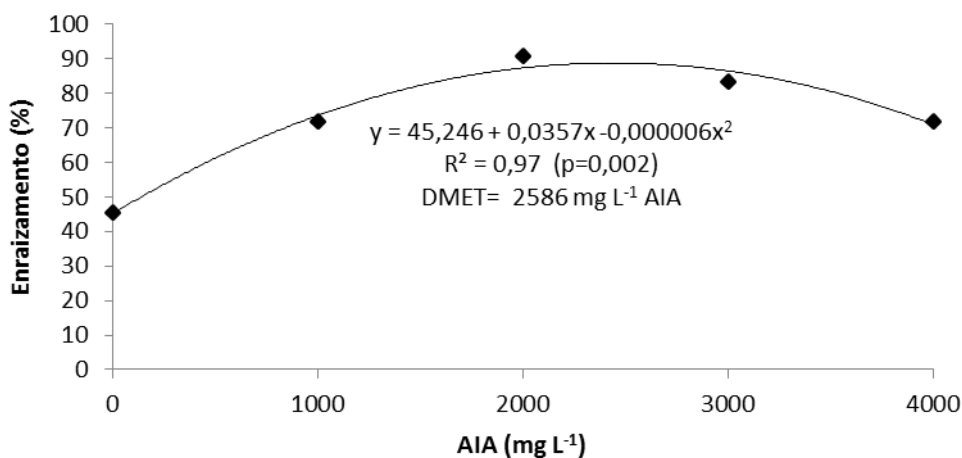


Figura 1 – Enraizamento (%) de estacas caulinares de *Buxus sempervirens* submetidas a diferentes concentrações de AIA.

A auxina também demonstra influencia no número de raízes formadas nas estacas enraizadas (Figura 2). A maior quantidade de raízes por estaca foi encontrada nas maiores concentrações de AIA (CMET=3125 mg L⁻¹). A exemplo da porcentagem de enraizamento há uma tendência de queda no número de raízes com o aumento da concentração de AIA.

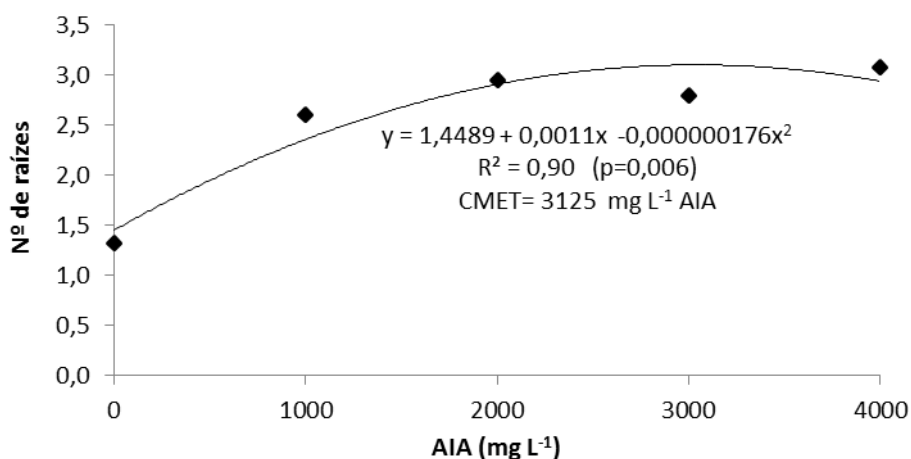


Figura 2 – Número de raízes de estacas caulinares de *Buxus sempervirens* submetidas a diferentes concentrações de AIA.

O comprimento de raízes apresentou uma tendência semelhante a outras variáveis. Obteve-se uma CMET com 3666,7mg L⁻¹ de AIA. A utilização de 4000 mg L⁻¹ de AIA provocou uma diminuição do comprimento radicular. Este resultado deve ser atribuído ao efeito de toxicidade do AIA em concentrações mais elevadas.

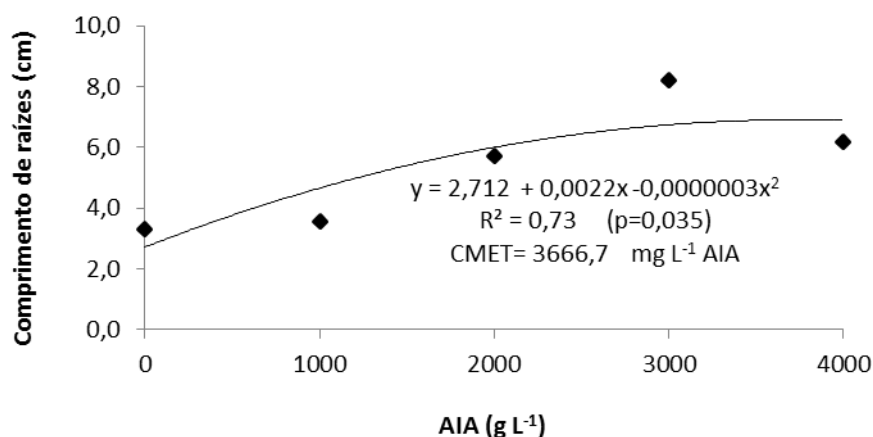


Figura 3 – Comprimento médio de raízes (cm) de estacas caulinares de *Buxus sempervirens* submetidas a diferentes concentrações de AIA.

Este foi um resultado observado em todas as variáveis avaliadas, mostrando que o suprimento de AIA é importante no enraizamento de estacas caulinares de *Buxus sempervirens*, entretanto concentrações muito alta da auxina pode prejudicar o enraizamento, e com isso a qualidade das mudas dos clones obtidos.

A presença de auxina é necessária na fase de indução do sistema radicular, conforme se aumenta a concentração da auxina, diminui o comprimento das raízes, podendo segundo alguns autores ocasionar a inibição completa do crescimento da raiz (SALISBURY e ROOS, 1991). Estes resultados também concordam com Grattapaglia e Machado (1998), que citam que altas concentrações de auxina, durante o enraizamento, podem manifestar-se na fase de alongamento das raízes, impedindo o crescimento das mesmas.

A formação de raízes em estacas é um processo anatômico e fisiológico complexo, associado à desdiferenciação e ao redirecionamento do desenvolvimento de células vegetais totipotentes para a formação de meristemas que darão origem a raízes adventícias, sendo que os fundamentos biológicos da formação de raízes adventícias são pouco conhecidos (KOMATSU et al., 2011; PAPP e PLATH, 2011).

Conclusão

Nas condições em que foi desenvolvido este experimento, as estacas de *Buxus sempervirens* apresentaram resposta ao enraizamento sob diferentes concentrações de AIA. A concentração de 2000 mg L⁻¹ de AIA proporcionou o maior enraizamento de estacas.



O maior número de raízes e com maior comprimento foi obtido na faixa de 2000-4000 mg L⁻¹ da auxina.

Referências

ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.101, p.47-55, 1983.

BOLIANI, A. C.; SAMPAIO, V. R. Efeitos do estiolamento basal e do uso do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas de nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindley). **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v.7, n.1, p.51-63, 1998.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; JÚNIOR, L. S. Influência da concentração do regulador de crescimento para enraizamento AIB na formação de mudas de *Sapium glandulatum*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 49, p. 17-29. 2004.

CUQUEL, F. L.; GRANJA, N. P.; MINAMI, K. Avaliação do enraizamento de estacas de crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* L.) cv. White reagen tratadas com ácido indol butírico (IBA). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.49, n.1, p.15-22, 1992.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. (Eds). **Propagação de plantas frutíferas**, Brasília: EMBRAPA, 2005. p. 69-108.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, B. G. A.; et al. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v.16, p.11-16, 2001.

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. p.183-260.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7 ed. New York: Englewood Clippis, 2002.

KOMATSU, Y. H. et al. *In vitro* morphogenic response of leaf sheath of *Phyllostachys bambusoides*. **Jornal of Forestry Research**, 22, 209-215. 2011.

PAPP, B. E PLATH, K. Reprogramming to pluripotency: stepwise resetting of the epigenetic landscape. **Cell Research**, v. 21, n. 3, p. 486-501. 2011.

REIS, J. M. R. et al. Efeito do estiolamento e do ácido indol butírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.24, n.4, p.931-938, 2000.

SALISBURY, F.B., ROSS, C. W. **Plant physiology**. 3. ed. California, Belmont: Wadsworth Publishing Company. 1991. 692p.



ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *Calliandra tweedii* Benth. EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AIA

PEREIRA, M. O.^{1*}; NAVROSKI, M. C.²; MENEGATTI, R. D.³; RODRIGUES, M. D. S.³; SILVEIRA, V. Z.³; ZIEGELMAIER, B. S.³; GUIDINI, A.³

¹ Engenheira Florestal, Mestranda, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil. * E-mail: maripereira.florestal@gmail.com

² Engenheiro Florestal, Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina. Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, Brasil.

³ Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, Brasil.

Resumo

Calliandra tweedii Benth, popularmente conhecida como esponjinha-vermelha, é uma espécie ornamental que merece destaque pelo seu uso no paisagismo, tanto por sua beleza quando por sua resistência a variações climáticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do regulador de crescimento ácido indol acético (AIA), no enraizamento em viveiro de estacas de *Calliandra tweedii*, utilizando cinco tratamentos de concentrações diferentes de AIA (0 (controle), 1.000, 2.000, 3.000 e 4.000 mg L⁻¹) com cinco repetições, em delineamento inteiramente casualizado. A sobrevivência das estacas aumenta com a concentração de AIA, estabilizando a partir do uso de 2000 mg L⁻¹. O enraizamento das estacas caulinares de *Calliandra tweedii* é influenciado pelas concentrações de AIA, sendo que o máximo enraizamento (40,0%) foi obtido com a imersão das bases das estacas em 1000 mg L⁻¹ de AIA. O tratamento sem uso de AIA também originou o enraizamento de estacas, mas em menor quantidade. O uso superior a 1000 mg L⁻¹ de AIA provocou diminuição da porcentagem de enraizamento das estacas. O número de raízes apresentou comportamento similar. Independente do uso de AIA houve enraizamento das estacas, mas o uso de AIA próximo a 1000 mg L⁻¹ proporcionou as melhores respostas.

Palavras-chave: Calliandra. Propagação vegetativa. Estaquia. Auxina.

Introdução

As árvores da família Fabaceae (Leguminosae) são muito utilizadas como ornamentais, sendo uma das famílias mais encontradas na arborização urbana devido à coloração de suas flores (SOUZA & LORENZI, 2005). Estas espécies se destacam pela sua beleza, uso paisagístico e pela resistência a condições climáticas adversas (PALLAZZO JÚNIOR & BOTH, 1993).

O gênero *Calliandra*, subfamília Mimosoideae, é representado por plantas conhecidas como caliandras ou esponjinhas, as quais apresentam inflorescências de



aspecto exótico com grande quantidade de estames coloridos, que lembram pompons (LIMA et AL., 2006). Seu rápido crescimento somado à densa folhagem e ao sistema radicular profundo indica que essas espécies sejam adequadas para uso no controle da erosão e na restauração e melhoria do solo de ambientes degradados, favorecendo o estabelecimento de outras espécies vegetais (CHAMBERLAIN, 2000; LORENZI & SOUZA, 2008).

Calliandra tweedii Benth, popularmente conhecida como caliandra e esponjinha-vermelha, é um arbusto lenhoso muito ramificado, ereto, com altura variando de 2-4m, cujas flores apresentam estames de coloração vermelha (LORENZI & SOUZA, 2008). O florescimento ocorre de setembro a janeiro e a produção de frutos a partir de dezembro (BURKART, 1979). É amplamente utilizada em projetos de arborização urbana como planta ornamental isolada, ou como cerca viva (LORENZI & SOUZA, 2008). Ocorre nos campos litorâneos do estado de Santa Catarina (BURKART, 1979) e no Paraná, Rio Grande do Sul e região Sudeste (PALLAZZO JÚNIOR & BOTH, 1993).

A falta de técnicas na produção de mudas para espécies nativas e a escassez de trabalhos utilizando espécies ornamentais nativas indicam a propagação vegetativa como alternativa na multiplicação dessas plantas, possibilitando a manutenção das boas características das plantas matrizes e a redução do período juvenil, o que leva à antecipação do mecanismo reprodutivo (RODRIGUES, 1990). Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia revela-se como método economicamente viável para produção de novos indivíduos em curto período de tempo (PAIVA & GOMES, 1993).

O interesse pela propagação de espécies ornamentais vem se difundindo, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida da população que cada vez mais investe no paisagismo dos ambientes, gerando o crescente interesse pelas técnicas particulares de produção dessas plantas (CUQUEL et al, 1992; ANGELIS & ANGELIS, 1999). O enraizamento adventício pode ser afetado por diversos fatores, dentre os quais estão o genótipo e fatores abióticos, como reguladores vegetais (auxinas). As auxinas pertencem a uma classe de reguladores vegetais envolvidos em muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento de plantas, sendo o ácido indol acético (AIA) o primeiro hormônio utilizado para estimular o enraizamento de estacas (SALISBURY & ROOS, 1991).

