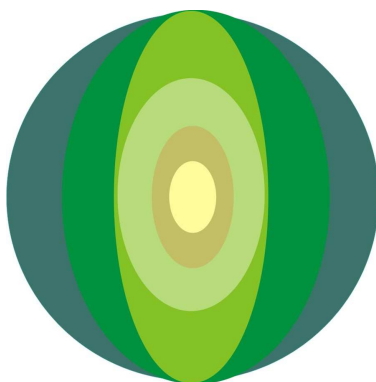




Melhoramento e Propagação
Vegetativa de Plantas
UFSM

ANAIS

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

Dilson A. Bisognin
Editor

S612a

Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas (1. : 2011 : Santa Maria, RS)
Anais / I Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, Santa Maria, RS, 26 e 27 de maio de 2011 ; Dilson A. Bisognin, editor – Santa Maria :Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, 2011.
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

***I 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: dilsonb@smail.ufsm.br

REALIZAÇÃO

Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de
Plantas - MPVP

APOIO

Universidade Federal de Santa Maria
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Associação Brasileira de Melhoramento de Plantas
Pioneer Sementes

LOCAL E DATA

Anfiteatro do Colégio Politécnico da UFSM
Santa Maria, RS, 26 e 27 de maio de 2011

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 I 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 I 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 I Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, tem a satisfação de disponibilizar esta publicação reunindo os resumos dos trabalhos completos e as apresentações realizadas durante o I Simpósio, que ocorreu nos dias 26 e 27 de maio de 2011. 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.

Estamos certos de que as informações contidas nesta publicação, 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

CULTURA DE TECIDOS	1
INFLUÊNCIA DE BAP E DE MEIOS NUTRITIVOS NA REGENERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEGMENTOS APICAIS CAULINARES DE <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (MART. EX DC) MATTOS	1
EFEITO DO MEIO NUTRITIVO E DE AIB NA FORMAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE RAÍZES DE <i>Peltophorum dubium</i> (SPRENGEL) TAUBERT.....	7
EFEITO DO 6-BENZILAMINOPURINA (BAP) E DO ÁCIDO NAFTALENACÉTICO (ANA) NA ORGANOGÊNESE <i>IN VITRO</i> DE <i>Prosopis affinis</i> Spreng.	15
MULTIPLICAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEGMENTOS APICAIS CAULINARES DE <i>Satureja hortensis</i> L. (<i>Lamiaceae</i>).....	23
MULTIPLICAÇÃO DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR (<i>Saccharum</i> spp) UTILIZANDO BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA.....	32
CALOGÊNESE <i>IN VITRO</i> A PARTIR DE SEGMENTO FOLIAR DE <i>Casearia sylvestris</i> Sw. (<i>Salicaceae</i>)	39
IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES COM ÊNFASE NA IMPLANTAÇÃO DE CULTURA DE TECIDOS, PARA ESPÉCIES	

POTENCIAIS E DE MAIOR VALOR SÓCIO-AMBIENTAL DA MATA CILIAR DO RIO VACACAÍ, SÃO GABRIEL/ RS	48
CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE NA RIZOGÊNESE <i>IN VITRO</i> DE ÁPICES CAULINARES DE CANAFÍSTULA - <i>Peltophorum dubium</i> (Sprengel) Taubert	56
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE BATATA (<i>Solanum tuberosum</i>) À FÓSFORO EM SISTEMA DE PROPAGAÇÃO <i>IN VITRO</i> E <i>EX VITRO</i>	63
EFEITO DE COMBINAÇÕES DE BAP E CINETINA NA MULTIPLICAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE IPÊ-AMARELO - <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (MART. EX DC.) J. MATTOS ...	72
PRODUÇÃO DE MUDAS <i>IN VITRO</i> DE CULTIVARES DE BATATA-DOCE - <i>IPOMOEA BATATAS</i> (L.) LAM.....	81
ENRAIZAMENTO E ACLIMATIZAÇÃO <i>in vitro</i> DE MICROESTACAS DE <i>Eucalyptus dunnii</i> MAIDEN	87
DESINFESTAÇÃO E GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES DE Ipê-amarelo - <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (MART. ex A. DC.) MATTOS	96
ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DE ESPÉCIE MEDICINAL RECALCITRANTE DO RIO GRANDE DO SUL: <i>Scutia Buxifolia</i> REISS (RHAMNACEAE)	106
USO DE FITORREGULADORES NA MULTIPLICAÇÃO <i>in vitro</i> DE CANAFÍSTULA	115
ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO DE INDUÇÃO À CALOGÊNESE E REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE	

BRUGMANSIA SUAVEOLENS BER. & PRESL. A PARTIR DE EMBRIÕES MADUROS	123
---	------------

GENÉTICA E CITOGENÉTICA	133
--------------------------------------	------------

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CROMOSSOMOS DE <i>Luehea divaricata</i> M. NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL	133
--	------------

ANÁLISE DA VIABILIDADE POLÍNICA DE <i>Sphagneticola trilobata</i> L. Pruski ATRAVÉS DE DISTINTOS CORANTES ...	140
--	------------

VIABILIDADE POLÍNICA DE <i>Commelina erecta</i> L. NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL	146
---	------------

VIABILIDADE POLÍNICA DE CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (<i>Pasheolus vulgaris</i> L.) COM COMPARAÇÃO DE DIFERENTES CORANTES	152
--	------------

ANÁLISE DA VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN DE <i>Verbena litoralis</i> Kunth NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL	159
--	------------

ESTIMATIVA DA VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN DE <i>Polygala paniculata</i> L. POR METODOLOGIAS DE COLORAÇÃO	165
--	------------

ANÁLISE DA VIABILIDADE POLÍNICA DE FEIJÃO COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) EM DIFERENTES HORÁRIOS DE COLETA	171
--	------------

REGENERAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ARROZ <i>IN VITRO</i> UTILIZANDO A TÉCNICA DE CULTURA DE ANTERAS	178
---	------------

MELHORAMENTO DE PLANTAS.....	185
SOMA TÉRMICA ACUMULADA PARA DISTINGUIR A BROTAÇÃO DE TUBÉRCULOS DE BATATA	185
SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA PARA PROCESSAMENTO EM DUAS CONDIÇÕES DE AMBIENTE	195
QUALIDADE DE TUBÉRCULO DE CLONES DE BATATA EM TRÊS AMBIENTES DE CULTIVO	204
SITUAÇÃO ATUAL NO CONTROLE DA HERBÍVORIA E PERSPECTIVAS NO MELHORAMENTO DA ERVA-MATE (<i>Ilex paraguarienses</i> – St.Hill.).....	214
VARIABILIDADE INTRACLONAL NA CULTIVAR ATLANTIC DE BATATA	220
SELEÇÃO DE MATERIAIS GENÉTICOS DE <i>Eucalyptus</i> sp. COM CRESCIMENTO SUPERIOR NA REGIÃO SUDOESTE DO PARANÁ.....	229
 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA	 237
EFEITO DO TIPO DE ESTACA E DOSE DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE <i>Ligustrum sinense</i> (Lour.)	237
PROPAGAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) POR ESTAQUIA, COM E SEM TRATAMENTO DE FITORREGULADOR	244

ESTAQUIA DE CULTIVARES DE MIRTILEIRO EM DIFERENTES SUBSTRATOS	251
ENRAIZAMENTO DE DIFERENTES TIPOS DE ESTACAS DA ESPÉCIE MEDICINAL NATIVA <i>Psychotria birotula</i> Smith & Downs	259
AVALIAÇÃO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>BRUGMANSIA SUAVEOLENS</i> BER. & PRESL. SP SOB DIFERENTES TRATAMENTOS	266
REGENERAÇÃO DE LOURO-PARDO POR MINIESTAQUIA	276
<i>RESUMO DAS APRESENTAÇÕES</i>	286
PERSPECTIVAS DO MELHORAMENTO GENÉTICO NO BRASIL.....	286
A AMPLIAÇÃO DOS CULTIVOS CLONAIS E DA DEMANDA POR MUDAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS	293
O MELHORAMENTO FLORESTAL E A PROPAGAÇÃO VEGETATIVA NOS NOVOS CENÁRIOS	300
APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS NA PROPAGAÇÃO CLONAL DE <i>Eucalyptus</i>.....	309
DESENVOLVIMENTO CLONAL DE <i>PINUS TAEDA</i> VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA	321
INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA E BANCOS DE PATENTES	328
MEJORAMIENTO GENETICO EN ESPECIES DE PROPAGACION VEGETATIVA.....	335

ANAIS

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



CULTURA DE TECIDOS

INFLUÊNCIA DE BAP E DE MEIOS NUTRITIVOS NA REGENERAÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS APICAIS CAULINARES DE *Handroanthus* *chrysotrichus* (MART. EX DC) MATTOS

PAIM, A. F.^{1*}; REINIGER, L. R. S.²; LEÓN, E. A. B³; PIMENTEL, N.⁴;
TREVIZAN, R⁵.

¹ Engenheira Florestal, Mestranda, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. alinepaimal@yahoo.com.br.

² Engenheira Agrônoma, Professora Adjunta, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Departamento de Fiotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Engenheiro Florestal, Doutorando, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

⁵ Graduanda, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar o efeito de concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) e de diferentes meios nutritivos na regeneração *in vitro* de segmentos apicais caulinares oriundos de sementes de *Handroanthus chrysotrichus* germinadas *in vitro*. O experimento foi conduzido em um esquema bifatorial 3x5, sendo o fator A constituído pelos meios nutritivos (MS, MS½ e WPM), e o fator B, as concentrações de BAP (0, 5, 10, 15, 20 µM), totalizando 15 tratamentos dispostos em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância e foi efetuada análise de regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Foi verificado efeito significativo em relação às diferentes concentrações de BAP. Ajustou-se uma curva de regressão linear decrescente, obtendo-se coeficiente de determinação de 0,7243. No entanto, para os meios nutritivos e para a interação (meios



nutritivos x concentrações de BAP) não foi observado efeito significativo obtendo-se uma média geral de 4,61 brotos por explante. Dessa forma, pode-se concluir que, para a multiplicação de *H. chrysotrichus*, não há necessidade do uso da citocinina BAP, podendo obter-se um número satisfatório de brotos por segmento apical caulinar tanto em meio nutritivo MS, $\frac{1}{2}$ MS ou WPM.

Palavras-chave: Micropropagação. Cultura de tecidos. Ipê-amarelo.

Introdução

Handroanthus chrysotrichus (Mart ex DC) Mattos, conhecida popularmente como ipê-amarelo, é uma espécie arbórea pertencente à família Bignoniaceae, a qual é composta por cerca de 120 gêneros e 800 espécies. Trata-se de uma espécie que é amplamente utilizada na arborização urbana e em projetos paisagísticos de parques e jardins, além de desempenhar importante papel ecológico. Costuma povoar as beiras dos rios sendo indicada para a recomposição de matas ciliares, áreas degradadas e de preservação permanente (Lorenzi, 1992).

A espécie apresenta sementes com curto período de viabilidade, além disso, em alguns anos, observa-se reduzida ou nenhuma produção desses propágulos, o que limita sua dispersão natural, bem como sua utilização em viveiros para florestamento, reflorestamento e comércio de mudas (Souza et al., 2005). Sendo assim, a micropropagação, uma técnica da cultura de tecidos, que tem sido uma ferramenta importante para a multiplicação e a conservação de muitas espécies florestais, pode constituir alternativa para a obtenção de mudas dessa espécie.

Na micropropagação, diferentes meios nutritivos são utilizados, de acordo com as exigências da espécie em estudo. Com espécies lenhosas, os mais usuais são a formulação MS (Murashige e Skoog, 1962) e WPM (Lloyd e Mccown, 1981). A adição de fitorreguladores aos meios nutritivos suprema as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes empregados (Caldas et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) e de diferentes meios nutritivos na regeneração



in vitro de segmentos apicais caulinares oriundos de sementes de *H. chrysotrichus* germinadas *in vitro*.

Metodologia

Foram utilizados como explantes segmentos apicais caulinares oriundos de sementes de *H. chrysotrichus* germinadas *in vitro*, em meio nutritivo WPM.

O experimento foi conduzido em um esquema bifatorial 3x5, sendo o fator A composto pelos meios nutritivos (MS, MS $\frac{1}{2}$ e WPM), e o fator B, pelas concentrações de BAP (0, 5, 10, 15, 20 μM), totalizando 15 tratamentos. A unidade experimental (UE) foi constituída por um frasco com capacidade de 150 mL contendo 30 mL de meio nutritivo e quatro explantes cada. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento, totalizando 75 frascos. Após a inoculação dos explantes nos meios nutritivos, os frascos foram vedados com papel alumínio, dispostos em delineamento inteiramente casualizado em sala de cultivo sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias tipo luz do dia e temperatura de 25 $\pm$ 3 °C.

Aos 60 dias foi avaliado o número de brotos por explante. Os dados foram submetidos à análise de variância e foi efetuada análise de regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Sistema para Análise de Variância) para Windows®, versão 4.0 (Ferreira, 2000).

Resultados e discussões

Foi verificado efeito significativo para o fator B, relacionado às diferentes concentrações de BAP. Ajustou-se uma curva de regressão linear decrescente, com coeficiente de determinação de 0,7243 (Figura 1). A formação de brotos nos explantes foi máxima na ausência de BAP, diminuindo à medida em que aumentou a concentração dessa citocinina. Por outro lado, para os meios nutritivos e, também, para a interação



(meios nutritivos x concentrações de BAP) não foi observado efeito significativo obtendo-se uma média geral de 4,61 brotos por explante.

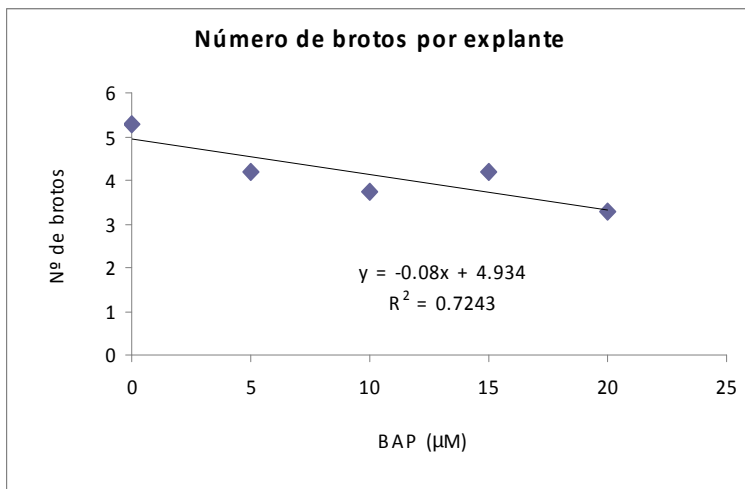


Figura 1 – Número médio de brotos por segmento apical caulinar de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos aos 60 dias de cultivo *in vitro* efetuado nos meios nutritivos MS, $\frac{1}{2}$ MS e WPM acrescidos de diferentes concentrações de BAP. Santa Maria, RS, 2009.

Cordeiro et al. (2004) testaram diferentes concentrações da citocinina BAP (0; 4; 6; 8; 11 e 13 µM) em explantes de *Schizolobium amazonicum* Huber ex. Dulce, sendo observada uma relação inversa à verificada para *H. chrysotrichus*, à medida que houve um aumento linear no número de brotos produzidos por explante com o aumento na concentração de BAP, resultando em 2,14 brotos por explante. O mesmo relatado por Amaral (2006), que analisou a influência da citocinina BAP (5,0 µM) em nós cotiledonares de *Cedrella fissilis* Vell., constatando que, com a adição de BAP ao meio nutritivo, MS ou WPM, ocorreu um aumento no número de brotações por explante. Fick (2007), também registrou uma maior produção de brotos em *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel com a adição de BAP ao meio nutritivo.



Na multiplicação *in vitro* de segmentos apicais caulinares de *Peltophorum dubium* Spreng. (Taub.), Curti (2011) testou o efeito de BAP isolado ou em combinação com outras citocininas, verificando que, quando BAP foi utilizado, isoladamente, no meio nutritivo MS, não houve emissão de brotações adventícias. No entanto, quando foi acrescentado cinetina ou isopentenil adenina, a 5 ou 10 μM , houve aumento na emissão de brotações adventícias, indicando que a associação de citocininas estimulou a emissão de brotações adventícias.

Cada espécie em particular, reage de maneira diversa aos estímulos externos provenientes da suplementação de reguladores de crescimento. Devido a isso, há a necessidade de estabelecer protocolos específicos para as espécies a serem estudadas e para cada fase do cultivo *in vitro*, em que devem ser ajustados tanto o tipo quanto a concentração do fitoregulador a ser empregado.

Conclusão

Para a multiplicação de *Handroanthus chrysotrichus* não há necessidade do uso da citocinina BAP, podendo obter-se um número satisfatório de brotos por segmento apical caulinar tanto em meio nutritivo MS, $\frac{1}{2}$ MS ou WPM.

Referências

- AMARAL, V. F. M. **Multiplicação *in vitro* de *Cedrella fissilis* Vell.** 2006. 60f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)—Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, p. 87-132.
- CORDEIRO, I. M. C. C. et al. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex. Dulce (Paricá). Nota técnica. **Cerne**, Lavras, v. 10, n. 1, p. 118-124, jan./jun. 2004.



CURTI, A. R. **Contribuições para a micropropagação *in vitro* de *Peltophorum dubium* Spreng. (Taub.).** 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)–Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FICK, T. A. **Estabelecimento *in vitro* e propagação de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel (Louro-pardo).** 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)–Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of montains laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Com. Proc. Int. Plant Prop. Soc.**, v. 30, p. 327-421, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, n. 1, p. 437-496, 1962.

SOUZA, V. C. de; BRUNO, R. de L. A.; ANDRADE, L. A de. Vigor de sementes armazenadas de ipê amarelo *Tabebuia serratifolia* (VAHL.) NICH. **Revista Árvore.** Viçosa, MG, v. 29, n. 6, p. 833-841, 2005.



EFEITO DO MEIO NUTRITIVO E DE AIB NA FORMAÇÃO *IN VITRO* DE RAÍZES DE *Peltophorum dubium* (SPRENGEL) TAUBERT

CURTI, A. R.*¹; REINIGER, L. R. S.²; CANDIDO, D. F.¹, PAIM, A. F.¹; NAVROSKI, M. C.¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *
alinerittercurti@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Fitotecnica - Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Este trabalho objetivou testar o efeito de meios nutritivos e da auxina AIB na formação *in vitro* de raízes em *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. Foram utilizadas brotações obtidas em condições assépticas com 30 dias de cultivo. Os tratamentos consistiram de 0 ou 10 μ M (ausência ou presença) da auxina Ácido 3-Indol Butírico (AIB), em meio nutritivo MS (Murashige e Skoog, 1962) ou WPM ("Wood Plant Medium" – Lloyd e McCown, 1981), e das avaliações realizadas aos 30 e aos 60 dias de cultivo, totalizando oito tratamentos de oito repetições cada, em delineamento inteiramente casualizado. Reduzidas porcentagens de formação de raízes em brotações de *Peltophorum dubium* foram obtidas tanto em meio MS como em WPM, independentemente da ausência ou da presença de AIB.

Palavras-chave: Canafístula. WPM. MS. Ácido 3-Indol Butírico.