Para trabalhos de propagação vegetativa é comum o uso de auxinas sintéticas como o AIA. Entre os diferentes efeitos que as auxinas causam na planta, está o estímulo ao crescimento da raiz, a qual é muito sensível a esse hormônio, apresentando alongamento em baixas concentrações e também no enraizamento de estacas caulinares. Neste caso, o



hormônio se transloca das gemas ou das folhas para a parte basal da estaca, estimulando o enraizamento (SAMPAIO, 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do uso da técnica de estaquia na propagação vegetativa de *Calliandra tweedii* Benth. em função de diferentes concentrações de AIA.

Materiais e métodos

A coleta de material vegetativo foi realizada em outubro de 2012, em cinco indivíduos adultos de *Calliandra tweedii*, localizados nas dependências do Campus III da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) em Lages, SC.

A técnica foi realizada utilizando-se estacas caulinares semilenhosas de aproximadamente 6-7 cm de comprimento. Foi mantido um par de folhas na porção apical da estaca, com as lâminas cortadas pela metade, a base foi cortada em bisel e o ápice cortado transversalmente acima da última gema lateral.

A desinfestação do material foi realizada por imersão total das estacas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5% durante 10 minutos, sendo posteriormente lavadas em água corrente por 5 minutos. A base das estacas foi imersa em soluções hidroalcoólicas de diferentes concentrações de ácido indol acético (AIA) por um período de 10 segundos. O tratamento controle foi veiculado com solução hidroalcoólica isenta de regulador vegetal.

O experimento foi executado em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, compostos por diferentes concentrações de AIA (0; 1000; 2000; 3000 e 4000 mg L⁻¹). Foram utilizadas 5 repetições e 5 estacas por unidade experimental.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com 55 cm³, contendo vermiculita de granulometria média e substrato comercial (1:1 v/v). As estacas foram mantidas em casa de sombra, localizada no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), fazendo-se a irrigação duas vezes ao dia.

Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos foi feita a avaliação do experimento, sendo analisadas as seguintes variáveis: porcentagem de sobrevivência (estacas vivas que não apresentavam indução radicial); porcentagem de enraizamento (estacas com raízes de, no mínimo, 1 mm de comprimento); número de raízes por estaca (total de raízes emitidas) e comprimento das raízes formadas por estaca enraizada.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. Quando houve homogeneidade das variâncias os dados foram submetidos à



análise de variância e quando houve diferença significativa pelo teste de F, foi aplicada regressão polinomial ao nível de 5% de probabilidade. A análise dos dados foi realizada no pacote estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis porcentagem de sobrevivência, porcentagem de enraizamento e número de raízes, não havendo influência dos tratamentos no comprimento radicular.

Para a variável sobrevivência pode-se observar que com o aumento da dose de AIA aumenta a porcentagem de sobrevivência das estacas, principalmente na faixa de 2000 a 3000 mg L^{-1} (Figura 1). A partir deste ponto há uma tendência de estabilização da curva, tendendo a queda na sobrevivência com o aumento da concentração da auxina.

Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que o uso de altas concentrações de auxinas pode causar excessiva proliferação de células, intensa calosidade, inibição do crescimento de raízes e da parte aérea e até matar a base da estaca por oxidação (SILVA et al., 2004). Além disso, a mortalidade das estacas provavelmente pode ser atribuída a alguma deficiência nos fatores externos como a umidade durante o enraizamento e o estado da planta matriz (FACHINELLO et al. 2005).

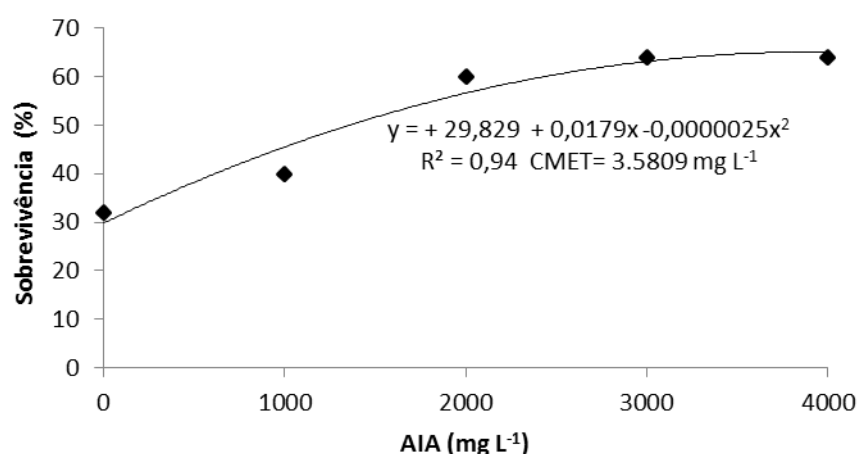


Figura 1 – Porcentagem de sobrevivência de estacas caulinares de *Calliandra tweedii* submetidas a diferentes concentrações de AIA.

A porcentagem de enraizamento de estacas de *Calliandra tweedii* foi influenciada pelas diferentes concentrações de AIA (Figura 2). O maior enraizamento foi obtido com a concentração de 1000 mg L^{-1} de AIA, observando-se a concentração de máxima eficiência



técnica (CMET) de 1500 mg L^{-1} de AIA. Neste ponto o enraizamento foi de 40%, já na ausência da auxina (0 mg L^{-1}) o enraizamento foi de 25%. Estes resultados mostram a importância do suprimento de auxina exógena no enraizamento de estacas da espécie. O emprego de auxinas se faz útil, para estimular e acelerar o enraizamento das estacas, uniformizando e induzindo a formação de raízes (HARTMANN et al., 2002).

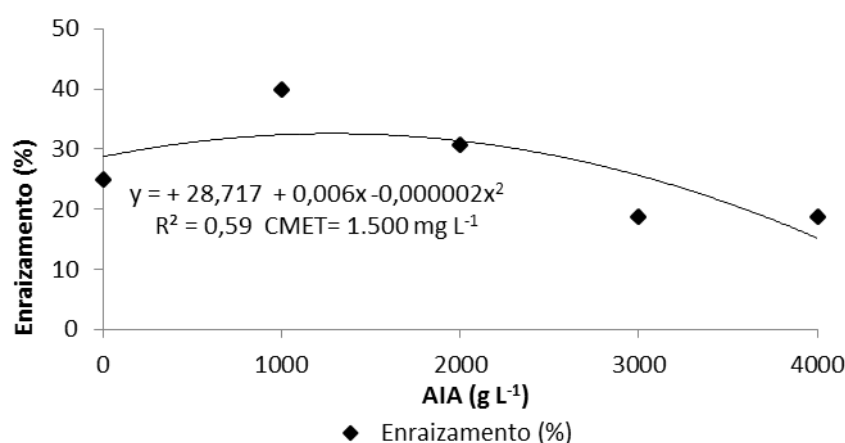


Figura 2 – Porcentagem de enraizamento de estacas caulinares de *Calliandra tweedii* submetidas a diferentes concentrações de AIA.

Acima da CMET observa-se uma tendência à queda no enraizamento, caracterizada pelo comportamento quadrático, sendo que a porcentagem de enraizamento obtida na maior dosagem testada (4000 mg L^{-1}) foi de 18,75%. Esse comportamento pode ser explicado, provavelmente, devido a um efeito fitotóxico do regulador vegetal.

Resultados semelhantes foram observados no enraizamento de estacas de *Sapium glandulatum*, indicando um possível início de toxidez de auxina acima de determinadas concentrações (CUNHA et al., 2004). Quando a auxina é aplicada em estacas ocorre um aumento da sua concentração, o que produz efeito estimulador na indução de raízes até um ponto máximo, a partir do qual qualquer acréscimo do nível de auxina torna-se inibitório (ALVARENGA & CARVALHO, 1983; HARTMANN et al., 2002).

O teor adequado de auxina exógena, para estímulo de enraizamento, depende da espécie e da concentração da auxina existente no tecido. É necessário que haja um balanço adequado entre auxinas, giberelinas e citocininas, ou seja, equilíbrio entre promotores e inibidores do processo de brotação e iniciação radicular (FACHINELLO et al. 2005).

As concentrações de auxinas a serem aplicadas são muito variáveis não apenas em função da espécie, mas também da variedade ou clone da planta matriz e do estágio de



maturacao destas, alem das condicoes ambientais, da forma de aplicacao e da tecnica de propagacao (WILSON, 1994).

A auxina tambem demonstra influencia no numero de raizes formadas nas estacas enraizadas (Figura 3). O maior numero de raizes por estaca foi encontrado em concentracoes intermediarias de AIA (CMET=2.272,7 mg L⁻¹). A exemplo da porcentagem de enraizamento ha uma tendencia de queda no comprimento de raizes com o aumento da concentracao de AIA. A presenca de auxina e necessaria na fase de inducao do sistema radicular, conforme aumenta a concentracao da auxina, diminui o numero das raizes, podendo ocasionar a inibicao completa da formacao radicial (SALISBURY & ROOS, 1991). Altas concentracoes de auxina, durante o enraizamento, podem manifestar-se na fase de alongamento das raizes, impedindo o crescimento das mesmas (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

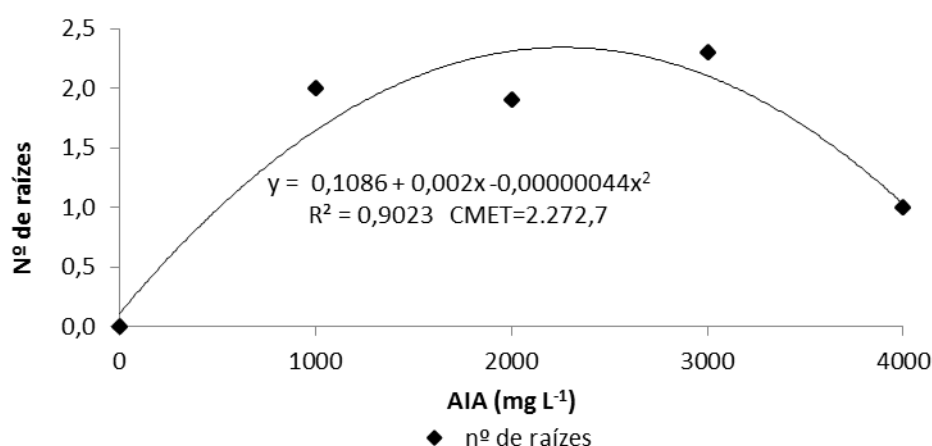


Figura 3 – Número de raízes em estacas caulinares de *Calliandra tweedii* submetidas a diferentes concentrações de AIA.

Conclusão

Considerando-se as condições em que o trabalho foi realizado, pode-se concluir que para o enraizamento de estacas caulinares de *Calliandra tweedii* o uso de 1000 mg L⁻¹ de AIA correspondeu ao melhor resultado para as variáveis analisadas.



Referências

- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas de frutíferas. **Informe Agropecuário**, v.9, n.101, p.47-55, 1983.
- ANGELIS NETO, G.; ANGELIS, B. L. D. Plantas ornamentais: do paisagismo a outras aplicações. Revista **Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 5, n. 1, p. 12-19, 1999.
- BURKART, A. Flora ilustrada catarinense. Florianópolis, IOESC S.A., p. 92-103, 1979.
- CHAMBERLAIN, J. R. Improving Seed Production in *Calliandra calothyrsus*: A Field Manual for Researchers and Extension Workers. Oxford: **Oxford Forestry Institute**, 2000. 37p. (Miscellaneous Paper).
- CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; JÚNIOR, L. S. Influência da concentração do regulador de crescimento para enraizamento AIB na formação de mudas de *Sapium glandulatum*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, 49, 17-29, 2004.
- CUQUEL, F. L.; GRANJA, N. P.; MINAMI, K. Avaliação do enraizamento de estacas de crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* L.) cv. White reagen 606 tratadas com ácido indol butírico (IBA). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.49, n. 1, p. 15-22, 1992.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIFAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- 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, p.183-260, 1998.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7 ed., New Jersey, Prentice Hall, 880p. 2002.
- LIMA, D. M.; ALCANTARA, G. B.; BORTOLINI, M. F.; FANTI, F. P.; BIASI, L. A.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra seloi* E *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4ª Edição, Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 2008.
- PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Minas Gerais, Imprensa universitária, 1993, 40p.
- PALLAZZO JÚNIOR, J. T.; BOTH, M. C. **Flora ornamental brasileira: um guia para o paisagismo ecológico**. Porto Alegre, Sagra-DC Luzzato, p. 52-58, 1993.
- RODRIGUES, V. A. **Propagação vegetativa de Aroeira *Schinus terebinthifolius* Raddi, Canela *Sassafras Ocotea pretiosa* Benth & Hook e Cedro *Cedrela fissilis* Vellozo através de estacas radiciais e caulinares**. UFPR, Curitiba, 1990, 90p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)



SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. Wadsworth, California, 2. ed., Wadsworth Publ., 682 p., 1991.

SAMPAIO, E. S. **Fisiologia vegetal**: teoria e experimentos. Ponta Grossa, Editora UEPG, 190 p, 1998.

SILVA, J. M.; RAPOSO, A.; SOUSA, J. A; MIRANDA, E. M. Indução de enraizamento em estacas de joão-brandinho (*Piper* sp.) com ácido indolbutírico. **Revista Ciência Agronômica**, 35:248-252, 2004.

SOUZA, V. C.; LORENZI, **Botânica sistemática: um guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado na APG II**. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 640 p., 2005.