Introdução

A canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert), pertencente à família Fabaceae, é uma espécie florestal que ocorre naturalmente no Rio Grande do Sul e em outros estados brasileiros. Por ser uma espécie de rápido crescimento, muito rústica e heliófila, é recomendada para reflorestamentos mistos de áreas degradadas. Sua madeira apresenta resistência moderada ao apodrecimento e é bastante usada na construção civil, apresentando potencial para utilização em sistemas produtivos e em escala comercial. Entretanto, existem escassas informações referentes às técnicas de propagação vegetativa visando a



obtencao de mudas de qualidade desta especie.

Peltophorum dubium apresenta potencial para a micropropagacao por meio da emissao de gemas laterais e, para a obtencao de clones desta especie, e necessario que seja otimizada a capacidade dos apices caulinares desenvolverem gemas laterais por periodos mais longos, que as taxas de multiplicacao sejam aumentadas e que seja obtida uma maior frequencia de rizogenez (Carvalho, 2003). No entanto, a dificuldade em um sistema de micropropagacao esta em determinar uma condicao *in vitro* na qual todas essas fases possam ocorrer normalmente e, de preferencia, sem demandar manipulacao adicional de uma fase para outra (Grattapaglia e Machado, 1998).

Especies ou mesmo cultivares diferentes reagem de maneira diversa a concentracoes distintas de auxinas. A concentracao otima, para uma certa planta, pode ser insuficiente ou muito elevada para outra. Segundo Assis e Teixeira (1998), ha varias evidencias de que a formacao de raizes e geneticamente controlada, pois se observa grande variacao entre especies, cultivares e clones, com relacao a maior ou menor habilidade natural em formar raizes. Em estudo realizado por Bassan et al. (2006), o meio nutritivo que proporcionou resultados superiores em relacao ao numero de nos, numero de folhas e tamanho da parte aerica de explantes foi o meio base MS, desenvolvido por Murashige e Skoog (1962), quando comparado ao meio WPM. Em relacao ao enraizamento, nao foi observada diferenca entre os dois meios, uma vez que foi formada apenas uma raiz em um explante do tipo segmento apical caulinar, cultivado no meio nutritivo MS, correspondendo a 0,025% de enraizamento. Esse fato demonstra que os meios testados nao estimularam a rizogenez em canafistula e indica que devem ser efetuadas alteracoes na composicao dos meios para que haja formacao de raizes em *Peltophorum dubium*.

Nesse contexto, e, considerando que a demanda por produtos de origem florestal tem se intensificado nas ultimas decadas, implicando em uma necessidade crescente de tecnologia nos plantios florestais de rapido



crescimento, desde a selecao de matrizes de alta produtividade ate metodos eficientes de producao de mudas este trabalho objetivou testar o efeito de meios nutritivos MS ou WPM e a presenca (10 μ M) ou ausencia (0 μ M) da auxina AIB na formacao *in vitro* de razes em *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert.

Metodologia

As sementes utilizadas para obtencao das brotacoes foram coletadas e armazenadas pela Fundacao Estadual de Pesquisa Agropecuaria – Fepagro/Florestas em Santa Maria, RS, e sao provenientes da producao de 2005. Na UFSM, permaneceram armazenadas em frascos de vidro contendo silica gel e acondicionadas sob temperatura de 8-10 $^{\circ}$ C ate o seu emprego em experimentos.

Obtencao das brotacoes

Inicialmente, as sementes foram submetidas a superacao de dormencia atraves de escarificacao mecanica com lixa n $^{\circ}$ 100 na regiao oposta ao embriao. Em seguida, em camara de fluxo laminar, foram desinfestadas superficialmente em solucao de etanol a 70% (v/v) por 30 segundos e, apos, em solucao de hipoclorito de sodio (NaOCl) a 2 % (v/v) por 15 minutos, passando, entao, por triplo enxague em agua destilada e autoclavada. Visando a germinacao *in vitro*, as sementes foram inoculadas, sob camara de fluxo laminar, em frascos de vidro com capacidade para 150 ml, contendo 30 ml de meio agar-agua a 0,7% (p/v), previamente autoclavados por um periodo de 40 minutos a 120 $^{\circ}$ C e 1 atm. Em cada frasco foram colocadas tres sementes. Os frascos foram vedados com papel aluminio e mantidos em sala de cultivo com temperatura de 25 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C e fotoperiodo de 16 h com intensidade luminosa de 20 μ mol m $^{-2}$ s $^{-1}$ fornecida por lampadas fluorescentes brancas frias do tipo luz do dia.

No estabelecimento *in vitro* foram utilizados epicotilos com, aproximadamente, 8 a 10 mm de comprimento, isolados das plântulas



germinadas *in vitro* após 15 dias de cultivo, obtidas como anteriormente descrito. O meio nutritivo consistiu de meio MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 7 g L⁻¹ de ágar e 1 g L⁻¹ de carvão ativado. O pH foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar e, posteriormente, o meio nutritivo foi autoclavado por 15 minutos a 120°C e a 1 atm. Sob câmara de fluxo laminar, os epicótilos, em número de três, foram inoculados em frascos de vidro com capacidade para 150 ml contendo 30 ml de meio nutritivo. Os frascos foram vedados com papel alumínio e mantidos em sala de cultivo com temperatura de 25±3 °C, fotoperíodo de 16 h e intensidade luminosa de 20 μmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias do tipo luz do dia. Decorridos 30 dias de cultivo, as brotações (epicótilos já estabelecidos) foram utilizados no trabalho de formação *in vitro* de raízes descrito a seguir.

Efeito do meio nutritivo e de AIB na formação *in vitro* de raízes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert

Brotações obtidas em condições assépticas com 30 dias de cultivo, contendo de 1 a 3 pares de folhas constituíram as unidades amostrais. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema trifatorial 2x2x2. Os tratamentos consistiram de 0 ou 10 μM (ausência ou presença) da auxina Ácido 3-Indol Butírico (AIB), em meio nutritivo MS (Murashige e Skoog, 1962) ou WPM (“Wood Plant Medium” – Lloyd e McCown, 1981), e das avaliações realizadas aos 30 e aos 60 dias de cultivo, totalizando oito tratamentos de oito repetições cada. Cada unidade experimental foi constituída por um frasco de vidro de 150 ml contendo 30 ml de meio nutritivo e três brotações.

Foi utilizado o meio nutritivo conforme o tratamento, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 7 g L⁻¹ de ágar e 1 g L⁻¹ de carvão ativado. O pH foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar e, posteriormente, o meio nutritivo foi autoclavado a 120°C e 1 atm de pressão por 15 minutos. Os frascos foram vedados com papel alumínio e mantidos em sala de cultivo com temperatura de 25±3 °C e fotoperíodo de



16 h com intensidade luminosa de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias do tipo luz do dia.

Após 30 dias de cultivo, as brotações foram transferidas para meio nutritivo com a mesma constituição, porém solidificado com 6 g L^{-1} de ágar, permanecendo neste meio por um período adicional de 30 dias. Nas brotações que apresentaram intensa formação de calos na base, foi realizada a remoção destas estruturas com o intuito de não prejudicar a formação *in vitro* de raízes. As variáveis analisadas foram: sobrevivência das brotações (%SOB), brotações que formaram calo (%CALO), brotações que apresentaram vitrificação (%VITRIF) e formação *in vitro* de raízes (%RAIZ), todas expressas em porcentagem.

Após testar a normalidade dos erros por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett, as variáveis foram transformadas, sempre que necessário, pela função $\sqrt{x+0,5}$, sendo x o valor observado. Foram realizadas análises de variância e, quando o valor de F foi significativo, foi utilizado, para a comparação das médias o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Quando houve interação entre os níveis dos fatores testados, foram realizados os desdobramentos pertinentes. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows®, versão 4.0 (Ferreira, 2000).

Resultados e discussões

Em relação à sobrevivência e vitrificação, não houve diferença significativa para os fatores testados, indicando que os mesmos não tiveram efeito sobre estas variáveis. No que se refere à sobrevivência foi observada uma elevada média geral, de 98,58%, e, para vitrificação, a média foi reduzida (1,38%).

Quanto à formação de calos houve efeito significativo para o período de avaliação ($p=0,000$) e houve interação ($p=0,0228$) dos fatores principais concentração de AIB e meio nutritivo (Tabela 1). Aos 30 dias de cultivo foi observada uma média de 54,8% de formação de calos na base



das brotações e, aos 60 dias, essa média caiu para 3%, o que é mais favorável à formação de raízes. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que, aos 30 dias, no momento da transferência das brotações para um meio nutritivo fresco, o excesso de calo na base foi retirado com o intuito de não prejudicar a formação de raízes, que era o objetivo do presente trabalho. Como, provavelmente, os teores endógenos de hormônios diminuíram após esse período de cultivo, a formação de calos não voltou a ocorrer. Somente houve efeito de AIB no meio nutritivo MS, em que a maior formação de calos foi observada na presença desta auxina (10 μM). Para o meio nutritivo WPM não foi observada influência da auxina, havendo, também, formação de calos nas duas situações, ausência e presença de AIB.

Para a formação de raízes, houve interação ($p=0,0494$, $AS=0,86$) dos fatores principais AIB e meio nutritivo, indicando que o meio nutritivo utilizado interfere na necessidade de utilização ou não de AIB. Foi observada a formação de raízes na presença de AIB para o meio MS, a qual não pode ser considerada satisfatória, em virtude do reduzido valor (6,0%). Já no meio nutritivo WPM foi observada formação de raízes na ausência de AIB (3,0%). Pôde-se observar que, além do reduzido índice de formação de raízes, as raízes sempre foram muito pequenas (até 5 mm) e ocorreram juntamente com calos, apresentando, ainda, em alguns casos, sinais de necrose.

Para *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo), o melhor enraizamento das brotações foi obtido em meio nutritivo WPM com 0,5 mg L⁻¹ (2,5 μM) de AIB combinado com 1,5 g L⁻¹ de carvão ativado (Mantovani et al., 2001). Durante o enraizamento *in vitro* de segmentos apicais caulinares de *Carica papaya* L. 'Tainung 01' (mamoeiro), foi observado que, na ausência e com 0,74 μM de AIB no meio nutritivo, não houve formação de raízes nos calos, mas na presença de 1,48; 2,96 e 5,92 μM desta auxina, houve um incremento de microestacas enraizadas a partir de calo, sendo obtidas médias de 10, 15 e 45% respectivamente (Schmidt et al., 2010). Contudo, deve-se considerar que o enraizamento efetuado a partir de calo não é desejável



na propagação de plantas, uma vez que essas raízes surgem pela rediferenciação das células do calo e, raramente, possuem conexões vasculares com as microestacas regeneradas a partir do calo (Grattapaglia e Machado, 1998). A ocorrência de calos na base de segmentos apicais caulinares de *Peltophorum dubium* também foi observada por Kirst e Sepel (1996), sendo verificado um comprometimento na formação de raízes.

Tabela 1 - Formação de calos (%) em brotações de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert cultivadas em meio nutritivo MS ou WPM, na presença ou ausência de AIB. Santa Maria, RS, UFSM, 2010.

AIB (μ M)	MS		WPM		Média (%)
0	19,86	a A*	39,27	a A	28,07
10	42,18	b A	27,00	a A	34,59
Média (%)	29,30		33,14		31,06
Acurácia seletiva (AS)**			0,90		

* médias seguidas de letras diferentes minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. A letra "a" refere-se ao melhor resultado.

** $AS = \sqrt{1 - (1 / Fc)}$, onde Fc= valor de F calculado. Se $AS \geq 0,9$ = muito alta; se AS entre 0,7 e 0,9 = alta; se AS entre 0,5 e 0,7 = moderada e se $\leq 0,5$ = baixa.

Conclusão

São obtidas reduzidas porcentagens de formação de raízes em brotações de *Peltophorum dubium* tanto em meio MS como em meio WPM, independentemente da ausência ou da presença (10 μ M) de AIB.

Referências

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa CNPH, 1998. v.1, p. 261-296.

BASSAN, J. S. et al. Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 16, n. 4, p. 381-390, 2006.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Colombo, PR: EMBRAPA FLORESTAS, 2003. 1.039p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

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

KIRST, M.; SEPEL, L. M. N. Micropropagação de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert a partir de ápices caulinares de plântulas. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMAS NATURAIS DO MERCOSUL, 1., 1996, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1996. p.141-146.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of montaim laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Combinet Proceedings International Plant Propagators Society**, v. 30, p. 421-427, 1981.

MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E. T. H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 2, p. 93-101, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, n. 1, p. 437-496, 1962.

SCHMIDT, E.R. et al. Níveis de Ácido Indol Butírico (AIB) no enraizamento *in vitro* de microestacas de mamoeiro 'Tainung 01'. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v.32, n.1, p. 125-129, 2010.



EFEITO DO 6-BENZILAMINOPURINA (BAP) E DO ÁCIDO NAFTALENACÉTICO (ANA) NA ORGANOGÊNESE *IN VITRO* DE *Prosopis affinis* Spreng.

ROCHA, B.N.^{1*}; LÖBLER, L.²; MARTINS, C. R.³

¹ Bióloga, Mestranda, Programa de Pós graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. ^{*}bruna_nery_rocha@hotmail.com.

² Bióloga, Mestranda, Programa de Pós graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. lisilobler@gmail.com.

³ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE – Brasil. martins@cpatc.embrapa.br.

Resumo

A pesquisa objetivou observar o efeito do 6-Benzilaminopurina (BAP) e do Ácido naftalenoacético (ANA) na organogênese *in vitro* de *Prosopis affinis* Spreng., a partir de segmentos nodais. Foram utilizadas as concentrações de citocinina BAP (0; 2,5; 5; 7,5 e 10 mg/L) e de auxina ANA (0 e 2,2 mg/L), utilizando 15 repetições por tratamento. O meio MS foi suplementado com 0,7% de ágar, 3% de sacarose e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C e pressão de 1 atm. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo bifatorial, sendo que os dados foram submetidos à análise estatística pelo teste DMS (5% de probabilidade) utilizando o programa Win Stat A utilização de 5,0 mg/L de BAP contribuiu na formação de gemas e folhas em explantes de *Prosopis affinis*. A suplementação de ANA não contribuiu no desenvolvimento *in vitro* da espécie estudada. Todos os tratamentos apresentaram calos, mas os de maior vigor ocorrem em tratamentos que contém BAP. Desta forma é constatada a necessidade de utilizar BAP em organogênese de *Prosopis affinis*.

Palavras-chave: Inhanduvá. Fitorreguladores. Segmento Nodal. Micropropagação.



Introdução

Prosopis affinis Spreng, conhecida popularmente como Inhanduvá, pertence à família Fabaceae, estando presente significativamente dentro dos domínios do Parque Estadual do Espinilho, localizado a sudoeste do estado do Rio Grande do Sul (Secretaria da Coordenação e Planejamento, 2006). É considerado por Marchiori et al. (1985) como um ecossistema sensível, devido à intervenção antrópica e degradação crescente ocasionada pela criação de gado no local e nas proximidades. Apresenta potencial para reflorestamento que consiste nas suas características de resistência à seca e a produção de madeira de qualidade para variados fins, além da produção de vagens, considerando seu valor nutritivo e frutificação na época mais seca do ano Ribaski (2001). Partindo da vulnerabilidade do Inhanduvá na região, são necessários estudos para sua conservação, visto que existem poucas pesquisas que focam esta Fabaceae. Intensifica-se a necessidade de conhecimento sobre suas formas de propagação.

Um método que está sendo empregado e apresenta eficiência é o cultivo in vitro, considerando que várias partes da planta podem ser utilizadas como fonte de explante, a exemplo de raízes e folhas Mantovani (1997), segmentos nodal e nodal cotiledonar Franco et al. (2006). O meio de cultura utilizado na micropropagação possui substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos, suprimindo as necessidades metabólicas, energéticas e estruturais das células Caldas et al. (1998). Durante o cultivo in vitro, as soluções de sais e açúcares, que compõem o meio de cultura, não exercem somente um efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e a morfogênese (George, 1996).

A adição de reguladores de crescimento tem o objetivo principal de suprir as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes que se encontram isolados das regiões produtoras na planta matriz. Exemplos incluem ácido naftalenoacético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) (Termignoni, 2005).



Partindo deste contexto, a pesquisa objetivou observar o efeito do 6-Benzilaminopurina (BAP) e do Ácido naftalenoacético (ANA) na organogênese *in vitro* de *Prosopis affinis* Spreng., a partir de segmentos nodais.

Metodologia

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Cultura de Tecidos da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia da PUCRS Campus Uruguaiana. Foram utilizados como explantes segmentos nodais de aproximadamente 1 cm de comprimento, provenientes de plantas germinadas *in vitro* em meio MS Murashige e Skoog, (1962). O meio MS 100% foi suplementado com fitorreguladores citocinina BAP (0; 2,5; 5; 7,5 e 10 mg/L) e auxina ANA (0 e 2,2 mg/L), 0,7% de ágar e 3% de sacarose com o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C e pressão de 1 atm. Após a inoculação dos explantes os frascos foram expostos ao fotoperíodo de 16 horas obtidos por lâmpadas fluorescentes brancas frias, com intensidade luminosa de $20 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$, sob temperatura de 25°C aproximadamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo bifatorial relacionando as concentrações de BAP e ANA. Foram utilizadas 15 repetições por tratamento em frascos de 150 ml contendo 20 ml de meio nutritivo e três segmentos nodais. As variáveis analisadas aos 35 dias de cultivo foram número médio de gemas, folhas e porcentagem de calos de alto (aproximadamente 1,5 cm), médio (aproximadamente 1 cm) e baixo vigor (aproximadamente 0,5 cm). Os dados foram submetidos à análise estatística pelo teste DMS (5% de probabilidade) utilizando o programa Win Stat.

Resultados e discussões

O número de folhas e gemas, respectivamente, foi significativamente maior em concentração de 5,0 mg/L de BAP acrescido ao meio MS Murashige e Skoog (1962) observa-se assim um menor



número de folhas e gemas em todos os demais tratamentos (Figura 1 e 2), considerando também que o uso de 2,2 mg/L de ANA associado ou não ao BAP, não foi significativo. Este fator sugere que as concentrações endógenas de citocinina não são suficientes para que ocorra a diferenciação de novas folhas e gemas, visto que o fitorregulador BAP apresentou influência positiva na concentração mencionada suprimindo a necessidade fitohormonal.

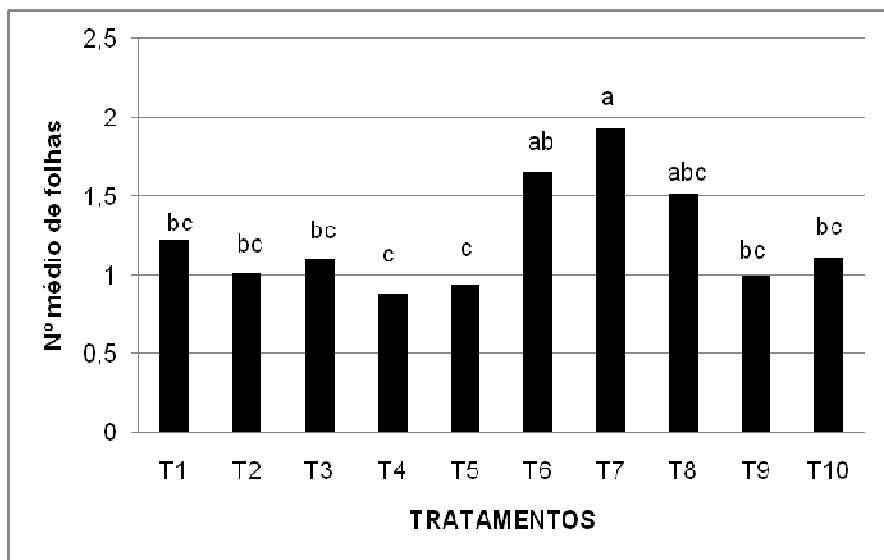


Figura 1 - Médias do número de folhas presentes nos tratamentos de T1*(Controle), T2* (BAP 2,5es+ANA), T3* (BAP 5+ANA), T4* (BAP 7,5+ANA), T5* (BAP 10+ANA), T6* (BAP 2,5), T7* (BAP 5), T8* (BAP 7,5), T9* (BAP 10) e T10* (ANA) inoculados em meio MS. *Os tratamentos seguidos pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste DMS a 5% de probabilidade.

A concentração de 5,0 mg/L de BAP em meio MS também estimulou gemas e conseqüentemente brotações em *Musa x paradisíaca* L. cv. Pacovan Santana e Alloufa (2000). Os resultados obtidos divergem



dos encontrados por Souza et al. (2011) para *Dioscorea drageana*, onde concentrações de BAP superiores a 1,0 mg/L podem ter causado um efeito fitotóxico nos explantes, e por isso, o número de gemas foi significativamente menor quando comparado ao resultado obtido com 0,1 mg/L de BAP que induziu a multiplicação *in vitro*. Já em Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) o maior número de gemas ocorreu em explantes na ausência de BAP (Rosa, 2009). Quanto ao número de folhas Villa et al. (2005) observaram o decréscimo no número de folhas em Amoreira Preta (*Rubus* sp) 'Ébano' com o aumento dos níveis de BAP. Em estudos com Pau-rosa a concentração de 4,0 mg/L de BAP estimulou de maneira significativa o número de brotos nos explantes Jardim et al. (2010).

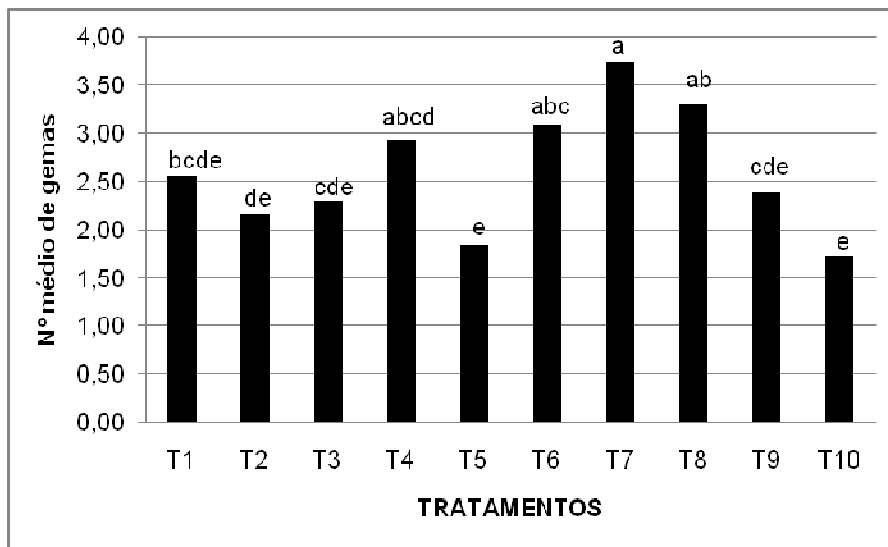


Figura 2 - Médias do número de gemas presentes nos tratamentos de T1*(Controle), T2* (BAP 2,5+ANA), T3* (BAP 5+ANA), T4* (BAP 7,5+ANA), T5* (BAP 10+ANA), T6* (BAP 2,5), T7* (BAP 5), T8* (BAP 7,5), T9* (BAP 10) e T10* (ANA) inoculados em meio MS. *Os tratamentos seguidos pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste DMS a 5% de probabilidade.



O alto vigor de calos ocorreu em 50% dos explantes nos tratamentos compostos por BAP 5,0 mg/L + ANA 2,2 mg/L, BAP 10,0 mg/L + ANA 2,2 mg/L e BAP 10 mg/L (Tabela 1) este resultado pode estar associado as altas concentrações de fitorreguladores, propiciando assim, calos mais vigorosos. A utilização de ANA 2,2 mg/L não demonstrou resultados satisfatórios para formação de calos, sendo que apenas 10% dos explantes apresentaram calos de médio vigor. Calos com baixo vigor ocorreram em 100% dos explantes do controle, mas não apresentaram desenvolvimento satisfatório de gemas e folhas, o que supõe que o segmento nodal utilizado neste estágio necessita de indução exógena de fitorreguladores.

Tabela 1 - Porcentagem de calosidades de Baixo Vigor, Médio Vigor e Alto Vigor em tratamentos de T1*(Controle), T2* (BAP 2,5+ANA), T3* (BAP 5+ANA), T4* (BAP 7,5+ANA), T5* (BAP 10+ANA), T6*(BAP 2,5), T7* (BAP 5), T8* (BAP 7,5), T9* (BAP 10) e T10* (ANA) em segmentos nodais inoculados em meio MS.

	BAIXO VIGOR	MÉDIO VIGOR	ALTO VIGOR
T1	100% a	0% c	0%
T2	0% c	40% abc	60% a
T3	13% c	37% abc	50% ab
T4	0% c	75% a	25% bc
T5	0% c	50% ab	50% ab
T6	87% a	13% bc	0% c
T7	87% a	13% bc	0% c
T8	50% b	50% ab	0% c
T9	0% c	50% ab	50% ab
T10	87% a	13% bc	0% c

Estes resultados estão de acordo com os de Rosa (2009) onde a presença de citocinina BAP ocasionou um aumento na formação de calos. Provavelmente, devido a um desbalanceamento nos níveis endógenos de fitohormônios nos explantes, em que elevadas concentrações de citocinina



parecem interagir com a quantidade de auxina endógena do explante, levando à formação de calos e provocando certa inibição no surgimento dos brotos. A formação de calos, porém em menor índice, também ocorreu em explantes que não foram submetidos à ação de reguladores de crescimento, resultado que corrobora com os de Borges Junior et al. (2004).

Conclusão

A utilização de 5,0 mg/L de BAP auxilia na formação de gemas e folhas em explantes de *Prosopis affinis*. A suplementação de ANA não contribuiu no desenvolvimento *in vitro* de *P. affinis*.

Referências

- BORGES JÚNIOR, N.; SOBROSA, R. C.; CORDER, M. P. M. Multiplicação *in vitro* de gemas axilares de Acácia-negra (*Acacia mearnsii* de Willd). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 004, p. 493-497, 2004.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P. F.; ELIAS, M. Meios nutritivos. In: CALDAS, L. S.; TORRES, A. C.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA - CNPH, v. 1, 1998, 509 p.
- FRANCO, E. T. H.; GAVIOLLI, L. B.; FERREIRA, A. G. *In vitro* regeneration of *Didymopanax morototoni*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 455-462, 2006.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**: part 1, the technology. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. 1998. Micropropagation, p.183- 260. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. **Tissue Culture and Genetic Transformation of Plant**. v.1. Embrapa-SPI / Embrapa-CNPH. Brasília.
- JARDIM, L. S.; SAMPAIO, P. T. B.; COSTA, S. S.; GONÇALVES, C. Q. B.; BRANDÃO, H. L. M. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração *in vitro* de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta Amazonica**, Manaus – AM, v. 40, n.2, p. 275 – 280, 2010.
- MANTOVANI, N. C. **Estudo da regeneração *in vitro* de caixeta (*Didymopanax morototoni* (Aubl.) Dcne et Planch)**. 1997. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



MARCHIORI, J. N. C., LONGHI, S. J. & GALVÃO L. Composição Florística e Estrutura do Parque de Inhanduvá no Rio Grande do Sul. **Revista Centro de Ciências Rurais**, nº 15, p. 319-334, set. 1985.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n.1, p. 437-496, 1962.

RIBASKI, J. Potencial del Algarrobo (*Prosopis juliflora*) en Sistemas Silvopastoriles en la Región Semiárida de Brasil. **II Conferencia Electronica Agroforesteria para la Producción Animal en America Latina (FAO-CIPAV)**, 25 p. Out., 2001.

ROSA, F. C. **Superação da dormência de sementes e cultivo *in vitro* de Bracatinga (*Mimosa scabrella* benth.)**. 52 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

SANTANA, R. A. de S.; ALLOUFA, M. A. I. Propagação *in vitro* da bananeira (*Musa sp*) cultivar Pacovan: efeito de várias concentrações de BAP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 481-482, dez. 2000.

SECRETARIA DA COORDENAÇÃO E PLANEJAMENTO. **Projeto Conservação da Biodiversidade como Fator de Contribuição ao Desenvolvimento do Estado do Rio Grande do Sul**, Resumo do Projeto, 2006, 15p. 2007.

SOUZA, A. V.; BERTONI, B. W. FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Dioscorea multiflora* Griseb. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 92-98, jan./fev. 2011.

TERMIGNONI, R. R. **Cultura de tecidos vegetais**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2005, 182 p.

VILLA, F.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* da Amoreira-Preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 582-589, maio/jun., 2005.



MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS APICAIS CAULINARES DE *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae)

SILVA, C.K.^{1*}; REINIGER, L.R.S.²; NAVROSKI, M.C.³; WALDOW, D.A.G.⁴; PEREIRA, M.O.¹

¹ Graduanda, Curso de Engenharia Florestal. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * carol_ks_324@hotmail.com.

² Engenheira Agrônoma, Professora Adjunta. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Engenheiro Florestal, Doutorando do Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Engenheiro Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito de 6-Benzilaminopurina (BAP) na presença e na ausência de Ácido Naftaleno Acético (ANA) sobre a multiplicação *in vitro* de segmentos apicais caulinares de segurelha (*Satureja hortensis*). Utilizou-se delineamento inteiramente causalizado, esquema bifatorial 2x5 (concentrações de ANA - 0 e 1 μM - e de BAP - 0; 5; 10; 15 e 20 μM), com seis repetições de três explantes. Após 60 dias de cultivo, avaliaram-se: número de brotos e de folhas por explante, e formação de raiz (%). Observou-se efeito significativo da interação ANA*BAP para formação de raiz; de ANA e BAP para número de folhas; e somente de BAP para número de brotos. A formação de raiz exibiu comportamento quadrático na ausência de ANA e linear decrescente na sua presença. Maior número de folhas ocorreu na ausência de ANA e, em função de BAP, a 20 μM . Houve aumento na formação de brotos com aumento de BAP, até 15 μM . Maior formação de raiz ocorre na presença de ANA e ausência de BAP. O número de folhas por explante é maior na presença de BAP e ausência de ANA. O número de brotos é estimulado por BAP, até 15 μM , não sendo afetado por ANA.

Palavras-chave: 6-Benzilaminopurina. Ácido alfa-Naftaleno Acético. Cultura de tecidos.



Introdução

Satureja hortensis L. (Lamiaceae) conhecida como segurelha, é originária do Mediterrâneo Oriental (Cantino et al., 1992). É largamente utilizada como tempero, mas de suas folhas e hastes também são extraídos óleos, resinas, tinturas e extratos para a indústria de perfumaria (Mihajilov-krstev et al., 2009). Folhas, flores e caule de *Satureja hortensis* são, adicionalmente, usados com frequência no preparo de chás ou como aditivo em misturas de especiarias comerciais para alimentos, muitas vezes para oferecer aroma e sabor. Também tem sido usada como planta medicinal para tratar várias doenças, tais como câibras, dores musculares, náuseas, indigestão, diarreia e doenças infecciosas. Apresenta propriedades anti-espasmódicas, anti-diarreicas, sedativas, antioxidantes e antimicrobianas (Hajhashemi et al., 2000).

Considerados os usos e a potencialidade de *Satureja hortensis* é desejável a uniformidade fenotípica. Dentre as formas de propagação de espécies vegetais, a técnica de cultura de tecidos denominada micropropagação é utilizada para a produção de plantas dotadas de superioridade bioquímica, genética, fisiológica e sanitária, em larga escala, com ausência de variação somaclonal (Grattapaglia e Machado, 1998).

Na cultura de tecidos, a composição e a concentração dos reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores determinantes do padrão de desenvolvimento, sendo as auxinas e as citocininas as classes de fitorreguladores mais utilizadas neste sistema de cultivo (Cheema e Sharma, 1983). Na cultura de tecidos, a disponibilidade e a interação dessas classes de fitorreguladores no meio de cultura modulam o crescimento e a morfogênese *in vitro*, tendo uma importante influência na formação das raízes, partes aéreas e calos. O efeito fisiológico depende da concentração de cada fitorregulador de crescimento no meio de cultura (Pozo et al., 2005).

Considerada a importância econômica e a carência de conhecimento acerca da propagação via cultura de tecidos, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito de 6-Benzilaminopurina (BAP), na



presença e na ausência de Ácido alfa-Naftaleno Acético (ANA), sobre a multiplicação *in vitro* de segmentos apicais caulinares de segurelha (*Satureja hortensis*).

Metodologia

Os explantes utilizados foram provenientes da germinação *in vitro* de sementes de *Satureja hortensis* em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. Previamente, as sementes foram desinfestadas superficialmente pela imersão, por 30 segundos, em etanol a 70% (v/v), em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,5% (v/v), por 15 minutos, e, por fim, foram submetidas a um triplo enxágue com água destilada e autoclavada.

Das plântulas obtidas foram isolados os explantes, segmentos apicais caulinares com, aproximadamente, 1 cm de comprimento, os quais foram inoculados em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de sacarose, mio-inositol e ágar nas mesmas concentrações usadas para a germinação *in vitro*.

Na germinação e na propagação *in vitro*, o pH foi ajustado para 5,8 imediatamente antes da autoclavagem, efetuada por 20 minutos a 120°C e a 1 atm. Os frascos com capacidade para 150 mL, contendo 30 mL de meio de cultura foram mantidos em sala de crescimento sob temperatura de 25°C±2°C, fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 20 µmol⁻² m⁻² s⁻¹ obtida por lâmpadas fluorescentes brancas frias tipo luz do dia.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema bifatorial 2 x 5, correspondendo às concentrações de ANA (0 e 1 µM) e de BAP (0; 5; 10; 15 e 20 µM), totalizando 10 tratamentos, com seis repetições, cada uma composta por três explantes. Após 60 dias de cultivo, foi avaliado o número de brotos e o número de folhas por explante, além da porcentagem de formação de raiz.

Após testar a normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett, as



variáveis foram transformadas para a função $\sqrt{x + 0,5}$, sempre que necessário, e submetidas à análise de variância. As médias apresentadas correspondem aos valores originais. As médias foram comparadas pelo teste F ($p < 0,05$) ou por análise de regressão polinomial. Utilizou-se o Software Sisvar (Ferreira, 2000).

Resultados e discussões

Aos 60 dias de cultivo *in vitro* de segmentos apicais caulinares de *Satureja hortensis* obteve-se efeito significativo para a interação entre os fatores principais para a formação de raiz. Para a variável número de brotos por explante obteve-se efeito significativo somente para o fator BAP, enquanto que para o número de folhas por explante foram significativos os dois fatores principais (Tabela 1).

Em relação ao número de brotos formados por explante, observou-se um comportamento quadrático positivo para as concentrações de BAP (Figura 1). Houve um aumento na formação de brotos à medida que aumentou a concentração de BAP até a concentração de 15 μM , a partir desta concentração observou-se uma leve diminuição na formação de brotações. A resposta obtida está de acordo com o esperado, uma vez que as citocininas, de modo geral, promovem a produção de partes aéreas. Entretanto, há que se considerar que seu excesso pode ser tóxico, acarretando em encurtamento dos entrenós e em problemas na fase de enraizamento (Leshem et al., 1988).

Alguns estudos realizados com outras espécies da família Lamiaceae revelaram que concentrações de BAP menores que as utilizadas no presente trabalho, foram suficientes para a maior formação de brotações. Com *Melissa officinalis* e *Mentha piperita*, Beduhn (2005) observou que o desenvolvimento de brotos e de segmentos nodais foi melhor com 8,8 μM de BAP, entretanto, foram utilizados segmentos apicais e não caulinares.



Tabela 1 – Resultados da análise de variância para número de brotos por explante, número de folhas por explante e porcentagem de formação de raiz em função das combinações de Ácido alfa-Naftaleno Acético (ANA) e 6-Benzilamonopurina (BAP), após 60 dias de cultivo *in vitro* de segmentos apicais caulinares de segurelha em meio de cultura MS.

Causa de variação	GL	Quadrados médios		
		nº brotos/ explante	nº folhas/ explante	Formação de raiz (%)
ANA	1	25,85 ^{ns}	2397,54*	147,84*
BAP	4	90,00*	305,10*	31,32 ^{ns}
ANA*BAP	4	17,69 ^{ns}	180,59 ^{ns}	25,98*
Resíduo	30	3,615	70,69	6,08
Média	-	4,47	5,45	49,12
CV (%)	-	30,48	44,25	12,92

ns

ns F não-significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro; * F significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Houve maior número de folhas na ausência de ANA, obtendo-se mais de sete folhas por explante (Tabela 2). A presença da auxina não foi favorável à formação de folhas, observando-se pouco mais de duas folhas por explante quando da sua utilização. A resposta observada condiz com a expectativa, uma vez que o acréscimo de auxina pode alterar um balanço hormonal endógeno favorável à formação de partes aéreas.

O número de folhas por explante apresentou comportamento quadrático positivo em função de BAP (Figura 2). A maior média (9,69) foi observada na concentração 20 μ M da citocinina. Na ausência de BAP (controle) não houve formação desses órgãos.

Resultados semelhantes para a formação de folhas, foram registrados por Talukder et al., (2003) em ***Dendrobium***, aos 30 dias de



cultivo, em que a maior média (4,25 folhas por explante) foi obtida com a utilização de 11 μ M BAP adicionados ao meio de cultura MS.

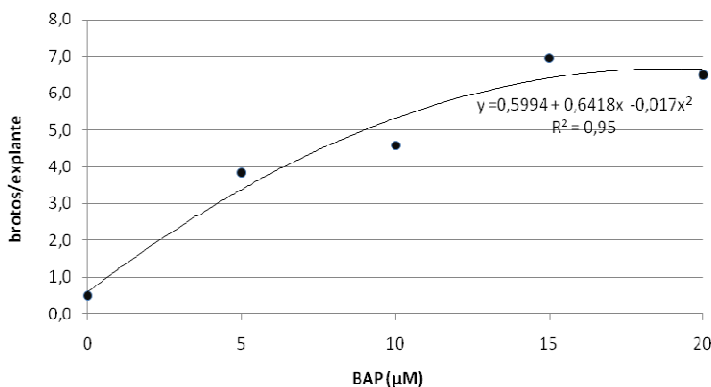


Figura 1 – Número de brotos por explante em segmentos apicais caulinares de segurelha após 60 dias de cultivo *in vitro*, em meio de cultura MS, em função de diferentes concentrações de BAP.

Tabela 2 – Média do número de folhas por explante em segmentos apicais caulinares de segurelha aos 60 dias de cultivo *in vitro*, em meio de cultura MS, em função da ausência ou presença (1 μ M) de ANA.

ANA	n° de folhas/explante
Ausência	7,49 a*
Presença	2,30 b

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro. A letra “a” refere-se à melhor resposta *in vitro*.