WILSON, P. J. Contributions of the leaves and axillary shoots to rooting in *Eucalyptus grandis*. Hil a Maid. Stem cuttings. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 49, n.6, p. 999 – 1007, 1994.



ENRAIZAMENTO DE ESTACAS HERBÁCEAS DO PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA PAULSEN 1103 EM DIFERENTES SUBSTRATOS

AGUIAR, B. R. P.¹; FRONZA, D.²; HAMANN, J.J.³; POLETTO, T.⁴; WEBLER, A. R.⁵; FACCO, J.B.⁶.

¹ Aluno de Graduação em Agronomia/UFSM. E-mail: brpaguiar@gmail.com

² Engº. Agrº. Drº em Irrigação e Drenagem, professor Adjunto do Colégio Politécnico da UFSM. E-mail: dinizfronza@yahoo.com.br

³ Aluno de Graduação em Agronomia/UFSM. E-mail: jonas.ufsm@gmail.com. Bolsista FIPE – Colégio Politécnico da UFSM

⁴ Aluno de Graduação em Engenharia Florestal/UFSM. E-mail: tectales@hotmail.com

⁵ Engenheiro Agrônomo, mestrando, Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola. E-mail: anderson@agronomo.eng.br

⁶ Aluna do técnico em Agropecuária/ Colégio Politécnico - UFSM.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a propagação vegetativa de material herbáceo do porta-enxerto Paulsen 1103. Estacas herbáceas foram retiradas da planta matriz no período vegetativo e cultivadas em bandejas plásticas contendo três substratos: casca de arroz carbonizada, vermiculita ou turfa. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito repetições e cinco estacas por repetição. Após 60 dias avaliou-se a porcentagem de estacas enraizadas, o diâmetro médio das estacas e o comprimento médio das raízes. Houve maior porcentagem de enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto Paulsen 1103 cultivadas em Casca de Arroz Carbonizada, no qual obteve-se 97,5% de enraizamento.

Palavras chave: Paulsen 1103. Estaquia. Enraizamento. Substratos.

Introdução

A propagação de porta-enxertos de videiras e de outras plantas por estaquia baseia-se no princípio de que é possível regenerar uma planta a partir de segmentos obtidos da planta matriz. Para este processo, as estacas utilizadas podem ser herbáceas, quando não possuem tecidos lignificados; lenhosas, com tecidos lignificados; e semi-lenhosas ou semi-herbáceas, quando coletadas no início da lignificação (HARTMANN e KESTER, 1990; FACHINELLO et al., 1995).



Para a produção de mudas por estaquia, o adequado enraizamento adventício é imprescindível, sendo a composição do substrato um dos fatores que afetam esse processo (GABRIELS et al., 1986). O substrato influi tanto a qualidade das raízes formadas quanto o percentual de enraizamento das estacas (JANICK, 1966; COUVILLON, 1988), sendo a escolha do substrato dependente de suas características físicas e químicas e das exigências da espécie utilizada (VERDONCK et al., 1981). O substrato deve possibilitar a sustentação da estaca durante o período de enraizamento; permitir boa oxigenação na base da estaca e adequado teor de umidade, para facilitar o enraizamento e evitar o desenvolvimento de doenças, além de apresentar baixa densidade de partículas (COUVILLON, 1988; MARCO et al., 1998; ANDRADE NETO et al., 1999).

Na produção comercial de uvas, sobretudo no Rio Grande do Sul, a ocorrência de doenças fúngicas do sistema radicular em videiras é expressiva, sendo possível destacar a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum*, por ser a principal moléstia vascular causadora de morte de plantas. (SÔNEGO, GARRIDO e GRIGOLETTI JÚNIOR, 2005). Os porta-enxertos pertencentes ao grupo *Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris* são os mais resistentes à fusariose (SÔNEGO, 1998). O porta-enxerto Paulsen 1103, pertencente ao grupo *Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*, também conhecido como porta-enxerto “Siciliano” é o mais propagado no Sul do Brasil (RIAZ, 2007). Apresenta boa compatibilidade geral e soldadura. Adapta-se aos solos de textura arenosa a argilosa, pois tolera seca e umidade, e apresenta resistência à *Filoxera daktulosphaira vitifoliae*, a *Xiphinema spp.* e ao *Meloidogyne spp.*, além de moderada resistência à fusariose (GIOVANINNI e MANFROI, 2009).

O objetivo deste trabalho foi estudar o enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira Paulsen 1103 cultivadas em diferentes substratos.

Metodologia

O ensaio experimental foi conduzido em casa de vegetação climatizada, localizada no Setor de Fruticultura do Colégio Politécnico da Universidade Federal de Santa Maria - RS, durante o período vegetativo da cultura, no mês de fevereiro a março de 2013. As estacas do porta-enxerto Paulsen 1103 (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) foram retiradas de uma planta matriz cultivada em sistema latada, as quais foram obtidas da porção mediana de ramos tenros e verdes. O preparo das estacas consistiu em um corte horizontal logo abaixo de um nó com a eliminação das folhas da parte basal, deixando-se apenas uma folha no nó superior, posteriormente sua área foliar foi reduzida em 50%. Outro corte foi feito no nó acima do basal, 3 cm após a gema superior. O comprimento das estacas foi de 10cm a 15 cm e diâmetro de, aproximadamente, 6mm..

O cultivo foi realizado imediatamente após o preparo das estacas, em bandejas plásticas perfuradas (44 cm x 33 cm x 5 cm) contendo três substratos: casca de arroz carbonizada, vermiculita ou turfa agrícola. Em seguida as bandejas foram dispostas em bancadas dentro de uma estufa climatizada, por 60 dias, com irrigação intermitente por nebulização.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com oito repetições de cinco estacas por tratamento. Aos 60 dias de plantio das estacas foram avaliadas a porcentagem



de estacas enraizadas, o diâmetro das estacas (mm), o número de raízes por estaca e o comprimento das raízes (cm).

Após a obtenção dos dados, realizou-se análise de variância e, em seguida, foi aplicada análise de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. O software estatístico utilizado foi o ASSISTAR versão 2011.

Tratamento	Enraizamento	Enraizamento (%)	Diâmetro das estacas (mm)	Número de raízes por estacas	Comprimento das raízes (cm)
Casca de arroz carbonizada	4,87 a*	97,5%	6,21 a	8,25 a	7,02 a
Vermiculita	3,62 b	72,5%	6,36 a	11,37 a	6,31 a
Turfa	2,37 c	47,5%	6,26 a	10,0 a	6,87 a
CV (%)	17,55%		3,76%	87,30%	24,40%

Resultados e discussões

Houve diferença significativa pelo teste de Tukey para a variável porcentagem de enraizamento (Tabela 1), sendo observado que o uso da Casca de Arroz Carbonizada foi o melhor tratamento, possibilitando a obtenção de 97,5% de enraizamento. O diâmetro das estacas, o número de raízes e o comprimento das raízes não foram influenciados pelos substratos.

Tabela 1 - Número de estacas herbáceas enraizadas, porcentagem de enraizamento, diâmetro médio das estacas, nº de raízes por estaca e comprimento médio das raízes em estacas de Paulsen 1103 (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) propagadas em três diferentes substratos. Santa Maria, RS, 2013.

*Valores seguidos de letra diferente na vertical diferem-se pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

As estacas herbáceas do porta-enxerto Paulsen 1103 apresentam maior porcentagem de enraizamento quando submetidas ao tratamento Casca de Arroz Carbonizada, provavelmente, em razão da melhor aeração que esse substrato fornece. Além disso, este substrato apresenta outras características desejáveis ao enraizamento de estacas, tais como baixa densidade e baixo custo de obtenção. (PIRES e BIASI, 2003).

A turfa possui alta capacidade de retenção de água (KAMPF, 1992), sendo o mesmo observado para a vermiculita (FERMINO 2003; KAMPF 2000; SCHMITZ et al., 2002), que possui o dobro da capacidade máxima de retenção de água do substrato casca de arroz carbonizada.



(GONÇALVES E BENEDETTI, 2000). Substratos com estas características são comumente utilizados por viveiristas para produção de mudas de diversas espécies frutíferas, arbóreas e de flores.

A casca de arroz carbonizada é recomendada como substrato para enraizamento de estacas herbáceas dos porta-enxertos de videira Campinas (IAC 766) e Jales (IAC 572) (ROBERTO et al., 2004). Segundo Roberto e Paiolo (2002), resultados semelhantes foram encontrados com enraizamento de estacas semilenhosas de acerola 'Dominga' (*Malpighia emarginata* D.C.)

O uso da Casca de Arroz como substrato comercial ocasiona ganhos positivos no processo produtivo, uma vez que possui baixa densidade, que influencia nos custos de transporte, manipulação e infraestrutura necessária para sua utilização (FERNANDES, et al., 2006). Além disso, o uso de casca de arroz carbonizada correto destino do resíduo da indústria arrozeira, que produz anualmente mais de 2,6 milhões de toneladas deste subproduto (IRGA, 2005).

Conclusão

O melhor enraizamento de estacas herbáceas do porta enxerto Paulsen 1103 foi obtido com a utilização do substrato casca de arroz carbonizada, sendo uma alternativa de substrato com baixo custo e boas propriedades físicas para a produção de mudas dessa espécie.

Referências

- ANDRADE NETO, A.; MENDES, A.N.G.; GUIMARÃES, P.T.G. Avaliação de substratos alternativos e tipos de adubação para a produção de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em tubetes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, p.270-80, 1999.
- COUVILLON, G.A. Rooting response to different treatments. **Acta Horticulturae**, v.277, p.187-96, 1988.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: **UFPEl**, 1995. 178p.
- 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.
- FERNANDES, C.; CORÁ, J. E.; BRAZ, L. T. Desempenho de substratos no cultivo do tomateiro do grupo cereja. **Horticultura Brasileira**, Botucatu, v. 24, n. 1, p. 42-46, 2006.



GABRIELS, R.; VERDONCK, O.; MEKERS, O. Substrate requirements for pot plants in recirculating water culture. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 178, p. 93–99, 1986.

GIOVANINNI, E; MANFROI, V. **Viticultura e Enologia: Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. Bento Gonçalves: IFRS/RS, 2009, 14p.

GONÇALVES, J. L. M.; STAPE, J. L.; BENEDETTI, V.; FESSEL, V. A. G.; GAVA, J. L. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2000. p. 309-350.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagacion de plantas: principios y practicas**. México: Compañia Editorial Continental, 1990. 760p.

IRGA. Instituto Riograndense do Arroz. 2005. Dados de safra. Série histórica da área plantada, produção e rendimento. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br/dados.htm>>. Acesso em: 01 mai. 2013.

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.

KÄMPF, A.N. **Substrato para floricultura** In: **Simpósio Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais**, Maringá, 1992, Manual de floricultura. Maringá, SBFPO, 1992.p.36-43.

MARCO, C.A.; KERSTE, E.; SILVA, J.G.C. Influência do ethephon e do ácido indolbutírico no enraizamento de estaca de ramos de goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Ciência Rural**, v.28, p.221-4, 1998.

PIRES, E.J.P.; BIASI, L.A. **Propagação da videira**. In: **POMMER, C.V. Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p.295-350.

RIAZ, S. **Genoma mapping and molecular breeding in plants: fruits and nuts**. California: Springer Berlin Heidelberg, 2007. V. 4, p. 63-100.

ROBERTO, S.R.; PAIOLO, P.A.C. Avaliação de técnicas para a multiplicação de estacas semilenhosas de aceroleira Dominga (*Malpighia emarginata* D.C.). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina-PR, v.23, n.2, p.165-172, 2002.

ROBERTO, S.R. et al. Produção de mudas de videira 'Italia' através da enxertia verde em porta-enxertos propagados por estaquia herbácea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 127-130, 2004



SCHMITZ, J.A.K. et al. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.6, p.937-944, 2002.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JÚNIOR. **Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2005. 32p. (Circular Técnica, 56).

VERDONCK, O.; VLEESCHAUWER, D. de; BOODT, M. de. **The influence of the substrate to plant growth**. Acta Horticulturae, Wageningen, n. 126, p. 251– 258, 1981.



ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE IPÊ-ROXO

PIMENTEL, N.¹; KIELSE, P.²; LENCINA, K.H.³; BISOGNIN, D.A.⁴; LUZ, L.V.⁵; FISCHER, H.⁶

¹Graduanda, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: talhapimentel@yahoo.com.br

²Engenheira Florestal, Pós-Doutoranda, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: paulakielse@yahoo.com.br

³Engenheiro Florestal, Mestre, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: khaygert@hotmail.com

⁴Professor, PhD, Departamento de Fitotecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: dilsonb@smail.ufsm.br

⁵Engenheiro Florestal, Mestrando, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: leandrodaluz_5@hotmail.com. * autor correspondente.