A formação de raiz nos explantes, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, exibiu um comportamento quadrático positivo na ausência de ANA e linear decrescente na presença da auxina (Figura 3). Na ausência de ANA, houve um aumento na formação de raiz à medida que se aumentou a



concentração de BAP (Figura 3). Na ausência de ambos os fitorreguladores não houve formação de raiz. Observou-se elevada formação de raiz na presença de ANA e ausência de BAP ou em baixas concentrações da citocinina. A formação de raiz foi diminuindo à medida que se aumentou a concentração da citocinina.

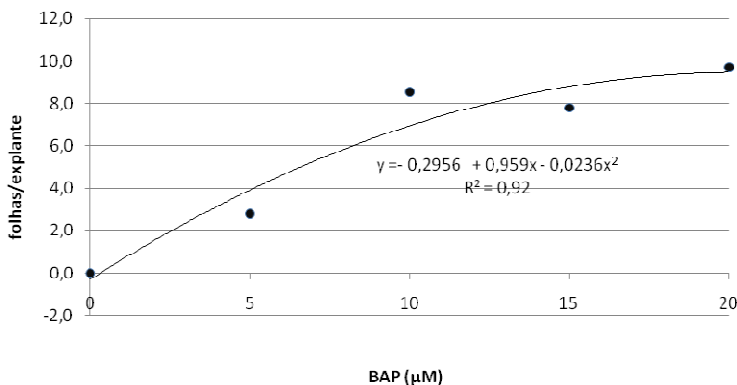


Figura 2 – Número de folhas por explante em segmentos apicais caulinares de segurelha aos 60 dias de cultivo *in vitro*, em meio de cultura MS, em função de diferentes concentrações de BAP.

Os resultados obtidos no presente trabalho ratificam a tese de que concentrações elevadas de citocinina, geralmente, inibem ou retardam a formação de raízes e, também, evitam o crescimento e os efeitos benéficos das auxinas sobre a iniciação radicular (Rout et al., 2006).

Conclusão

O número de brotos por explante em segurelha é estimulado pela citocinina BAP, até a concentração 15 µM, não sendo afetado pela auxina ANA. O número de folhas por explante é maior na presença de BAP e ausência de ANA. Maior formação de raiz ocorre na presença de ANA e ausência de BAP.

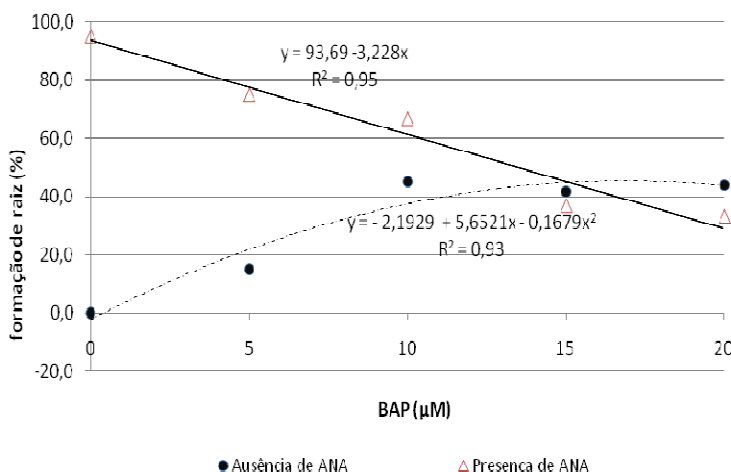


Figura 3 – Formação de raiz (%) em segmentos apicais caulinares de segurelha aos 60 dias de cultivo *in vitro*, em meio de cultura MS, em função de diferentes concentrações de BAP, considerada a ausência ou a presença (1 μM) de ANA.

Referências

BEDUHN, F.A. Estabelecimento e propagação *in vitro* de plantas medicinais da família Lamiaceae. 2005. 58p. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas.

CANTINO, P.D.; HARLEY, R.M.; WAGSTAFF, S.J. Genera of *Labiatae* status and classification. In: R.M. Harley and T. Reynolds, Editors, **Advances in Labiatae Science, Royal Botanic Gardens**, p. 511–522, 1992.

CHEEMA, G. S.; SHARMA, D. P. *In vitro* propagation of apple rootstocks-EMLA **Acta Horticulturae**, v. 131, p. 75-88, 1983.

DODE, L.B. et al. *In vitro* propagation of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 435-437, 2003. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/2034/1510>>. Acesso em: 25 fev. 2010. doi: 10.4025/actascibiols.v25i2.2034.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de



Biometria, 45, 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

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

HAJHASHEMI, V. et al. Antispasmodic and anti-diarrhoeal effect of **Satureja hortensis** L. essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 71, p. 187-192, 2000. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6T8D-461XNPD-1-](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6T8D-461XNPD-1-1&_cdi=5084&_user=687358&_pii=S037887410200137X&_origin=search&_coverDate=10%2F31%2F2002&_sk=999179997&view=c&wchp=dGLbVzb-SkzV&md5=f9525983f9a3dbdebc1fbf00d7d35924&ie=/sdarticle.pdf)

[1&_cdi=5084&_user=687358&_pii=S037887410200137X&_origin=search&_coverDate=10%2F31%2F2002&_sk=999179997&view=c&wchp=dGLbVzb-SkzV&md5=f9525983f9a3dbdebc1fbf00d7d35924&ie=/sdarticle.pdf](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6T8D-461XNPD-1-1&_cdi=5084&_user=687358&_pii=S037887410200137X&_origin=search&_coverDate=10%2F31%2F2002&_sk=999179997&view=c&wchp=dGLbVzb-SkzV&md5=f9525983f9a3dbdebc1fbf00d7d35924&ie=/sdarticle.pdf)>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1016/S0378-8741(02)00137-X.

MIHAJLOV-KRSTEV, T. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of **Satureja hortensis** L. essential oil. **Central European Journal of Biology**, v.4, n. 3, p. 411-416, 2009. Disponível em:

<<http://www.springerlink.com/content/I2I350607512r563/fulltext.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2010. doi: 10.2478/s11535-009-0027-z.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiological Plant**, v.15, p.473-497, 1962. Disponível em:

<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x/abstract;jsessionid=3667ED4B6173A2C31BEC4E7E465DE7CB.d02t02>>. Acesso em: 10 nov. 2009. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

POZO, J.C.D. et al. Hormonal control of the plant cell cycle. **Biologia Plantarum**, v. 123, p. 173-183, 2005. Disponível em:

<<http://uit.no/getfile.php?PageId=2877&FileId=225>>. Acesso em: 15 fev. 2010.

ROUT, G.R.A. et al. Tissue culture of ornamental pot plant: a critical review on present scenario and future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 24 531-560, 2006. Disponível em:

<<http://www.aseanbiotechnology.info/Abstract/21020433.pdf>>. Acesso em: 14 fev. 2010. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.05.001.

TALUKDER, S. K.; NASIRUDDIN, K. M.; YASMIN, S.; HASSAN, L.; BEGUM, R. Shoot proliferation of **Dendrobium** orchid with BAP and ANA. **Journal of Biological Sciences**, v.11, n. 3, p. 1058-1062, 2003. Disponível em: <<http://scialert.net/pdfs/jbs/2003/1058-1062.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2009. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00156-5.



MULTIPLICAÇÃO DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* spp) UTILIZANDO BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA

SILVA C. M.^{1*}; ECKER A. E. A.²

¹Professor, curso de Agronomia, Faculdade Integrado de Campo Mourão, Campo Mourão, PR, Brasil. claudio@grupointegrado.br

²Professor, curso de Agronomia, Faculdade Integrado de Campo Mourão, Campo Mourão, PR, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento da variedade RB928064 de cana-de-açúcar, propagada através da cultura de meristemas, e submetida à multiplicação em biorreator de imersão temporária desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade Integrado de Campo Mourão PR. O meio de cultura utilizado foi o de Murashige & Shoog (MS) suplementado com 0,02 mg L⁻¹ de BAP, 0,01 mg L⁻¹ de cinetina, e 20.000 mg L⁻¹ de sacarose. Com o biorreator de imersão temporária conseguiu-se de um único explante da variedade RB928064, 50 novas brotações em 45 dias, quando comparado com a metodologia tradicional de multiplicação que produz em média 6 a 8 brotações no mesmo período. Além disso, houve significativo ganho de tempo, reagente e mão-de-obra quando comparado ao sistema convencionalmente utilizado para multiplicação *in vitro*.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Micropropagação. Biorreator.

Introdução

A micropropagação é a principal técnica de cultura de tecidos com potencial de utilização na agricultura. A aplicação da propagação *in vitro* em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) é uma alternativa vantajosa em programas de melhoramento para a multiplicação de variedades, devido à economia de tempo em relação às técnicas convencionais (LEE, 1984). Aliado a isso, obtém-se mudas de excelente qualidade fitossanitária, geneticamente uniformes e idênticas ao material vegetal de origem.



A metodologia tradicional, baseada no cultivo de explantes em pequenos frascos contendo meio agarizado, resulta num número reduzido de plântulas por frasco e intensa manipulação das culturas, envolvendo grande contingente de mão-de-obra especializada (Teixeira, 2002). Uma alternativa para contornar esses problemas é a utilização de biorreatores que empregam meio de cultura líquido.

Na propagação *in vitro*, o meio de cultura líquido apresenta vantagens como a produção massiva de plantas e a redução da manipulação da cultura, indispensável à automação do processo (Cid et al., 2002).

O primeiro relato do uso de biorreatores na propagação vegetal foi feito por Takayama & Misawa (1981) para a micropropagação de begônia. Os biorreatores são sistemas usados na micropropagação vegetal visando a otimização do protocolo de produção de mudas e a redução de custos da operação (Leveau e Bouix, 1985). Para a propagação de plantas através de gemas, existem os biorreatores de imersão temporária, desenvolvidos com a finalidade de minimizar ou eliminar o problema da hiperhidricidade (Alvard et al., 1993).

Lorenzo et al. (1998), trabalhando com biorreatores de imersão temporária, relatou que algumas variedades de cana-de-açúcar produziram até 58 brotações a partir de um único meristema. A média de brotações utilizando o protocolo convencional é de 4 brotações. Estes mesmos autores obtiveram o mesmo sucesso com abacaxi, banana e manga e relataram que o custo de produção foi reduzido em 46% quando comparado aos protocolos convencionais de micropropagação. Escalona et al. (1999) obteve taxas de multiplicação superiores utilizando biorreator de imersão temporária na micropropagação de gemas de abacaxi.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de meristemas apicais da variedade RB928064 submetidos à multiplicação em Biorreator de Imersão Temporária em meio MS integral, e aperfeiçoar o protocolo de micropropagação empregado para a obtenção de mudas de cana-de-açúcar.



Metodologia

A variedade RB928064 apresenta alto potencial produtivo, ampla adaptabilidade, hábito de crescimento ereto, é exigente em fertilidade e ainda possui perfil ideal para colheita mecanizada.

As gemas da variedade RB928064 foram individualizadas e lavadas em hipoclorito de sódio comercial a 20% (v/v) por 40 minutos. Em seguida, enxaguou-se as gemas em água corrente e plantou-se em substrato estéril a 30°C por 25 dias. Ao atingirem cerca 20-25 cm de altura, segmentos do colmo com cerca de 50 mm, foram extraídos e esterilizados durante 1 minuto em álcool 70% (v/v), 20 minutos em solução de hipoclorito a 20% (v/v) e por fim lavados por três vezes em água destilada autoclavada. Após o processo de assepsia, sob condições estéreis, isolou-se os ápices caulinares em câmara de fluxo laminar com o auxílio de lupa e inoculou-se em tubos de ensaio contendo o meio de cultura MS suplementado com 0,02 mg L⁻¹ de BAP, 0,01 mg L⁻¹ de cinetina, 1,0 mg L⁻¹ de tiamina, 100,0 mg L⁻¹ de inositol e 20.000 mg L⁻¹ de sacarose e ajustado para pH 5.8 por 30 dias, até desenvolverem plântulas de 10 cm de altura. Das plântulas obtidas, uma foi selecionada e transferida para o Biorreator de Imersão Temporária para fase de multiplicação.

Para a montagem do biorreator de imersão temporária foram utilizados três frascos de vidro autoclaváveis, com capacidade para 3 litros de meio de cultura. A figura 1 mostra o esquema de funcionamento. O primeiro frasco utilizado (Frasco C) possui uma tampa de alumínio com válvula de filtro que impede a entrada de microorganismos e funciona como reservatório do novo meio de cultura. Este novo meio é drenado por uma válvula inferior para o frasco imediatamente abaixo (Frasco A), utilizado como depósito do meio de cultura que abastece o Frasco B, que recebe a plântula de cana-de-açúcar. O Frasco A possui uma tampa de alumínio com 3 orifícios. O primeiro tem função de receber o meio de cultura novo do Frasco C. O segundo recebe o ar comprimido de um Compressor D, e o terceiro leva o meio de cultura para o Frasco B e



possui uma abertura lateral que recebe o líquido novamente por gravidade do Frasco B.

O Frasco B apresenta uma válvula inferior responsável pela drenagem do meio utilizado pelo espante, e é constituído de uma tampa de alumínio com dois orifícios: um para a entrada do meio de cultura vindo do Frasco A e outro contendo uma válvula de alívio. O Frasco A possui uma válvula de drenagem responsável pelo retorno do meio de cultura ao Frasco C.

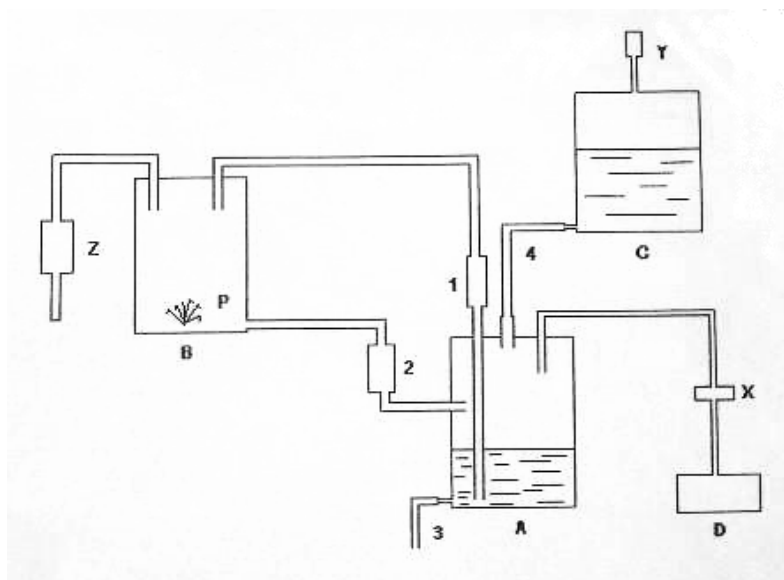


Figura 1 - Esquema de funcionamento do Biorreator de Imersão Temporária. A: Frasco contendo o meio que se está utilizando; B: Frasco com o explante; C: Frasco com meio novo; X: Filtro Hidrofóbico; 1, 2, 3 e 4: Válvulas; P: Plântula de cana-de-açúcar; Z: válvula-filtro; Y: Alívio de pressão do Frasco C.

O ciclo de funcionamento do compressor foi controlado por um temporizador programado para 30 minutos. O compressor permaneceu



ligado por 1 minuto, tempo suficiente para que todo o meio passe para o Frasco B. Foi utilizado um filtro hidrofóbico com membrana de 0,2 Mm de abertura sob o ar do compressor. O aumento de pressão no Frasco A força o meio de cultura a subir pelo ducto até o Frasco B, onde se localiza o explante. O líquido entrando no Frasco B aumenta a pressão, aliviada pela válvula presente na tampa. Quando toda a pressão é aliviada, o meio de cultura força a abertura da válvula de retenção localizada na parte inferior do Frasco B e assim o meio de cultura utilizado retorna ao Frasco A, fechando o sistema.

Após 15 dias de cultivo, o meio de cultura do Frasco A é drenado para fora do sistema e o novo meio de cultura é introduzido no frasco pela válvula superior vindo do Frasco C, que contém o meio de cultura novo. Dessa forma, evita-se a abertura do frasco, reduzindo contaminações.

Todos os frascos e meios de cultura utilizados foram autoclavados a 120°C +/- 1° sob pressão de 1 atm por 20 minutos.

A plântula da variedade RB928064 foi introduzida no Frasco B em câmara de fluxo laminar e a cultura de tecidos foi conduzida em sala de crescimento com temperatura de 25°C, intensidade luminosa de 2.000 lux e fotoperíodo de 12 horas de luz. O explante recebeu o meio de cultura por 1 minuto em intervalos de 30 minutos por 45 dias. O meio de cultura foi trocado por 3 vezes em intervalos regulares de 15 dias. Após o tempo de cultivo, a plântula foi retirada do frasco em câmara de fluxo laminar e teve seus perfilhos individualizados para contagem.

Resultados e discussões

A plântula da variedade RB928064 produziu 50 novos perfilhos durante o período de 45 dias de cultivo em Biorreator de Imersão Temporária. Este número de perfilhos é muito superior ao número médio de perfilhos obtidos pelo método convencional de multiplicação in vitro da variedade que é de 6 a 8 perfilhos por meristema (Lorenzo et al, 1998).

Os perfilhos formados apresentaram tamanho reduzido e foram mais finos quando comparados com a metodologia tradicional. No entanto,



o cultivo desses perfilhos em frascos individualizados fez com que estes apresentassem morfologia normal após o período de 15 dias.

Desta forma, conclui-se que utilização de biorreator de imersão temporária para a propagação clonal de diferentes variedades de cana-de-açúcar, previamente proposta por Lorenzo et al (1998), pode ser aplicada à variedade RB928064. O número de perfilhos na variedade RB928064, próximos aos números obtidos pelo referido autor, justificam futuros investimentos para o cultivo de meristemas de outras variedades de interesse comercial e econômico utilizando o Biorreator de Imersão Temporária desenvolvido pelo Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade Integrado de Campo Mourão PR. A utilização do Biorreator de Imersão Temporária proporcionou a redução de custos fixos através da redução de mão-de-obra, sendo que apenas uma pessoa é suficiente para conduzir o trabalho, e a diminuição de perdas por contaminação. Na condução dos explantes em biorreator de imersão temporária os explantes não são manuseados e sim o frasco contendo o meio de cultura novo.

Conclusão

A multiplicação de mudas da variedade RB928064 de cana-de-açúcar utilizando o biorreator de imersão temporária desenvolvido neste estudo foi 7 vezes mais efetiva do que a multiplicação in vitro pela metodologia tradicional, e propiciou redução de custos, contaminações e tempo para a obtenção de mudas.

Referências

ALVARD, D.; COTE, F., TEISSON, C. **Comparisson of methods of liquid medium culture for banana micropropation.** Plant Cell Tissue Organ Culture. v.32 p.55-60, 1993.

CID, P.B.; CRUZ, A.R.R., TEIXEIRA, J.M. **Biorreatores de Imersão Permanente.** Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. KL3 Publicações, ano IV, n.25, p.50-53, 2002.

ESCALONA, M.; LORENZO, J.C.; GONZALEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZALEZ, J.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, C.G. **Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr)**



micropropagation in temporary immersion systems. Plant Cell Tissue and Organ Culture. V18 (9), p.743-748, 1999.

LEE, T.S.G. Micropropagação de cana-de-açúcar através de cultura de meristema apical. **Saccharum APC**, v.7, p. 36-39, 1984.

LEVEAU, J.; BOUIX, M. Bioengenharia. In: René Scriban (ed.). **Biotechnologia**. São Paulo. Editora Manole, p.124-175, 1895.

LORENZO, J.C.; GONZALES, B.L.; ESCALONA, M.; TEISSON, C.; ESPINOZA, P.; BORROTO, C. **Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system.** Plant Cell Tissue and Organ Culture. v 54. p197-2000, 1998.

TAKAYAMA, S.; MISAWA, M. **Mass propagation of (egonia x biemalis) Plantlets by shake culture.** Plant & Cell Physiology. V22 (3), p461-467, 1981.

TEIXEIRA, J.B., **Biorreatores.** Revista Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento. KL3. Publicações, ano IV número 24, p. 36-41 2002.



CALOGÊNESE *IN VITRO* A PARTIR DE SEGMENTO FOLIAR DE *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae)

LÖBLER, L.^{1*}; ROCHA, B. N.¹; FRESCURA, V. D.¹; MACHADO, D.F.M.¹; PARANHOS, J. T.²

¹ Bióloga, Mestranda, Programa de Pós graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. lisilobler@gmail.com

² Engenheira Agrônoma, Professora Adjunta do Programa de Pós graduação em Agrobiologia, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Casearia sylvestris Sw. (Salicaceae) conhecida popularmente como carvalhinho é uma planta medicinal nativa do Rio Grande do Sul, utilizada como princípio ativo na produção de cremes fitoterápicos e homeopáticos para tratamento do herpes labial, sendo eficaz contra úlceras gástricas causadas por estresse ou maus hábitos alimentares. O objetivo do estudo visou à obtenção de calos *in vitro* para posterior utilização em trabalhos de regeneração *in vitro* de plantas bem como para o estudo do acúmulo dos fitoterápicos nos mesmos. Explantes foliares medindo em torno de um cm² foram inoculados em condições assépticas em frascos de cultura contendo meio MS 100%, 0,3% de sacarose e 0,6% de ágar, testando-se quatro concentrações da auxina 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹). As culturas foram submetidas a dois regimes de luz: escuro contínuo e fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 25 repetições por tratamento. Estes foram comparados dois a dois pelo teste Qui-quadrado a $p \leq 0.05$. A dose de 4,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D proporcionou a formação de 13 calos, sendo essa a melhor resposta na calogênese *in vitro* das culturas que foram submetidas ao escuro contínuo. Os explantes foliares submetidos ao fotoperíodo de 16 horas apresentaram 100% de oxidação.

Palavras-chave: Carvalhinho. Calogênese. Fitorregulador. Cultura de Tecidos.



Introdução

Casearia sylvestris Sw. (Salicaceae) é conhecida popularmente por carvalhinho, guaçatonga, erva-de-bugre, dentre outras denominações. Trata-se de uma espécie arbórea ou arbustiva com ocorrência em pelo menos 22 estados brasileiros, incluindo o Rio Grande do Sul (Torres e Yamamoto, 1986).

É uma espécie florestal com relevante importância no reflorestamento misto de áreas degradadas e matas ciliares (Lorenzi, 2002). Além disso, é amplamente utilizada na medicina popular. Seu princípio ativo é útil na produção de cremes fitoterápicos e homeopáticos para tratamento do herpes labial. É eficaz contra úlceras gástricas causadas por estresse ou maus hábitos alimentares (Lorenzi e Matos, 2008), também é indicada em casos de picada de cobras, como cicatrizante tópico e antitérmico e anti-inflamatório (Hoehne, 1939; Correa, 1975; Junges et al. 1985).

No entanto, plantas medicinais são retiradas de seu habitat natural para uso terapêutico e muitas vezes tornam-se insuficientes para atender uma demanda constante e ininterrupta, principalmente quando a espécie tem utilização ampla e relevante, podendo levar à extinção. Nesse sentido, apenas o cultivo sistematizado pode garantir uma produção regular e em larga escala. Uma alternativa sustentável para a reposição destes indivíduos na natureza, a fim de reduzir a exploração extrativista é a cultura de tecidos vegetais *in vitro*. Por meio desta técnica, é possível a formação de calos, denominada calogênese, etapa básica para o desenvolvimento de sistemas de propagação massiva de plantas por organogênese ou embriogênese somática (Venturieri e Venturieri, 2004). Além disso, calos podem ser multiplicados por sucessivas subculturas e mantidos *in vitro* por longos períodos, sendo importante para estudos morfogênicos *in vitro* e para a obtenção, através da suspensão celular, de produtos secundários incluindo fármacos, apresentando grande interesse científico e comercial (Rodrigues e Almeida, 2010).



A composição e concentração de fitorreguladores presentes no meio de cultura são determinantes no crescimento e no desenvolvimento da maioria dos sistemas de cultura de tecidos. Assim a formação de calos pode ser regulada pela disponibilidade de auxinas, entre elas o 2,4-D, o qual induz com maior eficiência a formação de calo e pode ser importante em sistemas de embriogênese somática (Caldas et al. 1998).

Diante disso, o objetivo do estudo foi à obtenção de calos *in vitro* para posterior utilização em trabalhos de regeneração *in vitro* de plantas bem como para o estudo do acúmulo dos fitoterápicos nos mesmos.

Metodologia

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais pertencente ao Departamento de Biologia, do Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria - RS.

Os explantes utilizados foram segmentos foliares de $\pm 1 \text{ cm}^2$ retirados de plantas assépticas oriundas de germinação *in vitro* e aclimatizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais. O processo de desinfestação dos explantes consistiu de seis etapas realizadas sucessivamente, como segue: 1) lavagem em água corrente durante 2 minutos; 2) imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1% acrescido de detergente (2 gotas para cada 100 ml) por 10 minutos; em câmara de fluxo laminar seguiu-se o processo 3) lavagem em água destilada esterilizada; 4) imersão em álcool 70% durante 30 segundos; 5) imersão em água destilada esterilizada; 5) imersão em hipoclorito de sódio 2,0% durante 10 minutos intercalado com lavagem em água destilada esterilizada.

Os segmentos foliares foram seccionados e inoculados em meio MS (Murashige e Skoog) 100%, 0,3% de sacarose, 0,6% de ágar e pH ajustado para $5,8 \pm 0,2$, antes da autoclavagem, acrescidos das doses de 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L^{-1} de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético). Foram distribuídos quatro mL de meio de cultura nos frascos, medindo em torno de 5 cm x 2 cm, e posteriormente fechados com papel alumínio.



As culturas foram mantidas em sala de crescimento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e submetidas a dois regimes de luz: fotoperíodo de 16 horas (densidade de fluxo de fótons de ± 1500 lux, fornecida por lâmpadas fluorescentes branco-frias) e escuro contínuo. As avaliações da calogênese foram feitas a cada sete dias, começando 15 dias após o início do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 25 repetições por tratamento. Como a variável analisada é qualitativa e não quantitativa, os tratamentos foram comparados dois a dois pelo teste não paramétrico Qui-quadrado a $p \leq 0.05$.

Resultados e discussões

As culturas submetidas ao fotoperíodo de 16 horas apresentaram 100% de oxidação dos explantes e não formaram calos. Estes resultados divergem com os obtidos por Nogueira et al. (2007) onde segmentos foliares da espécie medicinal *Byrsonima intermedia* A. Juss. (Murici pequeno) formaram calos na presença de luz. Também na presença de luz, estudos realizados por Castro et al. (2009), mostraram que a calogênese da espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão), pertencente à família Fabaceae, iniciou 15 dias após a inoculação em meios suplementados com 2,4-D (0; 4,52; 9,05; 18,10 μM), porém na presença de luz. Em estudo similar realizado por Sado, (2009), em *Senna spectabilis* (DC) também pertencente à família Fabaceae, diferentes concentrações de 2,4-D (0;0,12; 0,25; 0,5; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0) também influenciaram na formação e diferenciação de calos.

No presente estudo, nas culturas mantidas no escuro contínuo houve formação de calos em todas as doses de 2,4-D. Embora o tratamento com 2,0 mg.L^{-1} de 2,4-D (T3), submetido ao escuro contínuo, tenha iniciado a formação de dois calos antes dos demais (35 dias após a inoculação) (Figura 2), a dose de 4,0 mg.L^{-1} de 2,4-D (T4) foi a que propiciou o maior número de explantes com calos (13), sendo que esses iniciaram a partir da sexta semana de avaliação (Figura 1), apesar de diferir do T3 apenas na última avaliação realizada. Já o T2 formou calos a



partir da oitava semana de avaliação apresentando um avanço, chegando a ser superior ao T3, porém não o suficiente para ser significativo. Quanto ao tratamento controle (T1), este formou calo, porém com baixa ocorrência (dois), diferindo significativamente do T4 em todas as avaliações (Figura 3).

Grattapaglia e Machado (1990) relatam que o 2,4-D é um dos reguladores de crescimento mais eficazes na indução de calos. Segundo George, (1996), o 2,4-D induz à transcrição de moléculas de RNA mensageiro capazes de codificar proteínas importantes para o crescimento e que podem induzir à proliferação celular desordenada, contudo, as divisões celulares iniciais do explante e o crescimento dos calos são, algumas vezes, inibidos pela presença de luz.

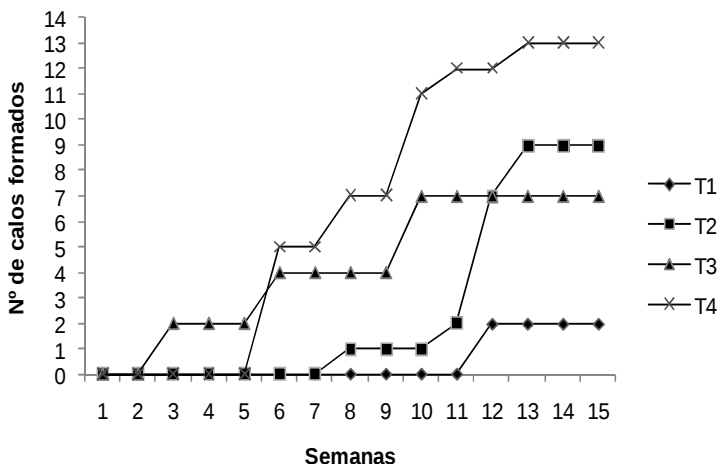


Figura 1 – Velocidade de formação de calos formados em explante foliar de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) submetidos a diferentes doses de 2,4-D, constituindo os tratamentos: T1 (0,0 mg.L⁻¹ 2,4-D), T2 (1,0 mg.L⁻¹ 2,4-D), T3 (2,0 mg.L⁻¹ 2,4-D) e T4 (4,0 mg.L⁻¹ 2,4-D) e mantidos em escuro contínuo a temperatura de ± 25 °C. Foram utilizadas 25 repetições por tratamento.

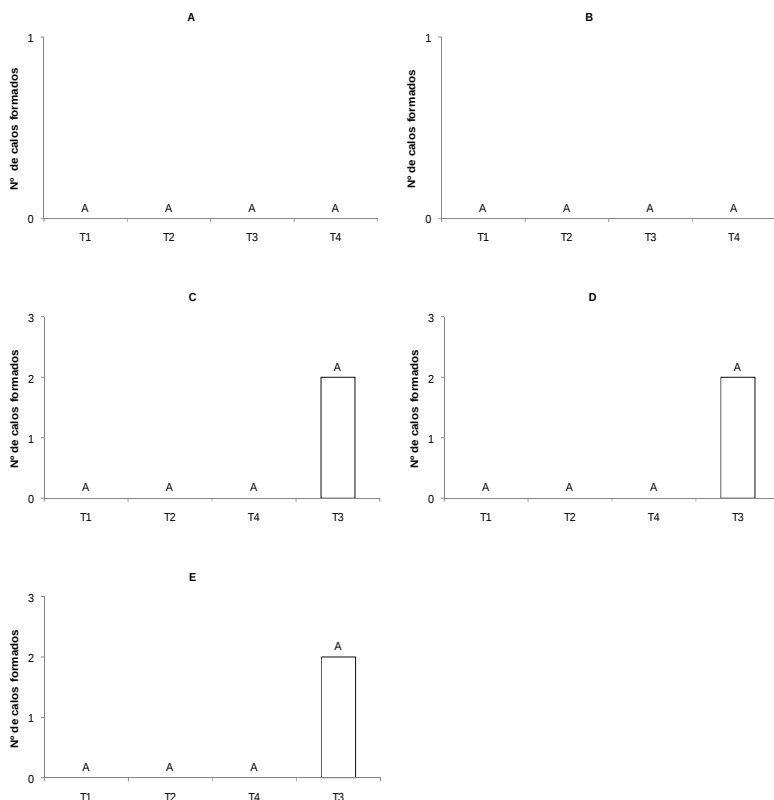


Figura 2 - Número de calos formados em explante foliar de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) submetidos a diferentes doses de 2,4-D, constituindo os tratamentos: T1 (0,0 mg.L⁻¹ 2,4-D), T2 (1,0 mg.L⁻¹ 2,4-D), T3 (2,0 mg.L⁻¹ 2,4-D) e T4 (4,0 mg.L⁻¹ 2,4-D) e mantidos em escuro contínuo a temperatura de ± 25 °C. Foram utilizadas 25 repetições por tratamento. As letras A, B, C, D, E, representam respectivamente a primeira até a quinta avaliação. Tratamentos seguidos da mesma letra não diferem pelo Teste Qui-quadrado a $p \leq 0.05$.

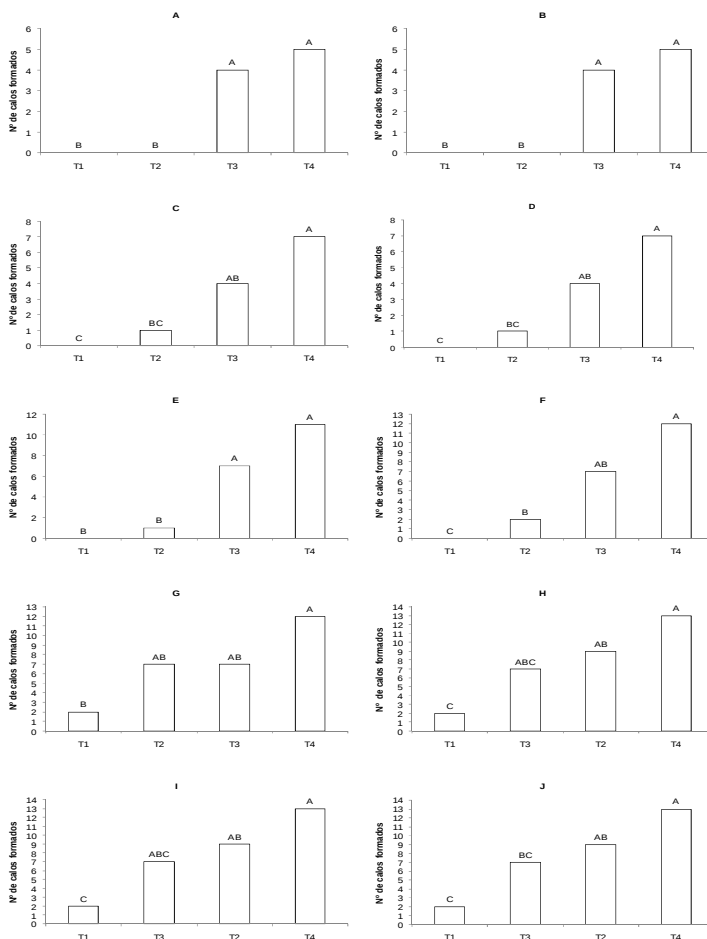


Figura 3 - Número de calos formados em explante foliar de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) submetidos a diferentes doses de 2,4-D, constituindo os tratamentos: T1 (0,0 mg.L⁻¹ 2,4-D), T2 (1,0 mg.L⁻¹ 2,4-D), T3 (2,0 mg.L⁻¹ 2,4-D) e T4 (4,0 mg.L⁻¹ 2,4-D) e mantidos em escuro contínuo a temperatura de ± 25 °C. Foram utilizadas 25 repetições por tratamento. As letras A, B, C, D, E, F, G, H, I e J, representam respectivamente a sexta até a décima quinta avaliação. Tratamentos seguidos da mesma letra não diferem pelo Teste Qui-quadrado a $p \leq 0.05$.



Conclusão

A dose de 4,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D proporciona a formação de 13 calos, sendo essa a melhor resposta em segmentos foliares de *Casearia sylvestris* Sw., submetidos ao escuro contínuo. Segmentos foliares de *Casearia sylvestris* Sw. submetidos ao fotoperíodo de 16 horas, mesmo com a presença do fitorregulador 2,4-D, não formam calos e apresentam oxidação.

Referências

- CALDAS, L. S. et al. Meios Nutritivos. IN: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa- CNPH. v.1 . p 87-132, 1998.
- CASTRO, A. H. F. et al. Calogênese e teores de fenóis e taninos totais em barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2 , p. 385-390, mar./abr., 2009.
- CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das espécies cultivadas**. Brasília: Ministério da Agricultura/ IBDF; 1975. p. 514-516.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1, the technology**. 2 Edington: **Exegetics**, 1996. 1574 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. Cap. 2. p. 99-169.
- HOEHNE, F. C. **Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais**. São Paulo: **Graphicars**; 1939. p.196-199.
- JUNGES, M. J.; SCHENKEL, E. P.; SIMÕES, C. M. O. Flavonóides da *Casearia sylvestris* Sw. (erva de bugre). **Cad Farm.**; v. 1, n. 2, p. 95-101, 1985.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2ª edição: Nova Odessa SP: **Instituto Plantarum**, 2002, 384p.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª edição: Nova Odessa SP: **Instituto Plantarum**, 2008. 544p.



NOGUEIRA, R.C. et al. Indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 366-370, mar./abr., 2007.

RODRIGUES, F. R.; ALMEIDA, W. A. B. Calogênese em *Cissus sicyoides* L. a partir de segmentos foliares visando a produção de metabólitos *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.12, n. 3, p. 333-340, 2010.

SADO, M. **Efeito do 2,4-D na calogênese de *Senna spectabilis* (DC) Irwin et Barn (Leguminosae) e seus compostos de reserva**. 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado) - São Paulo, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2009.

TORRES, R. B.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacq. (*Flacourtiaceae*) do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 9, p. 239-58, 1986.

VENTURIERI, G. A.; VENTURIERI, G. C. Calogênese do híbrido *Theobroma grandiflorum* x *T. obovatum* (Sterculiaceae). **Acta Amazônica**, v. 34, n. 4, p. 507-511, 2004.



IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES COM ÊNFASE NA IMPLANTAÇÃO DE CULTURA DE TECIDOS, PARA ESPÉCIES POTENCIAIS E DE MAIOR VALOR SÓCIO-AMBIENTAL DA MATA CILIAR DO RIO VACACAÍ, SÃO GABRIEL/ RS

COSTELLA, E.^{1*}; AVILA, C.B.²; GINDRI, A.C.O.³; COSTELLA, F.⁴;
STEFENON, V.M.⁵

^{1*, 2, 3} Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. ^{1*} eduardocostella@gmail.com; calincaflorestal@gmail.com; anagindri@gmail.com

⁴ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, RS, Brasil. ^{*} costellafernando@hotmail.com

⁵ Biólogo, Pós- Doutorado, Recursos Genéticos Florestais, Professor Adjunto no Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil. ^{*} valdirstefenon@unipampa.edu.br

Resumo

O êxodo rural e o crescimento desordenado das cidades provocaram o avanço do processo de degradação das áreas urbanas de preservação, como ocorreu no município de São Gabriel /RS, este se situa as margens do Rio Vacacaí. Então foram realizados questionários etnobotânicos junto à população ribeirinha, sendo entrevistado um total de 40 pessoas, a fim de correlacionar a valorização de uma espécie pela população local bem como estado de conservação das espécies. O questionário constou de questões relacionadas às espécies de maior ocorrência, sua utilização, espécies consideradas prejudiciais ou novas na mata ciliar, expondo a importância da flora local. Foi identificado um total de 34 espécies arbóreas. Quatro categorias de uso foram identificadas as espécies: lenha, fruto, medicamentos e produtos de madeira. As três espécies mais importantes foram *Blepharocalyx salicifolius*, *Eugenia uniflora* e *Salix babylonica*. O inventário fitossociológico sugere que a exploração antrópica das matas ciliares está levando algumas espécies à ameaça de locais e / ou extinção. O uso da propagação *in vitro* de plantas, a criopreservação de tecidos e materiais de reprodução, e a caracterização da diversidade genética dos fragmentos florestais podem ajudar na melhoria dos programas de recuperação e reflorestamento das matas ciliares da região.