⁶Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: hardif@gmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a propagação vegetativa de genótipos de ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus* Vell. Mattos). Miniestacas de ipê-roxo, com 3 cm de comprimento e uma gema, provenientes de brotos coletados de 22 minicepas (genótipos) foram cultivadas em bandejas de polietileno contendo a mistura de substrato comercial e vermiculita (1:1 v/v). Não foi realizado tratamento das miniestacas com auxina. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco miniestacas por genótipo, totalizando 110 miniestacas. A porcentagem de enraizamento, o número de brotos e raízes e a soma do comprimento das raízes (cm) foram avaliados aos 40 dias. Entre as 22 genótipos (minicepas) de ipê-roxo avaliados, 19 apresentaram competência para o enraizamento, sendo observada média de 70,5% de enraizamento. Três genótipos forneceram miniestacas que não enraizaram, portanto, serão eliminados do minijardim clonal para inserção de novas plantas e realização de nova seleção.

Palavras-chave: *Handroanthus heptaphyllus*. Minijardim clonal. Produção de mudas.



Introdução

O desenvolvimento da miniestaquia teve início na década de 90, para o gênero *Eucalyptus* e, desde então, tem sido possível a viabilidade técnica e econômica da produção massal de mudas dessa espécie. Por outro lado, o uso da miniestaquia para a produção comercial de mudas de espécies arbóreas nativas ainda é um desafio, especialmente pela carência de estudos que abordem o enraizamento adventício dessas espécies. Em nível experimental, a miniestaquia tem se revelado uma técnica promissora para a produção de mudas de algumas espécies nativas, entre as quais se destacam a corticeira-do-banhado (*Erythrina falcata* Benth.), erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.), cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.), mogno (*Swietenia macrophylla* King.), jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis* Raddi Kuntze) e angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* Benth. Brenan) (CUNHA et al., 2008; WENDLING et al., 2007; XAVIER et al., 2003; XAVIER e SANTOS, 2002). Para o ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus* Vell. Mattos), espécie arbórea nativa pertencente à família Bignoniaceae, não há referências que aborde o uso dessa técnica para a produção de mudas, o que torna relevante a realização de estudos nesse sentido.

A metodologia consiste no uso de mudas propagadas por sementes ou pela estquia convencional, que após poda drástica constituirá as minicepas fornecedoras dos propágulos vegetativos (brotações). Para isso, a planta é submetida à poda do ápice da parte aérea, formando-se a minicepa que, em intervalo de tempo variável em função da época do ano, do clone/espécie e das condições nutricionais, emite as brotações que serão utilizadas para a confecção das miniestacas, as quais serão colocadas para enraizar e formar as novas plantas (WENDLING, 1999). No entanto, a formação de raízes adventícias é um processo complexo anatômica e fisiologicamente, associada à diferenciação e ao redirecionamento do desenvolvimento de células vegetais competentes para a formação de meristemas que originarão os primórdios radiculares (ALFENAS, et al., 2009). Tal processo pode ser influenciado pela interação de diversos fatores, entre os quais se destacam o grau de juvenilidade dos propágulos, o uso de fitohormônios e a composição do substrato.

A competência para a formação de raízes adventícias, por ser uma característica genética, pode variar entre espécies e indivíduos de uma mesma espécie, que podem ser classificados em plantas de fácil, moderado e difícil enraizamento. Conforme Hartmann et al. (2010), nas plantas de fácil enraizamento, os tecidos apresentam todas as substâncias endógenas essenciais à iniciação radicular, inclusive auxinas, sendo verificada rápida formação de raízes adventícias nas estacas. Nas plantas de moderado enraizamento, os cofatores estão presentes em quantidades satisfatórias, mas a auxina é fator limitante,



requerendo a aplicação exógena para aumentar a formação de raízes nas estacas. Nas plantas de difícil enraizamento, as substâncias indutoras da rizogênese estão ausentes ou as células são pouco responsivas a esses compostos, podendo ou não a auxina endógena estar presente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de enraizamento de miniestacas provenientes de diferentes genótipos de ipê-roxo.

Material e métodos

Este trabalho foi conduzido em casa de vegetação do Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. O minijardim clonal de ipê-roxo foi estabelecido em bandejas de polietileno (55 x 34 x 15 cm) contendo areia grossa (Figura 1) e fertirrigação por inundação, conforme metodologia descrita por Bisognin (2007). A solução nutritiva foi fornecida uma vez por dia, durante 15 min., sendo constituída pelas seguintes quantidades de macronutrientes (em mmol L⁻¹): 6,13 de nitrato de potássio; 10,0 de nitrato de cálcio (Calcinit); 16,78 de sulfato de magnésio; 1,44 de nitrato de amônio; 1,39 de monofosfato de potássio e 1,68 de ferro quelatizado 5%. Os micronutrientes foram adicionados à solução nutritiva (7,5 mL) em mistura previamente preparada contendo em mmol L⁻¹: 0,15 de molibdato de sódio; 0,89 de ácido bórico; 1,25 de sulfato de cobre; 1,23 de sulfato manganês e 0,28 de sulfato de zinco. O pH da solução nutritiva foi mantido entre 5,0 e 5,5 e a condutividade elétrica em 1 dS m⁻¹.

Para formar o minijardim clonal, 24 mudas de ipê-roxo produzidas por sementes foram transplantadas para o sistema e, após 10 dias do estabelecimento, podadas a uma altura de 6,0 cm de sua base, obtendo-se as minicepas (genótipos) que forneceram as brotações (Figura 2A). Durante a condução do experimento, o uso de fungicidas no minijardim clonal foi dispensado, por não ter sido verificada a ocorrência de patógenos.

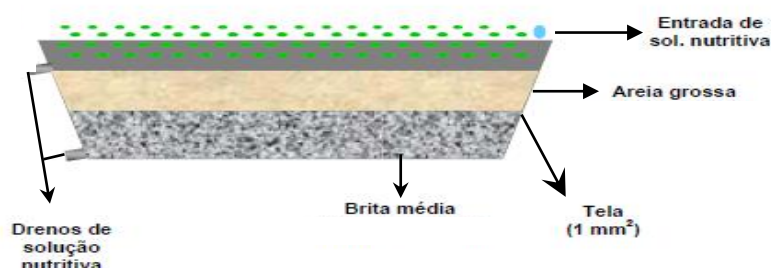


Figura 1 – Desenho esquemático do sistema fechado de cultivo em bandeja de polietileno (55 x 34 x 15 cm) com substrato areia grossa e fertirrigação por inundação. Fonte: BISOGNIN (2007).

Para o enraizamento, miniestacas de gema única com 3 cm de comprimento foram cultivadas em bandejas de polietileno contendo a mistura de substrato comercial e vermiculita (1:1 v/v). Não foi realizado tratamento das miniestacas com auxina.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco miniestacas por genótipo, totalizando 110 miniestacas. A porcentagem de enraizamento, o número de raízes e a soma do comprimento das raízes (cm) foram avaliados aos 40 dias.

Resultados e discussões

Durante a condução do experimento, as minicepas (genótipos) de ipê-roxo apresentaram 100% de sobrevivência, indicando que o manejo e a condução do minijardim clonal foram adequados. A porcentagem de enraizamento, o número de raízes e o comprimento das raízes foram influenciados pelos genótipos. Entre as 22 minicepas avaliadas, 19 forneceram miniestacas que enraizaram, com média de 70,5%, diferindo significativamente apenas das minicepas que não apresentaram competência ao enraizamento (Tabela 1), o que pode ser atribuído às diferenciadas características genéticas das minicepas. O número de raízes por miniestaca foi de 2,42 raízes e somatório do comprimento médio de 14,02 cm, independente dos genótipos.

Além do elevado índice de enraizamento das miniestacas de ipê-roxo, neste estudo foi observado que as miniestacas apresentaram a formação de raízes bem formadas e com aspecto vigoroso (Figura 2B), sem a necessidade de tratamento com auxinas. Nesse caso, a competência dos genótipos de ipê-roxo ao enraizamento associado aos adequados níveis de auxinas endógenas podem explicar o satisfatório enraizamento das miniestacas e o sucesso do processo de produção de mudas por miniestaquia.



Figura 2 – Minijardim de ipê-roxo formado por minicepas de origem seminal (A). Brotos e raízes formados em miniestaca de ipê-roxo não tratadas com auxina (B). Barra = 1 cm.

Embora trabalhando com outra espécie, Costa e Costa (2003) relatam que, no enraizamento de alguns genótipos de goiabeira, não houve diferença significativa entre miniestacas tratadas ou não com AIB, sugerindo que não há necessidade do uso dessa auxina para o enraizamento de miniestacas de goiabeira, o que também foi verificado neste estudo. Xavier et al. (2009) relatam que os ganhos advindos da aplicação dos fitohormônios tem sido mais freqüentes em materiais com maior dificuldade de enraizamento, seja por questões genéticas ou em função do estágio de maturação dos propágulos.

Tabela 1 – Porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento total de raízes (cm) formadas em miniestacas obtidas de diferentes genótipos de ipê-roxo.

Genótipos	Enraizamento (%)	Número de raízes	Σ Comprimento das raízes (cm)
MPVP-NP3	100 a	4,0 a	26,88 ab
MPVP-NP 4	100 a	3,8 a	26,76 ab
MPVP-NP 5	100 a	3,6 a	28,12 a
MPVP-NP 8	100 a	3,4 a	21,66 abc
MPVP-NP 16	100 a	3,6 a	23,82 abc
MPVP-NP 18	100 a	3,8 a	15,60 abcd



MPVP-NP 22	100 a	3,6 a	12,74 abcd
MPVP-NP 1	80 ab	1,6 ab	14,40 abcd
MPVP-NP 2	80 ab	2,0 ab	09,54 abcd
MPVP-NP 6	80 ab	3,6 a	25,76 abc
MPVP-NP 9	80 ab	1,2 ab	10,80 abcd
MPVP-NP 13	80 ab	2,6 ab	13,32 abcd
MPVP-NP 15	80 ab	2,0 ab	12,78 abcd
MPVP-NP 19	80 ab	2,2 ab	9,60 abcd
MPVP-NP 11	60 ab	1,0 ab	3,38 bcd
MPVP-NP 12	60 ab	1,8 ab	3,40 bcd
MPVP-NP 21	60 ab	1,0 ab	3,26 bcd
MPVP-NP 10	40 ab	0,6 ab	1,90 cd
MPVP-NP 14	40 ab	0,6 ab	2,84 bcd
MPVP-NP 7	0 b	0,0 b	0,00 d
MPVP-NP 17	0 b	0,0 b	0,00 d
MPVP-NP 20	0 b	0,0 b	0,00 d
Média	69,1	2,1	12,1
CV (%)	17,5	31,5	52,2

Estudos realizados no Núcleo de Melhoramento e Propagacao de Plantas (MPVP), com louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud.) e canjerana (*Cabralea canjerana* Vell. Martius) apontam que o uso de auxina é determinante ao enraizamento das miniestacas. Kielse et al. (2013), obteve 36% de enraizamento de miniestacas de louro-pardo tratadas com 2000 mg L⁻¹ de AIB, aos 60 dias de avaliacao. Gimenes et al. (2012), com a espécie Canjerana, observaram 52,5% de enraizamento em miniestacas tratadas com 2000 mg L⁻¹ de AIB, aos 30 dias de avaliacao. Dessa forma, o ipê-roxo tem se destacado nos estudos realizados no MPVP, pela possibilidade do processo de miniestaquia ser realizado sem o uso de AIB, reduzindo possíveis danos ambientais e os custos envolvidos durante o processo de producao de mudas.

Conclusão

As minicepas de ipê-roxo provenientes de genótipos de origem seminal forneceram miniestacas com diferenciadas respostas de enraizamento. Entre os 22 genótipos avaliados, 16 apresentaram competencia para o enraizamento. A propagacao vegetativa do ipê-roxo é tecnicamente viável e o uso de auxina é dispensável para o enraizamento das miniestacas.

Referências

ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2009. 500 p.



BISOGNIN, D. A. Produção de plantas matrizes de morangueiro. In: SEMINÁRIO SOBRE O CULTIVO HIDROPÔNICO DE MORANGUEIRO, 2007. Santa Maria. **Anais...** UFSM: Santa Maria, p. 9-17, 2007.

COSTA, A.F.S.; COSTA, A.N. **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: Incaper, 2003. 341p.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Miniestaquia em sistema de hidroponia e em tubetes de corticeira-do-mato. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 85-92, jan./mar. 2008.

GIMENES, E.S. et al. Efeito do substrato e do ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Martius. In: SIMPÓSIO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 16. 2012, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Centro Universitário Franciscano, 2012.

HARTMANN, H.T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 2010. 915 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e evolução no Brasil**. Piracicaba: IPEF, 2000. 11p. (Circular Técnica, 192)

KIELSE, P. Propagação vegetativa de louro-pardo (*Cordia trichotoma* Vell.) por estaquia radicular e miniestaquia. 2012. 117 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. 1999, 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

WENDLING, I.; DUTRA, L.F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 289-292, fev. 2007.

XAVIER, A. et al. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 139-143, abr. 2003.

XAVIER, A.; SANTOS, G.A. Clonagem em espécies florestais. In: ROCHA, M.G.B. (Org.). **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. 1. ed. Belo Horizonte: DDPS/IEF, 2002, v. 1, p. 125-162.

XAVIER A., WENDLING I., SILVA R.L. 2009. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG: UFV. 276 p.



ENRAIZAMENTO *EX VITRO* E ACLIMATIZACAO DE GRÁPIA (*Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F.Macbr.)