Palavras-chave: Etnobotânica. Germoplasma. Conservação genética.

Introdução

A biodiversidade é uma das propriedades essenciais do ambiente e um fator chave para a adaptabilidade dos organismos vivos. Essa capacidade de adaptação é crucial para a sobrevivência das espécies e dos ecossistemas sob um cenário de mudanças climáticas muito rápidas, principalmente considerando a interferência antrópica nos ambientes, a partir de um processo de ocupação irregular e de certa forma descontrolada dos centros urbanos. Essa ocupação resultou na exploração dos recursos naturais existentes, incluindo áreas de proteção ambiental, como as matas de galeria.

No estado do Rio Grande do Sul as cidades também estão sofrendo com este evento, isto ocorre principalmente na região que compreende o Pampa Brasileiro. Esta região está situada dentro da Zona Temperada do Sul e possui climas subtropicais e temperados com uma diferenciação clara entre uma recepção calorosa e uma estação fria, sendo por isso classificados como Estepe (Ibge, 2004). O Pampa brasileiro está localizado entre as latitudes 28 ° 00 'S e 34 ° 00' S e longitude 49 ° 30 'W e 58 ° 00' W, ocupando uma área de 63% do estado do Rio Grande do Sul. Segundo Roesch et al. (2009), é considerado um bioma naturalmente frágil.

Diante da questão levantada alguns municípios se destacam apresentando problemas socioambientais de maior impacto, avaliados a partir de levantamentos realizados diretamente nas regiões afetadas, destacando-se o município de São Gabriel que possui como principal recurso hídrico o Rio Vacacaí, sendo este explorado com fins econômicos. Dados históricos de São Gabriel relatam que as margens do rio sempre foram exploradas e modificadas sem o devido cuidado com as questões ambientais. Por esta razão, é de fundamental importância o trabalho de identificar os recursos vegetais de maior valor para a região e estudar a interação das comunidades ribeirinhas com o mundo vegetal em suas dimensões antropológica, ecológica e botânica, ressaltando a importância



para a preservação e conservação deste ecossistema, além de manter o sustento dos moradores da região, de uma maneira sustentável.

Este artigo objetivou realizar um estudo etnobotânico junto à população ribeirinha da extensão urbana do rio Vacacaí, além de entender a importância do rio para a população e identificar os usos das principais espécies arbóreas da região, bem como avaliar as condições de material disponível para implantação e manutenção das espécies em bancos de germoplasma, buscando manter a diversidade genética remanescente.

Metodologia

A área de estudo foi à bacia do Rio Vacacaí no Município de São Gabriel/ RS.



Figura 1 - Localização da área de estudo.

Foram aplicados questionários etnobotânicos semi-estruturados junto aos ribeirinhos, sendo entrevistadas 40 pessoas em quatro localidades diferentes, a fim de correlacionar a valorização de uma espécie pela população local com o estado de conservação desta espécie.



O questionário constou de questões relacionadas às espécies de maior ocorrência, sua utilização, bem como espécies consideradas prejudiciais ou novas na mata ciliar (Quadro 1), expondo a importância da flora local, com concomitante realização de coletas de material vegetativo para a confecção de exsicatas e conservação genética das espécies *in vitro*, material este que se encontra no laboratório de cultura de tecidos da Universidade Federal do Pampa – Campus São Gabriel.

Resultados e discussões

Foram citadas 34 diferentes espécies de plantas pelos entrevistados. A vegetação arbórea é utilizada pela comunidade ribeirinha para diversas finalidades como: para lenha, para fabricação de cabos de ferramentas, uso medicinal, para coleta de frutos e em alguns casos como ornamental. Pode-se constatar que existem espécies que se encontram em toda a extensão da mata ciliar.

A espécie mais citada é o *Cephalanthus glabratus* (Sarandi), considerada prejudicial por 95% dos entrevistados, por estar obstruindo o leito e as margens do rio (Fig. 2), mudando assim o curso das águas e aumentando as áreas de inundação nos tempos de cheia.

Os possíveis responsáveis pela rápida propagação do *C. glabratus* seriam a alta concentração de matéria orgânica e coliformes fecais presentes na água, devido a presença do esgoto da cidade. Outro fator que possivelmente contribui para a rápida disseminação do *C. glabratus* nessa região é o problema ocasionado pela água fértil que é retirada do cultivo do arroz e liberada diretamente no leito do rio ao decorrer de sua extensão.

A dispersão de galhos pelo leito do rio devido ao corte de plantas da margem ou do leito acaba por gerar novos “bancos de sarandi no leito do rio” (Fig. 3), acelerando o processo de obstrução do leito navegável do mesmo. Ao mesmo tempo, observa-se a mudança do nível do rio. Assim, com o leito do rio sempre baixo o sarandi passou a se fixar no chão com mais facilidade, também não está mais sofrendo com períodos que em,



tempos passados, se encontrava recoberto pela água, que fazia com que ocorresse diminuição do seu metabolismo e redução de sua proliferação.

Quadro 1 - Espécies no local de estudo.

Nome	Utilidades	Nº de citações	Extinta	Nova	Prejudicial
Açai-do-mato	Chá	1	-	-	-
Açoita-cavalo	Lenha	10	-	-	-
Amarilho	Lenha	16	-	-	-
Amoreira	Chá/Lenha/Fruto	1	-	-	-
Angico-vermelho	Moirão	16	-	-	-
Aroeira-vermelha	Chá/Lenha	13	-	-	-
Branquilho	Lenha	19	-	-	-
Buchicho	Chá	1	-	-	-
Buriti	Não citada	2	-	-	-
Camboatá	Lenha	3	-	-	-
Cambui	Lenha	18	-	-	-
Canela	Lenha	2	-	-	-
Cancorosa	Não citada	1	-	-	-
Cedro	Chá	1	1	-	-
Cinamomo	Lenha	1	-	-	-
Corunilha	Chá/Lenha	18	-	-	-
Espinilho	Lenha	1	-	-	-
Eucalipto	Lenha/Remédio	6	-	-	-
Guabiroba	Chá	15	-	1	-
Guajuvira	Lenha	12	-	-	-
Inga	Fruto	1	-	-	-
Mamica-de-cadela	Lenha	17	-	-	-
Maricá	Chá	4	-	-	-
Marmeleiro	Chá/Lenha	16	-	-	-
Murta	Chá/Lenha	29	-	-	-
Pata-de-vaca	Chá	1	-	-	-
Pau-de-leite	Lenha	1	-	-	-
Pau-ferro	Lenha	1	-	-	-
Pitangueira	Chá/Lenha/Fruto	32	-	-	-
Salgueiro	Lenha	2	-	-	-
Salso-chorão	Lenha	20	1	2	1
Sarandi	Lenha	17	-	24	35
Tarumã	Poste para cerca	9	20	-	-
Veludinho	Chá/Lenha/Fruto	2	-	-	-



Figura 2 - Obstrução do leito do rio por *Cephalanthus glabratus*.



Figura 3 - Enraizamento de galhos de *Cephalanthus glabratus*.

Visando a conservação genética das espécies foi coletado o material das que apresentavam condições ideais que possibilitavam



caracterizar a espécie, bem como estabelecer a cultura de tecidos das seguintes espécies, *Blepharocalyx salicifolius*, *Zanthoxylum rhoifolium*, *Eugenia uniflora* e *Eucalyptus citriodora*, sementes, gemas apicais e axilares foram coletadas para o desenvolvimento de cultura de tecido *in vitro* (Fig. 4A e 4B).



Figura 4 - Coleta de material vegetativo para exsiccata e cultura de tecidos (A); material do banco de germoplasma *in vitro* (B).

Outro dado importante é o desaparecimento da espécie *Vitex megapotamica* (Tarumã), que sempre foi usada pelos moradores devido à madeira de alta qualidade e resistência, esta associada à falta de informação em termos de manutenção e reposição da espécie, talvez seja o principal motivo para o seu desaparecimento. A partir deste contexto observa-se a importância de se buscar a manutenção da diversidade genética para que todas as espécies voltem a colonizar toda a extensão da mata ciliar que abrange o estudo e as mesmas estejam disponíveis para a população como um todo.

Conclusão

A partir da realização estudo etnobotânico junto à população ribeirinha da extensão urbana do Rio Vacacaí, pode-se concluir que a mesma é de fundamental importância para a população em termos de



geração de renda, porém o uso de algumas espécies foi feito de forma intensiva, sem os devidos cuidados com o manejo para sua manutenção, em contrapartida algumas espécies presentes não tem grande importância sendo pouco úteis e assim passando a predominar no local podendo ser consideradas prejudiciais. Observando ainda a existência de espécies com material em condições de manter a diversidade genética, a manutenção dessas espécies ainda presentes passa a ser uma peça chave para a manutenção da diversidade, sendo necessário um plano de manejo onde se realize coleta de sementes ou partes vegetativas para produção de mudas enfatizando a recuperação da área, conservação e propagação *in vitro* para garantir a existência destas espécies no futuro e a recuperação da mata ciliar com espécies nativas.

Referências

IBGE. 2004. Vocabulário Básico de Recursos Naturais e Meio Ambiente. 2ª ed. Rio de Janeiro-RJ. Brasil, 332p.

Roesch et al. **The Brazilian Pampa: A Fragile Biome** *Diversity*, 1 (2), 182-198, 2009.



CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE NA RIZOGÊNESE *IN VITRO* DE ÁPICES CAULINARES DE CANAFÍSTULA - *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert

LEÓN, E.A.B.^{1*}; REINIGER, L.R.²; BASSAN, J.S.³; CURTI, A.R.¹; PEREIRA, M.O.⁴

¹ Doutorando. Bolsista CAPES/CNPq – IEL Nacional – Brasil. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * ebenitezleo@yahoo.com

² Doutora. Professora, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga. Mestre em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

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

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de concentrações de sacarose na rizogênese *in vitro* de segmentos apicais caulinares de canafístula. Os explantes foram provenientes da regeneração de nós cotiledonares e foram cultivados durante 35 dias em meio nutritivo MS acrescido de concentrações variáveis de de sacarose (10; 20; e 30 g L⁻¹). Foram avaliados o número de explantes que formaram raiz e o número de explantes que formaram calos na base. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições de quatro explantes. As diferentes concentrações de sacarose não apresentaram efeito significativo sobre a formação de raiz e de calos, não sendo formadas raízes em nenhum dos tratamentos e verificando-se reduzida calogênese na base dos segmentos apicais caulinares de canafístula. A redução na concentração de sacarose não apresenta efeito na rizogênese em segmentos apicais caulinares de canafístula.

Palavras-chave: Cultura de Tecidos. Segmentos apicais caulinares. Fator de enraizamento.



Introdução

A cultura de tecidos destaca-se entre os métodos clássicos de propagação vegetativa, por necessitar de menor espaço físico e pelo fato de poder ser desenvolvida em qualquer época do ano. Na área florestal, em particular, pode ser empregada na conservação de germoplasma *in vitro*, na aceleração dos programas de melhoramento, pela multiplicação de clones superiores, visando à produção de mudas, rejuvenescimento de clones selecionados na fase adulta; dentre outros (Xavier et al., 2009).

Uma das limitações da cultura de tecidos tem sido o enraizamento das partes aéreas regeneradas *in vitro*, principalmente em espécies lenhosas. Os maiores obstáculos envolvidos no processo de formação de raízes adventícias residem na dificuldade de isolar e caracterizar os fatores que controlam este fenômeno, em virtude de sua complexidade e da grande interação existente entre eles (Assis e Teixeira, 1998).

A redução na concentração de sais do meio nutritivo, as condições de cultivo (especialmente luminosidade e temperatura), as características genótípicas dos explantes, a composição dos meios nutritivos utilizados nos subcultivos anteriores e baixas concentrações de sacarose são fatores que podem ser testados no sentido de otimizar a rizogênese (Grattapaglia e Machado, 1998). Nos meios de enraizamento, as concentrações de sacarose, a fonte de carbono exógeno mais utilizado na micropropagação (George e Sherrington, 1984), variam de 2 (20 g L⁻¹) a 3% (30 g L⁻¹), as mesmas empregadas nos meios de multiplicação (Grattapaglia e Machado, 1998), e é possível que sua redução para 1% favoreça o enraizamento em canafístula.

Da mesma maneira, a formação de calos na base de segmentos nodais, apicais caulinares ou brotações é muito comum em espécies lenhosas. Quantidades excessivas de auxina e sacarose podem estimular a formação de calos na base dos explantes, comprometendo a rizogênese e o crescimento da parte aérea (Grattapaglia e Machado, 1998). Em outro estudo realizado com canafístula, a formação de calos na base dos explantes cuja ocorrência foi considerada comprometer a rizogênese (Kirst



e Sepel, 1996).

Peltophorum dubium, comumente conhecida como canafistula, é uma espécie que está incluída na lista de espécies consideradas em extinção. É uma planta heliófita, pioneira, recomendada para o uso na construção civil, marcenaria, arborização de cidades, bem como para o reflorestamento de áreas degradadas (Lorenzi, 1992). É considerada promissora por apresentar valor econômico comprovado, em função da qualidade da madeira. O seu crescimento é rápido, o que torna a espécie apta à regeneração artificial (Carvalho, 1994). Nesse sentido, a cultura de tecidos pode ser empregada para a produção de mudas de elevada qualidade genética, fisiológica e sanitária de canafistula. Entretanto, um dos principais entraves nesse processo consiste na dificuldade de enraizar as partes aéreas obtidas na cultura de tecidos.

A canafistula é uma espécie florestal, nativa e com ampla dispersão geográfica desempenhando um papel pioneiro nas áreas abertas, em capoeiras e matas degradadas (Carvalho, 2003; Marchiori, 1997).

Face aos expostos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de concentrações de sacarose na rizogênese *in vitro* de segmentos apicais caulinares de canafistula.

Metodologia

Foram utilizados como explantes segmentos apicais caulinares de canafistula provenientes de regeneração de nós cotiledonares com três semanas de cultivo em meio nutritivo MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mio-inositol. Após o isolamento, os segmentos apicais caulinares foram inoculados, sob condições assépticas, em meio nutritivo MS acrescido de diferentes concentrações de sacarose (10; 20; ou 30 g L⁻¹), conforme o tratamento, e 100 mg L⁻¹ de mio-inositol. O pH foi ajustado para 5,7 antes da inclusão do ágar, na concentração de 7 g L⁻¹. Posteriormente, o meio nutritivo foi autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 15 minutos. Os frascos, contendo os explantes inoculados, foram dispostos na sala de cultivo sob temperatura



de 25 ± 3 °C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias tipo luz do dia.

O experimento foi distribuído em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por quatro unidades experimentais. A unidade experimental foi composta por um frasco de vidro com capacidade para 150 ml, contendo 30 ml de meio nutritivo e um explante cada, sendo vedados com uma película plástica de polivinilcloreto (PVC). Após 35 dias de cultivo foram avaliados o número de explantes com formação de raiz e de calo na base.

Os dados foram analisados pelo teste de qui-quadrado. Quando foi rejeitada a hipótese nulidade (H_0) procedeu-se, adicionalmente, à análise de resíduos padronizados, conforme Pereira (2001), para identificar as frequências observadas que desviaram significativamente das frequências esperadas.

Resultados e discussões

As diferentes concentrações de sacarose não apresentaram efeito significativo no número de explantes que enraizaram, assim como também não teve efeito significativo na formação de calos na base. Não foram formadas raízes em nenhum tratamento, sugerindo que a redução na concentração de sacarose geralmente utilizada (30 g L^{-1}), isoladamente, não foi capaz de induzir o enraizamento em canafístula. É possível que a indução desse processo nesta espécie necessite da associação de uma série de fatores de enraizamento.

Em citros, Pio et al. (2002) obtiveram melhores resultados para o número de raízes com o emprego da combinação de 6 mg L^{-1} de AIB e 30 g L^{-1} de sacarose em meio nutritivo MS, já para o comprimento médio das raízes a associação de 6 mg L^{-1} de AIB e 60 g L^{-1} de sacarose foi mais bem sucedida. Por outro lado, em porta-enxerto de pereira a presença de sacarose no meio nutritivo MS afetou o enraizamento, sendo o maior percentual obtido com 20 g L^{-1} do carboidrato, enquanto que a formação de raízes secundárias, de 80% em 30 g L^{-1} , reduziu-se para zero na ausência de sacarose (Leite et al., 2000).



Segundo Nemeth (1986) ocorre uma interação do nível de carboidratos com o nível hormonal endógeno. Para Bhojwani e Razdan (1986), a diferenciação em tecidos vasculares é afetada pela presença de auxinas e sacarose, e o efeito da auxina na diferenciação de tecidos vasculares está relacionado com a presença de sacarose. Houve reduzida formação de calos na base dos segmentos apicais caulinares de canafístula (Tabela 1), indicando que as concentrações de sacarose testadas não têm efeito na calogênese em segmentos apicais caulinares de canafístula.

Tabela 1 – Teste qui-quadrado para número de explantes com calos na base dos segmentos caulinares apicais de canafístula, após 35 dias de cultivo *in vitro* em meio nutritivo MS acrescido de diferentes concentrações de sacarose. UFSM, Santa Maria – RS.

Sacarose	Número de explantes com formação de calo		
	Presente	Ausente	Total
10 g L ⁻¹	5	13	18
20 g L ⁻¹	6	14	20
30 g L ⁻¹	3	16	19
Total	14	43	57

$$\chi^2=5,99^{ns}, g.l.=2$$

^{ns} Não significativo.



Conclusão

As diferentes concentrações de sacarose adicionadas ao meio nutritivo MS não têm efeito na rizogênese em segmentos apicais caulinares de canafístula.

Referências

ASSIS, T. F., TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. (eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, p. 261-296, 1998.

BHOJWANI, S. S., RAZDAN, M. K. **Plant tissue culture: theory and practice**. Amsterdam: Elsevier, 1986, 767p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Colombo, PR: EMBRAPA FLORESTA, 2003. 1.039p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPq; Brasília: EMBRAPA– SPI, 1994. 640 p.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exetetics, 1984.

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, 1998. v. 1. p183-260.

KIRST, M.; SEPEL, L.M.N. Micropropagação de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert a partir de ápices caulinares de plântulas. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMAS NATURAIS DO MERCOSUL, 1., 1996, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1996. p.141-146.

LEITE, G.B., FINARDI, N.; FORTES, G.R.L. Efeitos de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento *in vitro* de porta-enxerto de pereira OHxF97. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v.24, n.2, p353-357, 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 161p.

MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das angiospermas: leguminosas**. Santa Maria: UFSM, 1997. 200p.



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

NEMETH, G. Induction of rooting. In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.). **Biotechnology agriculture and forestry I**, Berlin: Springer-Verlag, 1986.

PEREIRA, J.C.R. **Análise de dados qualitativos: estratégias metodológicas para as ciências da saúde, humanas e sociais**. 3 ed. São Paulo: EDUSP/FAPESP, 2001. 160 p.

PIO, R., RAMOS, J. D., PIO, L. A. S., MENDONÇA, V., SILVA, A. B. da, PASQUAL, M. Enraizamento *in vitro* de brotações de porta-enxerto de citros *Tangerina sunki* x *trifoliata english* 63-256 como uso de sacarose e ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 66-70, 2002.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; DA SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa. **Universidade Federal de Viçosa**, 2009. 272 p.



RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE BATATA (*Solanum tuberosum*) À FÓSFORO EM SISTEMA DE PROPAGAÇÃO *IN VITRO* E *EX VITRO*

SCHAICH, G.^{1*}; FARIAS, J. G.²; SAUSEN, D.³; CASTRO, Y G.⁴;
NICOLOSO, F.T.⁵

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

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

³ Engenheira Agrônoma, Mestranda, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

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

Resumo

A restrição de fósforo (P) às plantas é um dos principais fatores limitantes à produtividade das culturas, sendo que a identificação e/ou desenvolvimento de plantas eficientes na absorção e utilização de P parece ser uma alternativa promissora. A pesquisa tem buscado soluções através do uso da seleção de materiais vegetais através de propagação *in vitro*, a qual promove uma avaliação em curto prazo e utilizando pouco espaço físico. O objetivo deste trabalho foi verificar diferenças de comportamento para a eficiência de uso e resposta ao P em 13 clones de batata (*Solanum tuberosum* e *S. microdontum*) cultivados *in vitro* e *ex vitro*, bem como relacionar características ligadas a estas habilidades aos diferentes sistemas experimentais. Aplicaram-se as concentrações de 10 e 100% da concentração padrão de P do meio MS para avaliação da propagação *in vitro*, e em hidroponia com areia, para avaliação *ex vitro*. Determinaram-se variáveis de crescimento e índices de eficiência de uso e resposta ao P. Os dados foram submetidos à análise multivariada de componentes principais. Foi verificada ampla variação no comportamento entre os clones de batata testados, bem como a formação de grupos distintos em ambos os sistemas experimentais, existindo uma relação entre a eficiência de uso em baixo P no cultivo *in vitro* com a eficiência de resposta ao P em cultivo *ex vitro*.



Palavras-chave: Hidroponia. Eficiência de uso. Propagação vegetativa. Tubérculo.

Introdução

No Brasil, a batata é a hortaliça mais importante, com uma área de plantio de 147,8 mil ha e rendimento médio de 24,03 t ha⁻¹, no ano de 2007, sendo os estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Bahia e Santa Catarina responsáveis por mais de 95% da produção nacional são (IBGE, 2008).

O P é o elemento que promove maior incremento na produtividade da batata através do estímulo à formação de tubérculos, apressando a maturação e aumentando a incidência de tubérculos graúdos (Prezotti et al., 1986). O P é componente vital de inúmeras macromoléculas e também parte integrante do metabolismo energético da fotossíntese, respiração e transporte transmembrana (Raghothama; 1999). O processo de aquisição de P pela planta é dificultado em função da sua concentração na solução do solo ser baixa (Hinsinger, 2001), além disso as plantas de batata possuem sistema radicular reduzido em comparação com outras espécies vegetais, outro fator limitante na absorção de Pi. Alternativamente à aplicação de fertilizantes fosfatados, este obstáculo à produção vegetal pode ser vencido pelo desenvolvimento de plantas eficientes na absorção, uso e resposta ao P.

Respostas fisiológicas da batata ao P: eficiência de uso e responsividade

Em vista da alta demanda de produção de batata muitos genótipos têm sido estudados quanto à produtividade e à qualidade de tubérculos para processamento industrial (Bisognin et al., 2008). Diversas variáveis condicionam o desempenho da planta de batata, dentre as manipuláveis pelo homem, o manejo nutricional é um dos mais importantes (Westermann; Davis, 1992). Bregagnoli et al. (2004) verificou que cultivares de batata possuem respostas diferentes entre si para a absorção de nutrientes, o que confere papel fundamental à obtenção de matéria-



prima de qualidade e alta produtividade, sendo as exigências nutricionais variáveis conforme o estágio de desenvolvimento da batata.

A forma de P mais rapidamente absorvida pela planta é o fosfato inorgânico (Pi). Desta forma, o P orgânico existente no solo deve ser hidrolisado para que possa ocorrer a absorção (Raghothama, 1999). A importância do P orgânico do solo como uma fonte de P disponível às plantas depende, dessa forma, de sua taxa de solubilização e da taxa de P inorgânico liberado. Nesse sentido, vários tipos de enzimas do tipo fosfatases são capazes de aumentar a taxa de desfosforilação (hidrólise) de P orgânico no solo, liberando Pi às plantas (Yadav; Tarafdar, 2003) e assim promovendo incremento na produção de fitomassa.

Em se tratando do P, Gerloff (1976) considera que plantas eficientes são aquelas que produzem maior quantidade de matéria seca por unidade de P absorvido. Já Föhse et al. (1988) definiram a eficiência para P como sendo a habilidade de uma planta em produzir certa porcentagem de sua produção máxima com certo nível de P no solo.

O comportamento diferenciado no uso e resposta ao P em sistema de cultivo *in vitro*, o qual permite o controle rigoroso das condições experimentais, parece ser uma alternativa viável devido ao curto período de tempo e ao pequeno espaço físico exigido para o cultivo das plantas. Entretanto, como nesse sistema as plantas são avaliadas apenas na sua fase inicial do desenvolvimento vegetativo, sem que ocorra a tuberização, torna-se necessária a posterior verificação dos resultados em sistemas experimentais de cultivo *ex vitro*, o qual permite a avaliação do desempenho das respostas da planta através da tuberização.

Metodologia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal (Departamento de Biologia) e no telado do Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas (Departamento de Fitotecnia) pertencentes à Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS. Foram utilizados 13 clones de batata (SMIC148-A, Dakota Rose,



SMINIA793101-3, SMIB106-7, SMIE040-6RY, SMIF212-3, SMIF313-3 e SMIG145-1, *Solanum microdontum*, SMID040-4RY, SMIG274-3, SMIJ319-7 e SMIJ456-4Y) oriundos do Programa de Genética e Melhoramento de Batata da Universidade Federal de Santa Maria. Para o experimento *in vitro*, explantes caulinares de 1,0 cm 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 agar,. Aplicaram-se as concentrações de 10% (3,869 mg P L⁻¹) e 100% (38,693 mg P L⁻¹) da concentração padrão de P do meio MS. A unidade experimental constituiu-se em sete tubos de ensaio, cada um contendo 10,0 mL de meio de cultivo e um explante, com três repetições, mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 35 μmol m⁻² s⁻¹. As plantas foram coletadas para análise no momento em que 10% das plantas por clone, de algum dos tratamentos de P, atingissem o topo do tubo. Avaliaram-se a altura de planta, número de folhas, comprimento total radicular (segundo o método de Tennant (1975)) e massa seca radicular e de parte aérea.

No experimento *ex vitro*, plantas oriundas da propagacao *in vitro* em meio de cultivo MS foram aclimatizadas em bandejas plásticas contendo areia como substrato por dezoito dias em casa de vegetação e após foram transferidas para piscinas de cultivo hidropônico em telado, no período de safra e safrinha com duas doses de P (10 e 100% da concentração padrão de P da solução nutritiva segundo Andriolo (2006), as quais correspondem 4,64 e 46,46 mg L⁻¹). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições.

As plantas foram avaliadas ao fim do ciclo (90 dias na safrinha e 64 na safra), sendo avaliados massa fresca total e média de tubérculos e o número de tubérculos por planta.

Para a confecção dos gráficos utilizou-se os dados da análise multivariada de componentes principais (PCA) pelo programa Canoco 4.5. Em função dos experimentos terem sido realizados em diferentes condições experimentais, para compará-los, realizou-se a transformação



dos dados através de ranqueamento para cada um dos experimentos, dentro de cada variável, em uma escala variando de 1 a 5. O valor médio dos parâmetros avaliados corresponde à escala de número 2,5, sendo 1 o número correspondente ao menor valor do parâmetro avaliado e 5 o maior valor.

Resultados e discussões

Observou-se formação de grupos em ambos os sistemas experimentais, tanto na avaliação de eficiência de uso como na eficiência de resposta ao P, onde se observou ampla variabilidade entre os genótipos. Na análise referente à eficiência de uso em baixo P no sistema de cultivo *in vitro* (Figura 1-A) verificaram-se três grupos distintos, um agrupando genótipos às variáveis relacionadas à parte aérea e outros dois ao sistema radicular. Os genótipos F e T mostraram-se destacadamente relacionados à massa seca e comprimento de raízes. Já o genótipo L relacionou-se aos parâmetros de parte aérea e de raízes. Os genótipos C e D relacionaram-se a parâmetros da parte aérea, tanto na eficiência de uso em cultivo *in vitro* (altura de planta, massa seca da parte aérea e número de folhas) como na eficiência de resposta ao P em cultivo *ex vitro* (massa média de tubérculo e total de tubérculos por planta) (Figura 2-B). Aqueles genótipos (T e F) agrupados pela massa seca e o comprimento radicular em cultivo *in vitro* não se relacionaram com nenhum grupo no cultivo *ex vitro*, podendo ser considerados não responsivos. Do ponto de vista agrônômico esses dados têm um impacto direto na escolha do material a ser cultivado, uma vez que têm se buscado plantas com alta resposta em produção de tubérculos. Interessantemente, a eficiência de uso do P em condições de baixo P em cultivo *ex vitro* (Figura 2-A) coloca os genótipos F, M e D como eficientes tanto para massa média como para massa total de tubérculos. Já os genótipos T e L, cultivados na safrinha, encontram-se no grupo de eficiente no uso quanto ao número de tubérculos, mas não se relacionaram quanto à massa média e total de tubérculos.

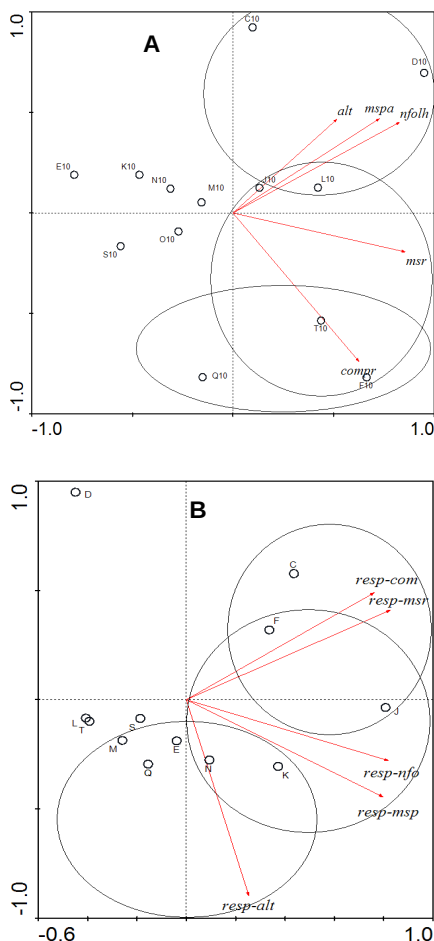


Figura 1 – Eficiência de uso e resposta de batata ao P em sistema de propagação *in vitro* (AIB) em baixo P (A) e resposta à P (B). Siglas: C (SMIC148-A), D (Dakota Rose), E (*Solanum microdontum*), F (SMINIA793101-3), J (SMIB106-7), K (SMID040-4RY), L (SMIE040-6RY), M (SMIF212-3), N (SMIF313-3), O (SMIG145-1), Q (SMIG274-3), S (SMIJ319-7), T (SMIJ456-4Y), resp (resposta), alt (altura de parte aérea), compr (comprimento radicular), nfolh (número de folhas), mspa (massa seca de parte aérea) e msr (massa seca radicular).

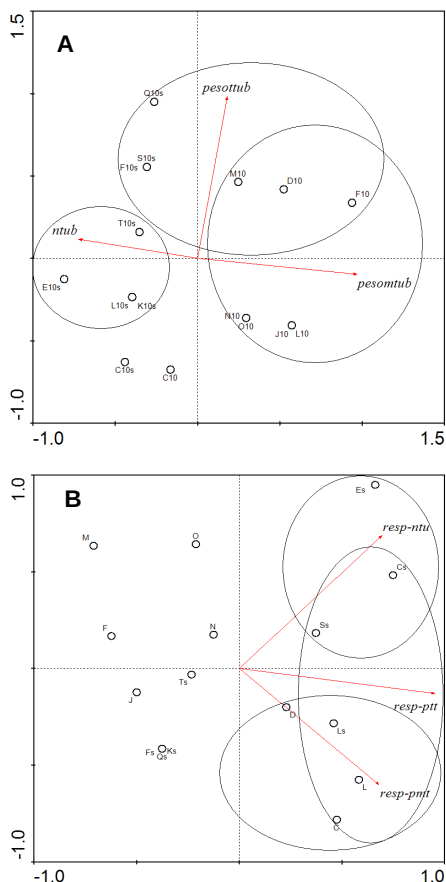


Figura 2 – Eficiência de uso e resposta de batata ao P em sistema de propagação *ex vitro* (AIB) Eficiência de uso em baixo P (C) e resposta à P (D). Siglas: C (SMIC148-A), D (Dakota Rose), E (*Solanum microdontum*), F (SMINIA793101-3), J (SMIB106-7), K (SMID040-4RY), L (SMIE040-6RY), M (SMIF212-3), N (SMIF313-3), O (SMIG145-1), Q (SMIG274-3), S (SMIJ319-7), T (SMIJ456-4Y), resp (resposta), ntub (número de tubérculos por planta), pesontub e pmt (peso médio de tubérculo por planta), pesotub e ptt (peso total de tubérculos por planta), s (safrinha), clones nãoacompanhados de s foram cultivados no período de safra.



Entretanto, o genótipo L quando cultivado no período de safra apresentou relação com a massa média de tubérculo, porém não relação com a massa total de tubérculos. Estes resultados sugerem que a eficiência de uso do P, através do comprimento radicular do cultivo *in vitro*, está muito mais relacionada à eficiência de uso de P em cultivo *ex vitro* do que com a resposta ao P, enquanto que a eficiência em baixo P *in vitro* expressa em produção aérea tem alta relação com resposta ao P em produção de tubérculos graúdos.

Notavelmente quatro dos oito genótipos não agrupados em relação à resposta ao P na figura 2-D, sendo estes M, O, K, N, considerados não responsivos, também não estão relacionados a nenhum grupo na avaliação de eficiência de uso em baixo P no cultivo *in vitro* (figura 1-A). Sugerindo assim uma relação entre baixa eficiência de uso no cultivo *in vitro* e não responsividade *ex vitro*. Em relação à eficiência de uso em baixo P *ex vitro* somente um dos genótipos (M) anteriormente citados, apresenta alta produtividade em massa média e total de tubérculos.

As diferenças entre resposta ao P entre cultivos *in vitro* e *ex vitro* sugerem que nem todo investimento em das plântulas em fitomassa resulta em produção de tubérculos por plantas adultas.

Conclusão

Verificou-se diferença no comportamento entre os genótipos de batata para eficiência de uso e resposta de P sob cultivo *in vitro* e *ex vitro*. A produção de massa seca juntamente com número de folhas, altura e comprimento radicular foi fundamental para elencar tais diferenças.

Referências

ANDRIOLO, J. L. Sistema hidropônico fechado com subirrigação para produção de minitubérculos de batata. In: Simpósio de melhoramento genético e previsão de epifitias em batata, 2006, Santa Maria, **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2006. p. 26-40.



BISOGNIN, D. A. et al. Produtividade e qualidade de tuberculo de clones de batata. **Ciencia e Natura**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 43-56, 2008.

BREGAGNOLI, M. et al. Acumulo de nutrientes pela cultura da batata cv. Atlantic sob quatro niveis de adubacao. **Horticultura Brasileira**, Brasilia, v. 22, n. 2, supl. jul. 2004. 1 CD-ROM.

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

FÖHSE, D.; CLAASSEN, N.; JUNGK, A. Phosphorus efficiency of plants. I. External and internal P requirement and P uptake efficiency of different plant species. *Plant and Soil*, v.110, p.101-109, 1988.

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.

HINSINGER, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. **Plant and Soil**, The Hague, v. 237, n. 2, p. 173-195, Dec. 2001.

IBGE. Estatística. Disponivel em: <http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est/>. Acesso em: 15 dez. 2008.

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

PREZOTTI, L.C.; CARMO, C.A.S. do; ANDRADE NETO, A.P.M. de. Nutricao mineral da batata. Vitória-ES, EMCAPA, 44p. 1986.

RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.50, p.665-693, 1999.

TENNANT, D. A test f modified line intersect method of estimating root length. **The Journal of Ecology**, Oxford, v. 63, n. 3, p. 995-1001, sep./dec. 1975.

WESTERMANN, D. T.; DAVIS, J. R. Potato nutritional management changes and challenges into the next century. **American Potato Journal**, Onro, v. 69, n. 11, p. 753-767, Nov. 1992.

YADAV, R.S.; TARAFDAR, J.C. Phytase and phosphatase producing fungi in arid and semi-arid soils and their efficiency in hydrolyzing different organic P compounds. *Soil Biology and Biochemistry*, v.35, p.745-751, 2003.



EFEITO DE COMBINAÇÕES DE BAP E CINETINA NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE IPÊ-AMARELO - *Handroanthus chrysotrichus* (MART. EX DC.) J. MATTOS

PAVANELO, L. B.^{1*}; REINIGER, L. R. S.²; CURTI, A. R.³; NAVROSKI, M. C.³; SILVA, C. K.¹

¹ Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. leonardopavanelo@gmail.com

² Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Fitotecnica - Santa Maria, RS, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar combinações das citocininas 6-Benzilaminopurina (BAP) e cinetina (CIN) na multiplicação *in vitro* de epicótilos de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) J. Mattos. Foram testados os tratamentos: T1- testemunha (sem citocininas); T2- 1,25 μM + 1,25 μM ; T3- 1,25 μM + 2,5 μM ; T4- 2,5 μM + 1,25 μM ; e T5- 2,5 μM + 2,5 μM , de BAP e CIN respectivamente. Foi utilizado o meio nutritivo WPM cujas concentrações de sais foram reduzidas à metade. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 repetições de três epicótilos cada. Após 30 dias de cultivo avaliaram-se: formação de calos na base dos explantes, número de nós e altura da parte aérea (cm). Não houve efeito significativo para a formação de calos e nem para a altura da parte aérea, observando-se elevada calogênese e satisfatório desenvolvimento da parte aérea, independente da presença das citocininas. Os tratamentos testemunha, T2, T3 e T4 foram aqueles que apresentaram o maior número de nós. Entretanto, T5 não diferiu de T3 e T4. A ausência ou concentrações totais de citocinina $\leq 2,5 \mu\text{M}$ favorecem a formação de nós e não afetam a altura da parte aérea ou a calogênese em epicótilos de *H. chrysotrichus*.

Palavras-chave: Cultura de tecidos. Citocininas. Meio WPM.