LENCINA, K. H.^{1*}; KIELSE, P.²; MELLO, U.S.³; PIMENTEL, N.⁴; BISOGNIN, D. A.⁵

¹ Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: khaygert@hotmail.com.

² Pós-doutoranda, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Professor, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento *ex vitro* de explantes de grápi e a aclimatizacão de plantas micropropagadas (*Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr.). Para o enraizamento *ex vitro*, brotos de grápi provenientes de segmentos nodais obtidos de plântulas assépticas tiveram suas bases imersas em soluçao com 0 e 4,4 µM L de ácido indolbutírico (AIB), por 10 s. Os brotos foram cultivados em copos de plástico contendo as seguintes composições de substrato (1:1 v/v): 1) areia grossa, substrato comercial e vermiculita, 2) areia grossa e substrato comercial e 3) substrato comercial e vermiculita. O experimento foi um fatorial 2 x 3 (concentrações de AIB e tipos de substrato) em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições de cinco brotos. Aos sete dias em sala de crescimento, avaliou-se a sobrevivência dos brotos e, aos 7, 15, 30, e 45 dias em câmara úmida, a porcentagem de sobrevivência das plantas, porcentagem de calo, porcentagem de enraizamento, o número e comprimento total das raízes (cm). Não houve influência significativa das concentrações de AIB e dos tipos de substrato na sobrevivência dos brotos. Brotos originados de segmentos nodais cultivados em substrato comercial, areia grossa e vermiculita e com aplicacão de 4400 µM, apresentam potencial para o enraizamento e aclimatizacão *ex vitro*.

Palavras-chave: Segmento nodal. AIB. Substratos. Enraizamento. Sobrevivência.



Introdução

A grápia (*Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr.) é uma espécie nativa do Rio Grande do Sul, considerada nobre pelas características da madeira e prioritária nas ações relativas à conservação *in situ* e *in vitro*, em virtude de sua relevante importância ecológica e econômica e por se tratar de uma espécie vulnerável a extinção (SEMA, 2006). No entanto, a produção de muda de grápia é dificultada, especialmente, pelo fato das sementes apresentarem tegumento resistente, exigindo tratamentos específicos de quebra de dormência para uniformizar o processo de germinação (CARVALHO, 2006).

Nas últimas décadas, o emprego da cultura de tecidos tem possibilitado a multiplicação de diversas espécies arbóreas (GUERRA et al., 1999). Entre as técnicas utilizadas destacam-se a micropropagação, a microenxertia, a conservação de germoplasma e a cultura de embriões, sendo a escolha determinada pela disponibilidade de material vegetativo, pelos recursos financeiros designados à pesquisa, entre outros (GUERRA; NODARI, 2006). A micropropagação destaca-se na área florestal pela ampla possibilidade de aplicação para a conservação de germoplasma *in vitro*, como ferramenta auxiliar em programas de melhoramento e multiplicação de clones superiores, para a limpeza clonal por meio da obtenção de culturas livres de microorganismos patogênicos e, ainda, por servir de base para outras técnicas biotecnológicas (PENCHEL et al., 2007, XAVIER et al., 2009).

A produção de mudas por micropropagação tem sido limitada pelos elevados custos envolvidos durante o processo produtivo (SCHUCH e ERIG, 2005). A fase de enraizamento *in vitro* corresponde a, aproximadamente, 35-75% do custo total da micropropagação (DEBERGH e MAENE, 1981), podendo o enraizamento *ex vitro* ser opção para a redução dos custos e do tempo de permanência do material vegetativo em laboratório (ZIMMERMAN, 1988). Além disso, a etapa da aclimatização das plântulas é uma fase crítica e limitante no processo da micropropagação, pelo fato das plantas sofrerem estresse em virtude da mudança de ambiente (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Nesse caso, a realização do enraizamento *ex vitro* concomitante à aclimatização pode ser alternativa para minimizar esse problema.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do ácido indolbutírico (AIB) e de diferentes composições de substrato no enraizamento *ex vitro* de explantes de grápia e na aclimatização das plantas micropropagadas.



Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas (MPVP), pertencente ao Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

Para o enraizamento *ex vitro*, brotos de grábia provenientes de segmentos nodais obtidos de plântulas assépticas tiveram suas bases imersas em solução com 0 e 4,4 μM L de ácido indolbutírico (AIB), por 10 s. Os brotos foram cultivados em copos de plástico de 50 ml contendo, aproximadamente, 20 g de substrato, previamente esterilizado em autoclave por 1h, nas seguintes composições (1:1 v/v): 1) areia grossa, substrato comercial e vermiculita, 2) areia grossa e substrato comercial e 3) substrato comercial e vermiculita. Os copos plásticos foram acomodados em bandejas de polietileno cobertas com filme de PVC transparente e mantidos por sete dias em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 h, sob intensidade luminosa de $14,3 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes. A umidade do substrato foi mantida por meio de duas irrigações diárias com água destilada. Após esse período, os cultivos foram transferidos para câmara úmida, com umidade relativa do ar de, aproximadamente, 85% e temperatura média de 27 °C.

O experimento foi um fatorial 2 x 3 (concentrações de AIB e tipos de substrato) em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições de cinco brotos. Aos sete dias em sala de crescimento, avaliou-se a sobrevivência dos brotos e, aos 7, 15, 30, e 45 dias em câmara úmida, a porcentagem de sobrevivência das plantas, porcentagem de calo, porcentagem de enraizamento, o número e comprimento total das raízes (cm).

Para atender aos pressupostos da normalidade, os dados de porcentagem foram transformados para $\arcsin \sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos com diferenças significativas ($P < 0,05$) foram comparadas pelo teste de Tukey ou regressão polinomial, com o auxílio do programa ESTAT (Unesp - Jaboticabal).

Resultados e Discussões

Aos sete dias em sala de crescimento, a porcentagem de sobrevivência dos explantes foi de 100%, indicando que o sistema utilizado para a manutenção inicial dos cultivos foi eficiente, independente do tipo de substrato e das concentrações de AIB. Para a mesma variável não



houve interação significativa entre os tipos de substrato e as concentrações de ácido indolbutírico (AIB), aos 7, 15, 30 e 45 dias em câmara úmida. Aos sete dias em câmara úmida, que corresponde a 15 dias da instalação do experimento, a porcentagem de sobrevivência ainda mostrava-se elevada (99,3%), a qual foi decrescendo até atingir 33% de sobrevivência, aos 45 dias (Figura 1). Em trabalho de enraizamento *ex vitro* de *Ilex aquifolium* L., as taxas de sobrevivência foram mais afetadas pelo tipo de substrato que pelo fitohormônio (MAJADA et al., 2000). No presente trabalho, não foi verificada influência significativa desses fatores para a porcentagem de sobrevivência.

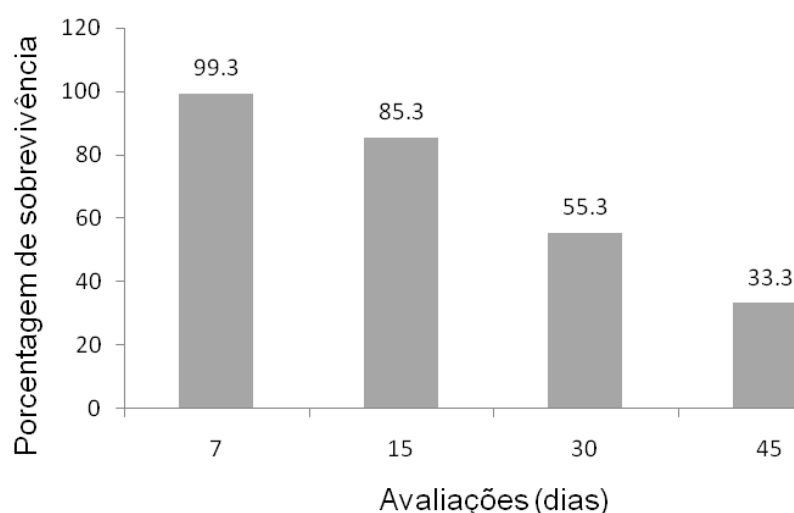


Figura 1 – Porcentagem de sobrevivência de brotos de segmento nodal de grápia (*Apuleia leiocarpa*), independente dos tipos de substrato e das concentrações de ácido indolbutírico (AIB), aos 7, 15, 30 e 45 de avaliação.

Para porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes, aos 30 e 45 dias de avaliação, não houve interação significativa entre os tratamentos. Aos 30 dias de avaliação, foi observada média de 12% de enraizamento, 0,2 raízes por explante e comprimento total de raízes de 0,14 cm. Já aos 45 dias de avaliação, para porcentagem de enraizamento e número de raízes houve diferenças significativas entre os fatores avaliados (Tabela 1). Os explantes cultivados em substrato substrato comercial, areia grossa e vermiculita (1:1 v/v) apresentaram 26% de enraizamento e 0,4 raízes por explante, mostrando significativamente superiores aos demais tratamentos.

Com relação as concentrações de auxina, a aplicação de 4400 μM L de AIB favoreceu a porcentagem de enraizamento (21,3%) e o número de raízes por explante (0,3) (Tabela 1). Entretanto, o enraizamento *ex vitro* de *Apuleia leiocarpa* foi verificado em todos



os tratamentos avaliados, independente do tipo de substrato e da aplicação ou não de auxina. Esses resultados podem ter relação com o teor endógenos de auxinas das plantas jovens utilizadas como fonte de explante (HARTMANN et al., 1997), assim como com a capacidade intrínseca da espécie em desenvolver raízes. No enraizamento ex vitro de explantes micropropagados de *Tectona grandis* L. foi observado resultados semelhantes (FERMINO JÚNIOR et al., 2011).

Tabela 1 – Porcentagem de enraizamento (%E) e número de raízes (NR) e em brotos de segmentos nodal grápia (**Apuleia** leiocarpa) para os diferentes tipos de substratos e concentrações de ácido indolbutírico (AIB), aos 45 dias de avaliação. UFSM, Santa Maria, RS, 2012.

Tratamentos		Porcentagem de enraizamento	Número de raízes
Substrato	S1	26,0 A**	0,4 A*
	S2	12,0 B	0,1 B
	S3	6,0 B	0,1 B
Média		14,6	0,2
AIB (µM)	4,4	21,3 A	0,3 A
	0,0	8,0 B	0,1 B
Média		14,6	0,2
CV (%)		62,3	14,8

Valores seguidos de letra diferente, maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, diferem-se pelo teste de Tukey a *5 e **1% de probabilidade de erro. S1 = substrato comercial + areia grossa + vermiculita (1:1 v/v); S2 = substrato comercial + vermiculita (1:1 v/v); S3 = substrato comercial + areia grossa (1:1 v/v).

Não houve a formação de calo em todos os tratamentos avaliados. O substrato composto por substrato comercial, vermiculita e areia grossa, além de possibilitar maior porcentagem de enraizamento e número de raízes, favoreceu o crescimento das raízes. Para comprimento das raízes houve diferença significativa entre os tipos de substrato ($p \leq 0,05$). As raízes no substrato S1 apresentaram comprimento de 0,5 cm, significativamente superior aos S2 (0,2 cm) e S3 (0,1 cm) (Figura 2).

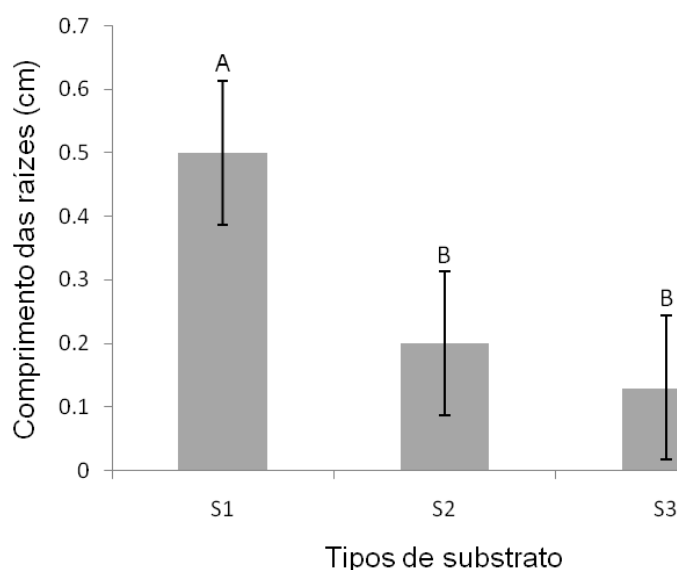


Figura 2 – Comprimento das raízes de brotações de segmentos nodal de grápia (*Apuleia leiocarpa*) nos diferentes tipos de substratos, aos 45 dias de avaliação, independente das concentrações de ácido indolbutírico (AIB). S1 = substrato comercial + areia grossa + vermiculita (1:1 v/v); S2 = substrato comercial + vermiculita (1:1 v/v); S3 = substrato comercial + areia grossa (1:1 v/v).

Neste estudo, a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento mostraram-se baixa. Possivelmente, a elevada taxa de mortalidade e baixas taxas de enraizamento *ex vitro* tenham relação com a qualidade e comprimento da parte aérea obtida na multiplicação *in vitro*. Essas variáveis, associada ao número das brotações alongadas obtidas são preponderantes pela escolha do enraizamento *in vitro* ou *ex vitro* de material micropropagado (SANTOS et al., 2004). Além disso, o ciclo de multiplicação consistiu em um total de 60 dias, 30 em meio com citocinina para indução de brotos e 30 em meio de limpeza. O prolongamento da fase de multiplicação proporcionará um maior alongamento, que poderá influenciar positivamente tanto na sobrevivência quanto no enraizamento das microestacas, tornando o enraizamento *ex vitro* uma alternativa a ser utilizada para a propagação vegetativa de grápia. Para *Ilex aquifolium* L. foi possível eliminar a fase de enraizamento *in vitro*, transferindo as plantas alongadas diretamente para condições *ex vitro*. A maior eficiência de propagação foi obtida no enraizamento *ex vitro*, com aproximadamente 83% brotos enraizados. Além disso, foram observados pêlos radiculares nas raízes formadas *ex vitro*, o que as torna mais funcionais, diminuindo o estresse imposto durante a após a aclimatização. Essas diferenças no enraizamento podem ser em consequência das características físicas do ambiente de enraizamento e/ou devido à qualidade das microestacas. No entanto, o número de plantas produzidas por unidade de



tempo foi maior no cultivo *in vitro*, do que plantas enraizadas *ex vitro* (MAJADA et al., 2000).

5.4 Conclusão

O enraizamento *ex vitro* de grábia pode ser realizado com explantes de grábia tratados em 4400 μM de AIB e cultivados em substrato comercial, areia grossa e vermiculita.

Referências Bibliográficas

CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. v. 1, 1039 p.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. V. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, v. 14, p. 335-345, 1981.

FERMINO JÚNIOR, P. C. P.; RAPOSO, A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plantas micropropagadas de *Tectona grandis*. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 41, n. 1, p. 79-86, jan./mar. 2011.

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, v. 1, 1998. p. 183-260.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa - SPI; Embrapa CNPH, 1999. v. 2, p. 533-568.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de biotecnologia**. Florianópolis: Steinmacher, 2006. 41 p.

HARTMANN, H. T. **Plant propagation: principles and practices**. 6 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.

MAJADA, J.P. et al. Micropropagation of *Ilex aquifolium* L. *in vitro* Cellular & Developmental **Biology Plant**, v. 36, p.521 - 526, 2000. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/klu/ivp/2000/00000036/00000006/00000093>>. Acesso em: 3 abr. 2013.

SANTOS, D. C. et al. Alongamento *in vitro* de *Eucalyptus urophylla*. Colombo: CNPF/EMBRAPA, 2004. 4 p. (Comunicado Técnico, 120).



SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; FORTES, G. R. L. Produção de mudas pré-básicas de batatas por estaquia a partir de plantas micropropagadas. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 186-192, 2004.

SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Micropropagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A. NACHTIGAL, J. C. Propagação de plantas frutíferas. Brasília, Df: Embrapa Informação tecnológica, 2005. p. 155-173.

SEMA. **Árvore nativa:** Biodiversidade também se planta. 2006. Disponível em: <<http://www.sema.rs.gov.br/sema/jsp/descnoticias.jsp?ITEM=1270&TIPO=1>> Acesso em: 21 de out. 2012.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of woody plants: post tissue culture aspects. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 227, p. 489-499, 1988.



INFLUÊNCIA DO LOTE DE SEMENTES NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE PLÂNTULAS DE CAROBA

ALKAIM, V.¹; LENCINA, K. H.²; KIELSE, P.³; MELLO, U.S.⁴; BISOGNIN, D. A.⁵

¹ Graduanda, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: alkaim_vivian@hotmail.com

² Engenheira Florestal, Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: khaygert@hotmail.com

³ Engenheira Florestal, Pós-Doutoranda, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: paulakielse@yahoo.com.br

⁴ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: uiliam.mello@hotmail.com

⁵ Professor, PhD, Departamento de Fitotecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: dilsonb@smail.ufsm.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a desinfestação e o vigor de sementes de caroba (*Jacaranda micrantha* Cham.) provenientes duas microrregiões localizadas no Rio Grande do Sul. Sementes de caroba foram imersas em água destilada, por 30 min, seguido da imersão em solução álcool 70% (7 min.) e, após, desinfestadas com 2% hipoclorito de sódio (NaClO), por 30 min. As sementes foram inoculadas em meio de germinação contendo 30 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de agar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições de cinco sementes por lote. Aos 30 dias foram avaliadas as porcentagens desinfestação e germinação *in vitro* das sementes. Para obtenção do tempo médio de germinação (TMG) e do índice de velocidade de germinação (IVG), o número de sementes germinadas foi obtido diariamente, até 30 dias após a inoculação. Sementes de caroba apresentaram 98% de desinfestação, independente de sua procedência. As sementes coletadas na microrregião de Santa Cruz do Sul apresentaram maior vigor se comparadas àquelas provenientes de Cachoeira do Sul. Foi possível satisfatório estabelecimento *in vitro* de plântulas de caroba, independente da procedência dos lotes de sementes.

Palavras-chave: *Jacaranda micrantha*. Micropropagação. Desinfestação e germinação de sementes *in vitro*.



Introdução

A Caroba (*Jacaranda micrantha* Cham.), espécie arbórea nativa, pertencente à família Bignoniaceae, é uma árvore caducifólia, com 10 a 20 m de altura e 30 a 50 cm de diâmetro à altura do peito (DAP), podendo alcançar até 30 m de altura. A espécie apresenta potencial de utilização na indústria moveleira e em construções civis, além de apresentar propriedades medicinais. As folhas da planta, em infusão de 1% a 2%, é recomendada como antiblenorrágica, anti-sifilítica e depurativa do sangue. A casca da caroba é conhecida por suas propriedades anti-reumáticas e diaforéticas (CARVALHO, 2006), sendo utilizada também no tratamento de doenças de pele, dores musculares e inflamações da garganta (LONGHI, 1995).

Na cultura de tecidos de plantas, a micropropagação é a técnica de maior destaque, servindo de mecanismo de propagação eficiente e com aplicação prática reconhecida. Tem sido considerada uma importante técnica para a propagação de diversas espécies lenhosas, possibilitando a multiplicação, a fixação de genótipos superiores em gerações subsequentes (HARTMANN et al., 2010), a utilização de menor quantidade de material vegetal, além de promover uma maior uniformidade das plantas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

A micropropagação é realizada partindo do cultivo de plantas ou partes de plantas, denominados explantes, em meio de cultura apropriado e asséptico, sob condições de temperatura, umidade, fotoperíodo e irradiância controlados em sala de crescimento (THORPE et al. 1991). É uma técnica que se baseia na teoria da totipotência, formulada por Haberlandt (1902), em que todas as células vivas tem a capacidade de reproduzir um organismo inteiro, desde que possuam as informações genéticas necessárias para que sofram transformações morfogenéticas, originando órgãos ou tecidos vegetais.

A desinfestação do material vegetativo (explantes/sementes) constitui-se a primeira etapa do processo de micropropagação, possibilitando o estabelecimento *in vitro* de plântulas assépticas, as quais serão utilizadas para a multiplicação e o enraizamento *in vitro* ou *ex vitro* (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Entretanto, a origem do lote de sementes pode influenciar nos resultados de desinfestação e germinação, pois diferentes regiões podem apresentar variadas composições microbiológicas associada às plantas (FERMINO et al., 2009). Conhecer a sanidade e o vigor das sementes possibilita a maximização do processo de estabelecimento de plântulas *in vitro*, possibilitando a continuidade das demais etapas do processo de micropropagação.



O objetivo deste trabalho foi avaliar a desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de caroba provenientes da microrregião de Cachoeira do Sul e da microrregião de Santa Cruz do Sul, ambas localizadas no Estado do Rio Grande do Sul.

Material e Métodos

Este experimento foi desenvolvido no Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Brasil. O material vegetativo foi constituído de sementes obtidas do viveiro florestal da UFSM - projeto “Semente é Vida” da AFULBRA, armazenadas em câmara fria. Foram utilizados dois lotes de sementes. O lote 1 foi coletado na microrregião de Santa Cruz do Sul, compreendendo as cidades de Passo do Sobrado, Rio Pardo, Santa Cruz do Sul, Sinimbu, Vale do Sul e Vera Cruz; e o lote 2 obtido na microrregião de Cachoeira do Sul, que compreende as cidades de Agudo, Cachoeira do Sul, Candelaria, Novo Cabrais e Paraíso do Sul, sendo ambas microrregiões situadas no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Para a desinfestação e germinação *in vitro*, 50 sementes de cada lote foram imersas em água destilada, por 30 min., e em solução álcool 70%, por 7 min. Após, as sementes foram desinfestadas com 2% hipoclorito de sódio (NaClO), por 30 min., conforme metodologia descrita por MAMEDES (2010). As sementes foram inoculadas em meio de germinação (5 ml por frasco) contendo 30 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de agar. Os frascos foram lacrados com plástico filme de Poli Cloreto de Vinila (PVC) e mantidos por 30 dias em sala de crescimento, com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16h, sob intensidade luminosa de 14,3 µE m⁻² S⁻¹ fornecida por lâmpadas fluorescentes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições de cinco sementes por lote. Aos 30 dias foram avaliadas as porcentagens de germinação e desinfestação das sementes. O critério considerado para contabilizar a germinação foi a protrusão da radícula nas sementes. Para obtenção do tempo médio de germinação (HARRINGTON, 1972) e do índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962), o número de sementes germinadas foi obtido diariamente, até 30 dias após a inoculação, conforme as equações descritas a seguir:



$$TMG = \frac{(G_1T_1 + G_2T_2 + \dots + G_nT_n)}{(G_1 + G_2 + \dots + G_n)}$$

Sendo:

TMG = tempo médio de germinação;

G = número de sementes germinadas;

T = tempo em dias.

$$IVG = \frac{G_1}{T_1} + \frac{G_2}{T_2} + \dots + \frac{G_n}{T_n}$$

Sendo:

IVG = índice de velocidade de germinação;

G = número de sementes germinadas;

T = tempo em dias.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para atender os pressupostos de normalidade, os dados de porcentagem foram transformados para arcoseno $\sqrt{x/100}$.

Resultados e discussões

Para a porcentagem de desinfestação das sementes, não foi verificada diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os lotes utilizados neste estudo. Foi observada média de 98% de sementes desinfestadas, independente da sua procedência (Tabela 1). Houve apenas 0,2% de contaminação bacteriana e não foi observada a presença de fungos, tanto nas sementes proveniente da microrregião de Cachoeira do Sul quanto naquelas obtidas da microrregião de Santa Cruz do Sul.

Tabela 1 – Porcentagens de desinfestação, contaminação fúngica e bacteriana em cultivo *in vitro* de sementes de caroba provenientes de duas microrregiões localizadas no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.



Tratamentos	Desinfestação (%)	Fungos (%)	Bactérias (%)
Lote 1	98,0 a	0	0,2 a
Lote 2	98,0 a	0	0,2 a
Média	98,0	0	0,2
CV(%)	21,1	-	114,0

* Valores seguidos de letra diferente diferem-se pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Lote 1 = sementes coletadas na microrregião de Cachoeira do Sul e Lote 2 = sementes coletadas na microrregião de Santa Cruz do Sul.

Para a porcentagem de germinação *in vitro*, houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os lotes. Sementes de caroba provenientes da microrregião de Santa Cruz do Sul apresentaram maior capacidade de germinação se comparadas às sementes obtidas da microrregião de Cachoeira do Sul (Tabela 2). As sementes advindas da microrregião de Santa Cruz do Sul tiveram TGM de 8,7 dias e IVG de 4,6 dias, já as sementes coletadas na microrregião de Cachoeira do Sul apresentaram TMG de 12 dias e IVG de 3 dias. Ao se considerar que menores valores de TMG e maiores valores de IVG representam um lote de sementes de maior vigor (NAKAGAWA, 1999), pode-se inferir que, o lote de sementes obtidas da microrregião de Santa Cruz do Sul, apresentou sementes com maior vigor se comparado ao lote coletado na microrregião de Cachoeira do Sul.

Tabela 2 – Porcentagem de germinação, tempo médio de germinação (TGM) e índice de velocidade de germinação (IVG) no cultivo *in vitro* de sementes de caroba provenientes de duas microrregiões localizadas no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Tratamentos	Germinação (%)	TMG (dias)	(IVG)
Lote 1	90,0 a	15,4	3,0
Lote 2	74,0 b	8,7	4,6
Média	82,0	12,0	3,8
CV(%)	21,0	-	-

* Valores seguidos de letra diferente diferem-se pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Lote 1 = sementes coletadas na microrregião de Cachoeira do Sul e Lote 2 = sementes coletadas na microrregião de Santa Cruz do Sul.

As sementes de caroba utilizadas no presente estudo apresentaram elevados índices de desinfestação e germinação *in vitro*, possibilitando a obtenção de satisfatório número de plântulas estabelecidas *in vitro*. Estudos de multiplicação e enraizamento *in vitro* e *ex vitro* devem ser realizados, visando avaliar a capacidade de regeneração dos explantes provenientes de plântulas assépticas e a viabilidade da produção de mudas de caroba por micropropagação.



Conclusão

A procedência das sementes não influenciou as respostas de desinfestação. Sementes provenientes da microrregião de Santa Cruz do Sul mostraram-se mais vigorosas que as sementes coletadas na microrregião de Cachoeira do Sul. Foi possível satisfatório estabelecimento *in vitro* de plântulas de caroba, independente da procedência dos lotes de sementes.

Referências bibliográficas

- CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v.2, 2006, 628p.
- FERMINO JUNIOR, P.C.; NAGAO, E.O.; PEREIRA, J.E.S. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, v.37, n.84, p.427-435, 2009.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. C.; BUSO, J. A (eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: CBAB-EMBRAPA, 1998, p.183-260.
- HARRINGTON, J. F. 1972. Seed storage and longevity. In: T. T. Kozlowski (ed.) **Seed biology**. Academic Press, New York, p. 145-245.
- HARTMANN, H.T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 2010. 915 p.
- LONGHI, R.A. Livro das árvores: árvores e arvoretas do sul. Porto Alegre/RS: L&PM Editores S/A, 1995. p.176.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- MAMEDES, T.C. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de ipê roxo. In: VIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E V JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS, Anápolis, 2010. **Anais ... UEG: Anápolis**, 2010.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 2.1, p. 2.24.
- 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.



PROPAGACAO VEGETATIVA DO ARATICUM (*Annona neosalicifolia* H. Rainer) UTILIZANDO DIFERENTES TIPOS DE ESTACAS E SUBSTRATOS

SILVEIRA, R.S.^{1*}; COSTA, D.S.²; GALLON, F.I.³

¹ Biologo, Graduado pela Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil. * E-mail: rodrigo_santtanna@hotmail.com.

² Graduanda, Curso: Ciências Biológicas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil.

³ Graduanda, Curso: Ciências Biológicas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil.

Resumo

Os Araticuns são árvores frutíferas pertencentes à família Annonaceae, que apresentam dificuldade na germinação de sementes, no enraizamento por estaquia e incompatibilidade com porta-enxerto. Este trabalho objetivou em determinar o comprimento de estaca e o tipo de substrato mais adequados para a propagação vegetativa do Araticum. Foram testados dois comprimentos de estacas (15 e 30 cm) e três substratos (casca de arroz carbonizada, areia grossa e substrato comercial Plantmax®). O experimento foi conduzido por esquema fatorial 2x3, no deniliamento em blocos casualizados, com quatro repetições de cinco estacas por parcela, totalizando 120 estacas. Após 60 dias da data de plantio das estacas os caracteres avaliados foram: porcentagem de estacas vivas, enraizadas, brotadas e o número de raízes por estaca. Os Resultados obtidos demonstram que o araticum apresenta baixo potencial para propagação vegetativa via estaquia, sendo observada sobrevivência inferior a 5%, independente dos tratamentos utilizados. O comprimento das estacas e os tipos de substrato não influenciaram as respostas de enraizamento, sobrevivência ou brotação das estacas.

Palavras-chave: *Annona neosalicifolia*. Propagação Vegetativa. Estaca.

Introdução

A *Annona neosalicifolia* é uma espécie arbórea nativa, conhecida como Araticum ou Araticum-cortiça, com distribuição geográfica no Rio Grande do Sul, na floresta do Alto Uruguai e nas florestas das bacias Jacuí-Ibicuí e do Camaquã (SOBRAL et al., 2006). A espécie pertence à família Annonaceae, possui importância econômica, ecológica e ornamental. Nesta família, diversas espécies



são promissoras para, fins comerciais, sobretudo pelo potencial frutífero. As anonáceas destacam-se entre outras árvores frutíferas, pelo sabor agradável de seus frutos, fato que o torna uma das frutas mais apreciadas do mundo (DONADIO et al., 1998).

A *Annona neosalicifolia* é indicada para recuperação de ecossistemas degradados, particularmente para o reflorestamento de margens de reservatórios de hidrelétricas, por apresentar desenvolvimento rápido, além de produzir frutos atrativos para pássaros e animais (REITZ et al., 1983; GLUFKE, 1999). Além disso, compostos bioativos são encontrados em espécies da família Annonaceae, tais como acetogeninas, alcalóides e flavonóides, ocorrem em diferentes partes da planta, especialmente em sementes, frutos, casca e raiz, podendo estes compostos ser de uso medicinal ou não medicinal (CORDEIRO et al., 2005). Uma característica importante observada nas sementes de *Araticum* é a presença de dormência, causada, provavelmente, pela imaturidade do embrião e impermeabilidade da casca, o que dificulta as trocas gasosas e entrada de ar, retardando o processo germinativo (PARANHOS et al., 1999).

Além disso, a germinação é baixa, ao redor de 20%, e demorada, ocorrendo em até 20 meses (DONADIO et al., 2004).

A propagação vegetativa é indicada para plantas que não se reproduzem satisfatoriamente por processos sexuais, quando a espécie apresenta baixa produção de sementes ou quando estas perdem rapidamente seu poder germinativo, ou ainda, não transmitem por via hereditária determinadas características, como forma da planta, variantes na cor das flores ou aspectos peculiares (KRAMER e KOSLOWSKI, 1960).

A estquia uma das principais técnicas utilizadas para multiplicação de plantas frutíferas, sobretudo por ser economicamente viável para a produção de mudas (SILVA, 2008). Entretanto a viabilidade da propagação comercial por estquia depende da capacidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta (NEVES et al., 2006). O sucesso da técnica de estquia depende da facilidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta (OLIVEIRA et al., 2001). Diversos fatores que podem influenciar o enraizamento de estacas, entre os quais se destacam a condição fisiológica da planta-mãe, a juvenildade e idade da planta matriz, a condição fisiológicas das estacas, a presença de cofatores do enraizamento ou inibidores naturais, a época do ano, a concentração ideal de fitohormônios, as condições ambientais durante o enraizamento e o substrato a ser utilizado (HARTMANN et al., 2002).

A família Annonaceae, normalmente apresentam dificuldade de germinação de sementes, baixo enraizamento por estquia e incompatibilidade com porta-enxerto. É fato comprovado que estacas da parte aérea de anonáceas são consideradas de difícil enraizamento (CASAS et al., 1984; GETTYS et al., 1995). Em experimentos com *Annona glabra*, *Annona montana*, *Rollinia emarginata* e *Rollinia mucosa*, que se constituem de espécies da família Annonaceae, foi observado enraizamento de 50; 36,5; 6,5 e 1%, respectivamente (SCALOPPI JUNIOR, 2003).



Ao se considerar a importância comercial da *A. Neosalicifolia*, e a falta de informações sobre a propagação vegetativa desta espécie, o objetivo deste trabalho foi avaliar a regeneração de estacas dessa espécie.

Metodologia

O experimento foi conduzido sob telado, com 50% de luminosidade em viveiro de mudas no município de São Gabriel-RS, coordenadas 30°20'51.70"S e 54°17'43.07'O, no período de janeiro a março de 2013, com temperatura média de em torno de 35°C. Foram coletados ramos da parte aérea de árvores matrizes de Araticum, e preparadas estacas, mantendo-se um par de folhas por estaca.

Os tratamentos consistiram na combinação de dois tamanhos de estacas (15 e 30 cm) e três substratos (casca arroz carbonizada, areia grossa e substrato comercial Plantmax®). Os substratos foram preparados e colocados em bandejas de polipropileno expandido com 72 células. O experimento foi conduzido por esquema fatorial 2x3, no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições de cinco estacas por parcela, totalizando 120 estacas. Após o plantio das estacas, as bandejas foram mantidas em viveiro de mudas, onde foram efetuadas irrigações diárias. Aos 60 dias após a instalação dos experimentos os caracteres avaliados foram: porcentagem de estacas vivas, enraizadas, brotadas e o número de raízes por estaca. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo de Tukey ($p=0,05$) utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2000).

Resultados e discussões

Para a porcentagem de estacas vivas, enraizadas e brotadas, e o número de raízes por estaca, não foi verificado efeito significativo do tipo de estaca e da composição do substrato. Para o enraizamento e sobrevivência das estacas, foram observadas médias de 4,5% respectivamente independente dos tratamentos utilizados (Tabela 1). Nas estacas de 30 cm foi verificada a média de enraizamento de 5,5%, brotação 3,8%, e número de raízes por estaca 0,6%, em estacas de 15 cm a média de enraizamento foi 3,5%, brotação 1,5% e número de raízes 0,2%.

Tabela1 – Efeito do comprimento da estaca e do tipo de substrato na porcentagem de estacas vivas, enraizadas, brotadas e número médio de raízes por estacas.



Tratamentos	Estacas vivas (%)	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Número de raízes
Comprimento das estacas (cm)				
15	3,50 a	3,50 a	1,49 a	0,24 a
30	5,50 a	5,50 a	3,81 a	0,59 a
DMS	5,51	5,51	2,00	0,39
Substrato				
Plantmax®	4,30 a	4,30 a	3,10 a	0,46 a
Areia	3,60 a	3,60 a	2,13a	0,35 a
Casca de Arroz	5,80 a	5,80 a	2,72 a	0,43 a
DMS	1,83	1,83	1,10	0,17
CV%	22,20	22,20	18,44	16,62

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A formação de raízes adventícias em estacas pode ser direta e indiretamente controlada por genes, (HAISSIG e REIMENSCHNEIDER 1988). Segundo estes autores, o aspecto genético que influencia o processo de enraizamento de estacas não tem sido investigado. A potencialidade de uma estaca em formar raízes é variável com a espécie e cultivar, podendo ser feita uma classificação entre espécies ou cultivares de fácil, médio ou difícil capacidade de enraizamento, ainda que a facilidade de enraizamento seja resultante da interação de diversos fatores e não apenas do potencial genético, (FACHINELLO et al., 1995).

É fato comprovado que estacas da parte aérea de anonáceas são consideradas de difícil enraizamento (GETTYS et al., 1995). Assim, os resultados deste estudo concordam com a investigação sobre o enraizamento adventício dessa família.

Conclusão

O experimento demonstrou que a propagação vegetativa via estaquia da espécie *Annona Neosalicifolia* é inviável, em virtude da baixa capacidade de enraizamento dessa espécie.



Referências

- CASAS, M. H.; VICTÓRIA, S. M. A.; ZARATE, R. R. D. **Preliminary trials on sexual and assexual propagation of soursop (*Annona muricata*)**. Palmira, v. 4, p. 66-81, 1984.
- CORDEIRO, M. C. R.; PINTO, A. C.Q.; ANDRADE, S. R. M. Capítulo 7 Usos. In: PINTO, A. C. de Q.; Cordeiro, M. C. R.; Andrade, S. R. M. de FERREIRA, F. R.; FILGUEIRAS, H. A. de C.; ALVES, R. E.; KINPARA, D. I. **Annona species. Internacional Centre of Under Utilised Crops**, University of Southampton, Southampton, UK, 2005. P. 77-83
- DONADIO, L.C.; NACHTIGAL, J.C.; SACRAMENTO, C.K. **Frutas Exóticas**. Jaboticabal: Funep, 1998. p.214-15.
- DONADIO, L. C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas Brasileiras**. Joboticabal: Unesp, 2004. 248p.
- FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: Editora e Gráfica UFPEL, 1995. p.41-125.
- 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. São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- GETTYS, L.; DUKE, E.; COX, A. **Vegetative propagation of a native pawpaw - Asimina tetramera**. In: Annual Meeting Of The Florida State Horticultural Society, 108., 1995, Orlando. Proceedings. Orlando: 1995, p. 389-391.
- GLUFKE, C. **Espécies florestais recomendadas para recuperação de áreas degradadas**. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Ri Grande do Sul, 1999. 48p.
- HAISSIG, B. E.; REIMENSCHNEIDER, E. D. **Genetic effects on adventitious rooting**. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKLHA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Discorides, 1988. p. 47-60.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVER, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7 ed. Nova Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p.
- KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. **Fisiologia das árvores**. 1 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1960. 745p.
- NEVES, T. S. et al. **Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 41, n.12, p.1699-1705, 2006.
- OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. S.; REZENDE, M. E. **Enraizamento de estacas pra a produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria**. Recomendação Técnica, 41. 2001.
- PARANHOS, J.T.; BATISTA, J.; ZÁQUIA, R. **Quebra de dormência e germinação in vitro de sementes de *Rollinia salicifolia* Schlecht**. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Brasília, v.11, supl. p. 215-219, 1999.
- REITZ, P. R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Projeto do Rio Grande do Sul**. Sellowia, Itajaí, v. 34-35, p. 1-525, 1983.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



SCALOPPI JUNIOR, E.J. Clonagem de quatro espécies de Annonaceae (*Annona glabra* L., *Annona montana* Macfad, *Rollinia emarginata* e *Rollinia mucosa* Baill.) potenciais como porta-enxertos. 81f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Jaboticabal, UNESP/FCAV, 2003.

SILVA, C. P. **Enraizamento de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.), gravioleira (*Annona muricata* L.) e atemoeira (*Annona squamosa* L. x *Annona cherimola* L.) tratadas com ácido indolbutírico (iba), ácido naftalenoacético (naa) e bioestimulante.** 2008. 154f. Tese Doutorado (Horticultura). Faculdade de ciências agronomicas. Universidade estadual paulista "júlio de mesquita filho". 2008.

SOBRAL, M.; JARENKOW, J.A.; BRACK, P.; IRGANG, B.; LAROCCA, J.; RODRIGUES, R.S. 2006. **Flora Arbórea e Arborescente do Rio Grande do Sul, Brasil.** Porto Alegre: RiMa Novo Ambiente. 350p.



SELF-INCOMPATIBILITY AND EFFECT OF EMASCULATION AND TIMING IN TOMATILLO

XAVIER, A.¹; KIELSE, P.²

¹ Graduate Student in Soybean Breeding. Genetic Improvement of Economic Crops, Department of Agronomy, Purdue University, West Lafayette, IN, United States. E-mail: xaviera@purdue.edu.

² Forestry Engineer, Post-Doctor, Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: paulakielse@yahoo.com.br

Abstract

Tomatillo (*Physalis* sp.) is an important crop in North America, especially in Mexico. One of the main limiting factors to improve tomatillo is the presence of gametophytic self-incompatibility. The aim of this work was to compare tomatillo's compatibility (self and cross), emasculation (with and without) and timing (early and late). The plants grew under controlled conditions in greenhouses at the University of Minnesota. The rate of successful crosses were counted by the number of seeds per cross. For controlled crosses, the success of early fertilization suggests protogynic dichogamy. Random crosses showed a better performance than controlled crosses, and both early and late crosses were both successful. The mean number of seeds per fruit suggests that the parental plants may be heterozygous for the *S-locus*.

Keywords: *Physalis* sp. Hand-crosses. Self-incompatibility gene.

Introduction

The introduction of new crops is focused on finding or creating plants with superior taste, appearance or human cultural requirements. Tomatillo (*Physalis* sp.) is a monoecious perennial herbaceous species which belongs to the family Solanaceae. It was domesticated and has been cultivated in Mexico since pre-Columbian era. In Mexico, this species shows a high amount of genetic diversity and some landraces can be found growing wild along the Pacific Coast from California to Nicaragua (MULATO-BRITO and PEÑA-LOMELÍ, 2007a).

One of the main limiting factors to improve tomatillo is the presence of self-incompatibility which has been reported to be gametophytic (RAMIREZ-MALAGÓN and OCHOA-ALEJO, 1991). Self-incompatibility is the inability of a fertile hermaphrodite plant to produce zygotes after self-pollination. An incompatible mating occurs when an *S allele* is transported by a haploid pollen grain that matches with any other *S alleles* in the diploid style (MULATO-BRITO and PEÑA-LOMELÍ, 2007b). Self-incompatibility is one of the most



important systems used by many flowering plants to prevent self-fertilization and thereby generate and maintain genetic diversity within a species. Its response is comprised of a self- and no self-recognition process between pollen and pistil that is followed by selective inhibition of the pollen tube development. The breakdown of self-incompatibility has occurred repeatedly throughout the evolution of flowering plants and has deeply impacts on the genetic structure of populations (STONE, 2002; TAKAYAMA and ISOGAI, 2005). Therefore, the present work aims to describe tomatillo's compatibility (self and cross), emasculation (with and without) and timing (early or late pollination).

Material and Methods

The experiment was done in greenhouse at the University of Minnesota, Plant Growth Facilities West, campus Twins Cities, in Saint Paul, Minnesota, USA. Three parental plants were obtained from a commercial garden catalogue source. Seeds were sown on Nov. 11th, 2011 into a 2" square pot containing 'BM2 Germinating mix', one seed per pot and daily watered. With two-true leaves, plants were transplanted to 4" pots, containing 'LC8 Sunshine mix' containing 70-80% Sphagnum peat moss, perlite, vermiculite, and dolomite lime their permanent growth conditions. Being 12" tall, plants were transplanted on Dec. 23rd, 2011 to their final growth conditions.

Plants were conducted into a five gallons pot filled with potting soil 'LC8 Sunshine mix' (Figure 1A), daily fertigated using 20-10-20 soluble fertilizer at a rate of 200 ppm nitrogen, temperature between 18 and 25°C and 18 hours photoperiod with extended day supplemental light conditions. A branch was bagged using a mesh bag (Figure 1B) in order to test whether or not tomatillo might be pollinated by insects, expecting to evaluate the fructification.



Figure 1 – Tomatillo under its final growth condition (A) and bagged branch test (B).

Hand-crosses were performed on the pollen receptor plant by the use of tweezers to stamen removal on emasculated treatments. Pollinations were made by hand, collecting the pollen from opened flower on the target pollen donator and touching the top of the pistil of the target receptor plant. Alcohol was used for the asepsis after each hand crossing in order to avoid contamination. Crosses were performed from January 15th till March 1st 2012, crossing a pollen receptor plant (testing parent, *P1*) with two other founder parents (*P2* and *P3*) and selfing (Table 1). Non-emasculated plants were early pollinated using closed flowers, and late pollinated using opened flowers.

Table 1 – Number of crosses done for each combination of tomatillo between the testing parent (*P1*) and founder parents (*P2* and *P3*) and selfing.

	Emasculated		Non-emasculated	
	Early	Late	Early	Late
<i>P1</i> x <i>P1</i>	14	12	-	-
<i>P1</i> x <i>P2</i>	14	19	4	4
<i>P1</i> x <i>P3</i>	11	23	5	4

All crosses were tagged using a standard tag (Figure 2) attached to the flower's nearest foliar peduncle. Signed tags were used to identify non-emasculated crosses.

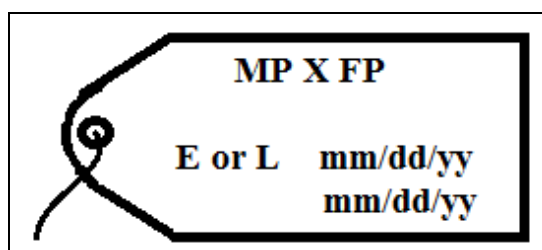


Figure 2 – Tag model. Identifying: receptor plant (MP); pollen donator (FP); type of pollination: early (E) or late (L); day of maculation (first date) and day of pollination (right below).

Fruits and tags of unsuccessful crosses were collected at March 15th. The rate of successful crosses was obtained by dividing the number of fruits by the total of crosses for each combination of parents. Each fruit was cut into four equal pieces; a section had seeds counted for estimating the number of seeds for determining the mean of number of seeds per fruit for each cross combination.

Results and Discussion

Mechanisms of pollination

No fruits were observed on the bagged branch of tomatillo. It suggests that tomatillo plants are scarcely able to be self-fertilized. Although on another branch a single fruit was observed among all non-crossed flowers. The most likely origin of this fruit was contamination through physical contact of flowers, mechanically exchanging pollen with a neighbor plant. According to Hawkeswood (2008), *Physalis* sp. has a potential to be pollinated by a broad range of different insects in nature. Yet, the fact of other flowers have not been successfully fertilized suggest an absence of insects in the greenhouse, which suggests that a single fruit would not have been pollinated by insects.

Incompatibility and emasculation

The lack of fruits in late pollination emasculated plants (Table 2) suggests protogyny, meaning that stigmas are receptive before the pollen being shed from the anthers of the same flower. Protogyny is an important mechanism of cross-pollination in many species. Likewise, as shown in Table 2, self-crosses did not result any successful fertilization, indicating a gametophytic self-incompatibility which is reinforced by the low rate of crosses with sibling plants.

Many members of the family Solanaceae display some kind of gametophytic self-incompatibility. The gene that controls self-incompatibility in the style that encodes a



ribonuclease that causes the degradation of RNA in pollen tubes bearing an allele at the *S-locus* that matches either of the two alleles held by the maternal plant (FRANKLIN-TONG and FRANKLIN, 2003). The rejection of self-pollen occurs during pollen tube growth in the style; therefore, explaining why tomatillo had no fruits in self-crosses. Likewise, the low rate of successful fertilization between sibling plants would be explained by the sharing of incompatible *S-alleles*.

Solanaceae, Rosaceae, and Scrophulariaceae families share a mechanism of female S-determinant incompatibility gene, encoders of S-RNase. Recently, the genomic sequences around the S-RNase genes were thoroughly analyzed in these taxa, resulting in identifying the elusive male S-determinant. The molecular nature of the identified male S-determinant suggests a new model of how these compatibility determinants are involved in the specific rejection of self-pollination (FRANKLIN-TONG and FRANKLIN, 2003; FRANKLIN-TONG et al., 2002; STONE, 2002; TAKAYAMA and ISOGAI, 2005).

Tsukamoto et al. (1999) found that self-incompatible plants in the family Solanaceae may not display the capacity to reject pollen, increasing the number of successful fertilizations and consequently the number of fruits. It may occur due to either genetic changes, as mutation, duplication and polyploidy, affecting *S-locus* or morphological structure of sexual organs, or the action of modifiers loci unlinked to the *S-locus* which could modulate the activity of S-alleles. However, as shown in the Table 2, only non-emasculated plants displayed a high rate of successful crosses.

Table 2 – Percentage of successful crosses on tomatillo.

	Emasculated		Non-emasculated	
	Early	Late	Early	Late
P1 x P1	0	0	-	-
P1 x P2	7,1	0	75	75
P1 x P3	9,1	0	60	75

According to Hedhlya et al. (2009), within the ovary, pollen tubes frequently presented erratic growth on the surface of the obturator and in the vicinity of the ovule, indicating a loss of directionality; which was more prominent in emasculated flowers. Analyzing ovule viability, the authors found that erratic pollen tube growth was related to ovule degeneration. Indeed, it is well known that pollen tubes lose their directionality in the vicinity of an unviable ovule (HÜLSKAMP et al., 1995). Emasculation seems to accelerate ovule degeneration resulting in a higher proportion of flowers with degenerated ovules. It could explain the lower fruit set registered after emasculation. However, mechanisms behind



the effect of emasculation are not clear. Studies often highlight the importance of ethylene in mediating plant response to flower emasculation and wounding, which accelerates flower senescence.

Fruits and seeds

As shown in Table 3, non-emasculated plants showed greater number of seed per fruit. As previously discussed, the act of emasculation may impair factors that determine seed number as well as the success of crosses.

Table 3 – Mean of seeds per fruit of tomatillo plants.

	Emasculated		Non-emasculated	
	Early	Late	Early	Late
P1 x P1	0	0	-	-
P1 x P2	308	0	396	333
P1 x P3	288	0	484	386

When P3 was used as pollen donator, fruits displayed greater number of seeds. It may suggest a closer genetic relation between P1 and P2 than P1 and P3 regarding the *S*-locus, which would reduce the chances of the pollen from P2 successfully fertilizes P1. Tsukamoto et al. (1999) observed that some self-incompatible plants in the family Solanaceae were able to produce seeds and fruits by pathenocarpy as an alternative mechanism of reproduction under the absence of compatible pollen donator.

Conclusion

The tomatillo's reproductive biology has suggested protogeny and gametophytic self-incompatibility, being two important cross-pollination mechanisms. The act of emasculation has demonstrated to reduce the success of crosses and the number of seed. Likewise, the pollen donator has also affected the number of seed due to the compatibility of the *S*-locus.



Acknowledgements

We thank Professor Christian A. Thill for guidance and providing the seeds, soil and general materials; and the University of Minnesota campus Twins Cities by providing a place in the greenhouse and further facilities.

Bibliography

FRANKLIN-TONG, V.E.; FRANKLIN, F.C. Gametophytic self-incompatibility inhibits pollen tube growth using different mechanisms. **Trends of Plant Science**. v.8, p. 598–605, 2003.

FRANKLIN-TONG, V. E. et al. Involvement of extracellular calcium influx in the self-incompatibility response of *Papaver rhoeas*. **Plant Journal**. v.29, p.333–345, 2002.

HAWKESWOOD, T. J. *Physalis peruviana* L. (Solanaceae), a potential host-plant for the Australian leaf beetle *Mecynoderes coxalgica* (Boisduval, 1835) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Calodema Supplementary Paper**, n. 64, p.1-2, 2008.

HEDHLYA, A; HORMAZAB, J. I; HERREROA, M. Flower emasculation accelerates ovule degeneration and reduces fruit set in sweet cherry. **Scientia Horticulturae**. v.119, p.455–457, 2009.

HÜLSKAMP, M. et al. Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v.7, p.57–64, 1995.

MULATO-BRITO, J.; PEÑA-LOMELÍ, A. Germplasm evaluation of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cropped under Ontario, Canada and Chapingo, Mexico environmental conditions. **Vegetable crops research**, v.66, p.117-127, 2007a.

MULATO-BRITO, J.; PEÑA-LOMELÍ, A. Self-compatibility inheritance in tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). **Vegetable Crops Research**, v.67, p.17-24, 2007b.

RAMIREZ-MALAGÓN, R.; OCHOA-ALEJO, N. Adventitious shoot formation and plant regeneration from tissues of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.25, p.185-188, 1991.

STONE, J. L. Molecular Mechanisms Underlying The Breakdown Of Gametophytic Self-incompatibility. **The Quarterly Review of Biology**, v.77, p.17-32, 2002.

TAKAYAMA, S.; ISOGAI, A. Self-incompatibility in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.56, p.467-489, 2005.

TSUKAMOTO, T. et al. Breakdown of self-incompatibility in a natural population of *Petunia axillaris* (Solanaceae) in Uruguay containing both self-incompatible and self-compatible plants. **Sexual Plant Reproduction**, v.12, p.6-13, 1999.