Introdução

Em virtude da demanda crescente de mudas de espécies florestais e da busca constante de melhor produtividade dos povoamentos selecionados, a qualidade das mudas e a eficiência das técnicas de propagação utilizadas têm sido abordadas em vários trabalhos de pesquisa no Brasil. No caso de algumas espécies, já existem conhecimentos científicos e experiências suficientes para viabilizar uma produção de mudas bem sucedida. No entanto, as informações técnicas disponíveis para a produção de mudas de espécies nativas são escassas, o que limita o progresso de sua silvicultura, mas representa, por outro lado, muitas oportunidades de pesquisa. Essas espécies possuem uma enorme diversidade genética, potencial que pode servir como fonte para a obtenção de mudas com as características desejáveis à produção florestal. Associadas a isso, técnicas de biotecnologia florestal, como a cultura de tecidos, principalmente por meio da micropropagação, podem viabilizar a obtenção de matérias-primas de maior qualidade.

Handroanthus chrysotrichus (Mart. ex DC.) J. Mattos é uma espécie da família Bignoniaceae, nativa do Brasil, conhecida popularmente como ipê-amarelo, pau-d'arco-amarelo, ipê-amarelo-cascudo, entre outros (Lorenzi, 2002). Pode ser encontrada desde a latitude de 3°30' S, no Ceará até 30° S, no Rio Grande do Sul. É uma espécie bastante usada no paisagismo devido à sua floração e por não atingir porte muito elevado. Sua madeira é usada comercialmente na fabricação de tacos, rodapés, assoalhos e também externamente, como postes. Seu fruto é uma cápsula deiscente, medindo de 11 a 38 cm de comprimento. Suas sementes são pequenas, medindo de 6 a 9 mm de comprimento, e apresentam baixa viabilidade, o que se torna um fator limitante na dispersão natural da espécie, bem como sua utilização em viveiros para reflorestamento e comércio de mudas (Souza et al., 2005). Uma das possibilidades para obter um número maior de mudas de ipê-amarelo consiste no emprego da micropropagação, a técnica da cultura de tecidos empregada no presente estudo.



Os meios nutritivos utilizados na micropropagacao de plantas fornecem as substancias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrao de desenvolvimento *in vitro*. Na maioria dos casos os meios nutritivos mais usados sao o MS (Murashige e Skoog, 1962) e o WPM - *Wood Plant Medium* (Lloyd e McCown, 1980). A escolha entre um e outro vai depender das exigencias de cada especie. A adicao de reguladores de crescimento ao meio nutritivo tem como objetivo suprir as possiveis deficiencias dos teores endogenos de hormônios nos explantes que foram isolados da planta matriz, bem como estimular o alongamento ou a multiplicacao da parte aerea (Caldas et al., 1998). A adicao de citocininas ao meio nutritivo e favoravel, ou ate necessaria, sendo que a definicao do tipo e da concentracao otima de citocinina para a multiplicacao constitui um passo importante. Experimentos testando diversas combinacoes de citocinina associadas ou nao a outros fitorreguladores sao muito comuns para o ajuste dos meios nutritivos para a fase de multiplicacao em uma determinada especie.

A suplementacao de combinacoes de citocininas e auxinas nos meios nutritivos tem apresentado respostas variadas na inducao e formacao de gemas adventicias em explantes *in vitro*. BAP tem sido muito eficaz para promover multiplicacao em diversas especies e parece ser a citocinina por excelencia para multiplicacao de partes aereas e inducao de gemas adventicias, alem de ser a mais barata de todas (Hasegawa, 1980; Hu e Wang, 1983; Zaerr e Mapes, 1985). Diferentes concentracoes de BAP e CIN combinadas ou nao com ANA foram avaliadas quanto a resposta organogenica *in vitro* de segmentos de epicotilo de laranja-azeda (*Citrus aurantium* L.). A suplementacao de BAP em combinacao ou nao com ANA mostrou-se favoravel a obtencao de explantes responsivos nesta especie. Entretanto, 1 mg L^{-1} ($4,6 \text{ }\mu\text{M}$) de CIN e 3 mg L^{-1} ($13,9 \text{ }\mu\text{M}$) de CIN, combinados com $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ ($1,6 \text{ }\mu\text{M}$) de ANA, nao demonstraram inducao de organogênese (Silva et al., 2008). Apices caulinares de dólico (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) foram induzidos a organogênese pela adicao de BAP, isolado ou em combinacao com outras citocininas (Shamsudeen Varisai et al., 1999 apud Rocha et al., 2007). Nesta especie,



maiores números de brotos múltiplos foram desenvolvidos a partir de nós cotiledonares em meio MS contendo BAP combinado com CIN ou 2iP. Além disso, os brotos múltiplos desenvolvidos com uma combinação de BAP (4,4 μM) e 2iP (14,7 μM) desenvolveram-se mais rápido do que aqueles cultivados apenas em presença de BAP (4,4 μM).

Com *Handroanthus chrysotrichus* existem poucos estudos e, aqueles relacionados às técnicas de propagação vegetativa são, ainda, incipientes. Considerando que a espécie apresenta alto valor ecológico, econômico e paisagístico torna-se fundamental realização de estudos que possibilitem tanto a conservação da espécie quanto a propagação em larga escala de mudas de alta qualidade genética, fisiológica e sanitária. Nesse contexto, este trabalho objetivou avaliar o efeito da combinação de citocininas na emissão de brotações adventícias na multiplicação *in vitro* de *Handroanthus chrysotrichus*.

Metodologia

O estudo foi realizado no Núcleo de Biotecnologia e Melhoramento do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. As sementes foram obtidas da Arbocenter Comércio de Sementes LTDA, Birigui, SP. Previamente ao início do cultivo *in vitro*, as sementes foram submetidas a uma pré-asepsia com o fungicida Captan® (grupo químico dicarboximida) sendo acondicionadas em recipiente contendo 0,5 mg do produto por um período de 24 horas. Em seguida, na câmara de fluxo laminar, as sementes tiveram suas superfícies externas desinfestadas por meio da imersão em solução de etanol a 70% (v/v) por 30 segundos, em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% (v/v) por 15 minutos e, por último, foram enxaguadas três vezes em água destilada e autoclavada.

O pH dos meios nutritivos usados na germinação *in vitro* das sementes e na fase de multiplicação dos explantes foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar e, posteriormente, o meio nutritivo foi autoclavado a 120°C e 1 atm de pressão por 15 minutos. Os frascos foram vedados com papel alumínio e mantidos em sala de cultivo sob temperatura de 25±3 °C, fotoperíodo de 16 h e intensidade luminosa de 20



$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias do tipo luz do dia.

Visando à germinação *in vitro*, foram inoculadas cinco sementes por frasco de vidro com capacidade para 150 ml, contendo 30 ml de meio nutritivo WPM cuja concentração de sais foi reduzida à metade (WPM/2) (Lloyd e McCown, 1980). Decorridos 30 dias de cultivo, quando a maioria das sementes já havia germinado, os explantes (epicótilos contendo duas gemas axilares) foram isolados e utilizados no ensaio de multiplicação *in vitro*. Neste, os tratamentos consistiram das seguintes combinações das citocininas 6-Benzilaminopurina (BAP) e Cinetina (CIN): T1: testemunha (sem citocininas); T2: 1,25 μM BAP + 1,25 μM CIN; T3: 1,25 μM BAP + 2,5 μM CIN; T4: 2,5 μM BAP + 1,25 μM CIN; e T5: 2,5 μM BAP + 2,5 μM CIN; totalizando cinco tratamentos. Foi utilizado o meio nutritivo WPM/2 acrescido de 0,5 μM ANA, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. As unidades experimentais foram constituídas por um frasco de vidro de 150 ml contendo 30 ml de meio nutritivo e três epicótilos cada.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas após 30 dias de cultivo *in vitro*. Foram analisadas as seguintes variáveis: porcentagem de formação de calos na base dos explantes, número de nós e altura da parte aérea (cm).

Após testar a normalidade dos erros por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett, as variáveis foram transformadas, sempre que necessário, pela função $\sqrt{x+0,5}$, sendo x o valor observado. Foram realizadas análises de variância e, quando o valor de F foi significativo, foi utilizado, para a comparação das médias o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Utilizou-se o programa SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows®, versão 4.0 (Ferreira, 2000). A precisão do experimento foi medida através da acurácia seletiva (AS), calculada por



$\sqrt{1-1/F_{cal}}$, sendo apresentados os dados apenas para os fatores com efeitos significativos. Os resultados apresentados são as médias originais obtidas.

Resultados e discussões

Para a formação de calos os tratamentos testados não diferiram estatisticamente entre si ($p=0,1775$), sendo observada uma média geral elevada de 82,52%. Esse resultado indica que independentemente da presença de citocininas ocorre formação de calos na base dos epicótilos.

Para o número de nós por explante houve efeito ($p=0,0003$) dos tratamentos (Tabela 1), o que sugere que as diferentes concentrações das combinações de citocininas testadas induzem diferentes respostas nos explantes. Os tratamentos testemunha (T1), que não continha citocininas, além de T2, T3 e T4 (que apresentavam concentrações totais de citocininas 2,5; 3,75; e 3,75 μM respectivamente) foram aqueles que apresentaram o maior número de nós por explante. Isso demonstra que não há necessidade de adicionar citocininas no meio nutritivo para estimular a formação de nós. Essa hipótese é reforçada pelos resultados obtidos no tratamento T5, o de maior concentração das duas citocininas combinadas (5 μM), e que apresentou a menor média de número de nós. Entretanto, T5 não diferiu de T3 e T4, os quais somavam 3,75 μM de citocininas. Assim, a ausência ou concentrações totais de citocinina iguais ou inferiores a 2,5 μM favoreceram a formação de nós. Esses resultados diferem dos obtidos em segmentos nodais de canjerana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.), cultivados em meio nutritivo MS, em que as maiores porcentagens de explantes com brotos (25 a 27%) ocorreram na presença de BAP isolado (a 2,5 μM) ou combinado com 2iP (2,5 μM BAP + 2,5 μM 2iP), o que permitiu a obtenção de 25 a 27% de explantes com brotações adventícias (Rocha et al., 2007). Igualmente, o maior número médio de brotos por explante (1,63) foi formado quando estas duas citocininas estavam presentes. No entanto, as taxas de multiplicação de brotos foram relativamente baixas (menores que 2) em comparação àquelas obtidas em outras espécies na presença de citocininas.



Tabela 1 - Número de nós em epicótilos de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) J. Mattos cultivados em meio nutritivo WPM com a concentração de sais reduzida à metade (WPM/2) acrescido de 0,5 μ M ANA e de diferentes combinações de 6-Benzilaminopurina (BAP) e Cinetina (CIN). Santa Maria, 2011.

Tratamento	Nº de nós	
T1 - Testemunha (sem citocininas)	1,67	a*
T2 - 1,25 μ M BAP + 1,25 μ M CIN	1,37	a
T3 - 1,25 μ M BAP + 2,5 μ M CIN	1,27	a b
T4 - 2,5 μ M BAP + 1,25 μ M CIN	1,27	a b
T5 - 2,5 μ M BAP + 2,5 μ M CIN	0,79	b
Média Geral	1,27	
AS	0,92	

* médias seguidas de letras diferentes minúsculas na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. A letra “a” refere-se ao melhor resultado.

** Acurácia Seletiva (AS) = $\sqrt{1 - (1 / Fc)}$, onde Fc= valor de F calculado. Se AS $\geq 0,9$ = muito alta; se AS entre 0,7 e 0,9 = alta; se AS entre 0,5 e 0,7 = moderada e se $\leq 0,5$ = baixa.

BAP isolado ou em combinação com outras citocininas induziu a organogênese em ápices caulinares de dólico (*Macrotyloma uniflorum*) (Shamsudeen Varisai et al., 1999). Nesta espécie, maiores números de brotos múltiplos foram desenvolvidos a partir de nós cotiledonares em meio nutritivo MS contendo BAP combinado com CIN ou 2iP. Além disso, os brotos múltiplos desenvolvidos com uma combinação de BAP (4,4 μ M) e 2iP (14,7 μ M) desenvolveram-se mais rápido que aqueles cultivados na presença de apenas BAP (4,4 μ M). Para imbuia (*Ocotea porosa* (Ness ex Martius) Liberato Barroso), cultivada em meio nutritivo MS suplementado com BAP e CIN, foi observado que, no cultivo inicial, a taxa de multiplicação aumentou até a combinação de concentrações 5 μ M de BAP



e 5 μM de CIN, sendo obtidas 2,3 brotações por explante. Quando BAP foi testado isolado, a taxa média de multiplicação foi maior (5,3) do que quando combinado com CIN (Pelegrini, 2008).

Da mesma maneira que ocorreu para a formação de calos, para a altura da parte aérea (cm), não houve efeito dos tratamentos testados ($p=0,1790$), sendo observada uma média geral de 1,87 cm, considerada adequada para as fases subsequentes da cultura de tecidos.

Conclusão

A utilização de combinações de BAP e CIN nas concentrações de 1,25 a 2,5 μM não promove a emissão de brotações adventícias em *Handroanthus chrysotrichus* e promove menor número de nós nos explantes quando comparada a não utilização de citocininas.

Referências

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, p. 87 – 132.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

HASEGAWA, P.M. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.105, p.216-220, 1980.

HU, Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y.; ed. **Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding**. New York: Macmillan, p.117-227, 1983.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of montains laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Com. Proc. Int. Plant Prop. Soc.**, v. 30, p. 327-421, 1981.



LORENZI, H. Árvores Brasileiras. **Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 4. ed. v.1. São Paulo: Odessa/Instituto Plantarum, 2002. 368 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, n. 1, p. 437-496, 1962.

PELEGRINI, L.L. **Micropropagação de *Ocotea porosa* (Ness ex Martius) Liberato Barroso (Imbuia)**. 2008, 106f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

ROCHA, S. C. et al. Micropropagação de *Cabralea canjerana*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.1, p.43-50, 2007.

SHAMSUDEEN VARISAI M. et al. Effect of cytokinins on the proliferation of multiple shoots in Horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam) Verdc). **Journal of Plant Biotechnology**, v.1, p.79-83, 1999.

SILVA, R. P.; MENDES, B. M. J.; MOURAO FILHO, F. A. A. Indução e cultivo in vitro de gemas adventícias em segmentos de epicótilo de laranja-azeda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.43, n.10, p. 1331-1337, 2008.

SOUZA, V. C. de; BRUNO, R. de L. A.; ANDRADE, L. A de. Vigor de sementes armazenadas de ipê amarelo *Tabebuia serratifolia* (VAHL.) NICH. **Revista Árvore**. Viçosa, MG, v. 29, n. 6. p. 833-841, 2005.

ZAERR, J.B.; MAPES, M.O. Action of growth regulators. In: BONGA, J.M.; DURZAN, D.J., ed. **Tissue culture in forestry**. 2.ed. Dordrecht: Martinus Nijhoff, p.231-255, 1985.



PRODUÇÃO DE MUDAS *IN VITRO* DE CULTIVARES DE BATATA-DOCE - *IPOMOEA BATATAS* (L.) LAM.

MAGGIO, L.^{1*}; BECKER, L.²; SILVEIRA, T.M.²; FLORES, R.².

¹ Graduanda, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Instituto Federal Farroupilha, Campus de São Vicente do Sul, São Vicente do Sul, RS, Brasil. *lilianmaggio@yahoo.com.br

² Bióloga, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto Federal Farroupilha, Campus de São Vicente do Sul, São Vicente do Sul, RS, Brasil.

Resumo

O cultivo da batata-doce é muito difundido, especialmente na região de São Vicente do Sul (RS), onde há uma grande demanda por mudas para os produtores rurais da região. Assim, o presente trabalho teve como intuito comparar a taxa de propagação entre seis cultivares de batata-doce (Abóbora, Catarina, Biaze, Da Costa, Americana e Morada Inta), ao longo de oito semanas de cultivo *in vitro*. Segmentos nodais de plantas matrizes foram cultivados em meio Murashige e Skoog, durante oito semanas. As cultivares Catarina, Biaze e Abóbora apresentaram maior potencial para a produção de mudas *in vitro* em relação à Da Costa, Americana e Morada Inta. Nas cultivares Abóbora e Da Costa, uma maior produção de mudas é obtida após oito semanas de cultivo. Nas cultivares Catarina, Biaze, Americana e Morada Inta, não há um incremento significativo na taxa de propagação de mudas a partir da quinta semana de cultivo. As plantas mudas produzidas *in vitro* apresentam uma elevada taxa de sobrevivência durante a aclimatização.

Palavras-chave: Produção de mudas. Micropropagação. Convolvulaceae. Morfogênese.

Introdução

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) LAM) é uma planta herbácea originária das Américas Central e do Sul. É considerada uma hortaliça de grande importância econômica, sendo utilizada para comercialização *in natura*, para processamento em agroindústria e/ou produção de biocombustível. Com relação ao valor nutricional, a batata-doce é uma



excelente fonte de energia na forma de amido, contém vários minerais, como potássio e vitaminas, especialmente as do grupo A e do complexo B. Os tubérculos apresentam em média 6% de proteína bruta por peso seco, as quais apresentam elevada qualidade Martins et al. (1999).

A batata-doce apresenta um grande número de cultivares, as quais se diferenciam principalmente pelo tamanho, cor das folhas bem como pelo comprimento e espessura das ramas. Os tubérculos podem variar em relação à posição na planta, cor da casca, cor da polpa e formato. A propagação das cultivares é feita através dos ramos e raízes, o que facilita a proliferação de doenças que favorecem a depreciação dos tubérculos. Diante disso, as técnicas de cultivo de meristemas e micropropagação vêm sendo muito utilizadas para a produção, em larga escala, de plantas matrizes de batata-doce com alta qualidade sanidade, conforme Castro e Andrade (1995). A multiplicação das plantas *in vitro* é influenciada pelas exigências nutricionais requeridas pelos tecidos vegetais submetidos às condições *in vitro*, os quais variam de acordo com o genótipo, conforme Maldaner et al. (2007); Flores et al. (2010). Apesar de tanta variabilidade genotípica, ainda há poucos estudos relacionados às diferenças observadas entre cultivares de batata-doce durante o cultivo *in vitro* Castro e Andrade, (1995). Em geral, o cultivo da batata-doce pode ser conduzido em meio nutritivo isento de fitorreguladores, contudo dependendo da cultivar, pode haver a necessidade de adição de fitorreguladores e/ou outros suplementos a fim de favorecer a formação de segmentos nodais, segundo Castro e Andrade (1995).

A cultura da batata-doce é muito difundida, especialmente na região de São Vicente do Sul, o que justifica a necessidade de produção de mudas de qualidade, de diferentes cultivares, para os produtores rurais da região. Assim, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar e comparar a taxa de propagação entre seis cultivares de batata-doce cultivadas no município de São Vicente do Sul, ao longo de oito semanas de cultivo *in vitro*.



Metodologia

Como material vegetal foram utilizadas plantas matrizes de seis cultivares de batata-doce (Abóbora, Catarina, Biaze, Da Costa, Americana e Morada Inta). Os segmentos nodais, com cerca de 1 cm, foram cultivados em meio MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 gL⁻¹ de sacarose, 100 mgL⁻¹ de mio-inositol e 7 gL⁻¹ de ágar, sendo o pH ajustado para 5,8. O material foi mantido em sala de crescimento sob temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de cerca de 40 µmol m⁻²s⁻¹. Tendo em vista uma maior produção de mudas em relação ao tempo de permanência *in vitro*, as cultivares foram avaliadas semanalmente, ao longo de oito semanas de cultivo, mediante o número médio de segmentos produzido por planta.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com seis repetições, sendo cada repetição formada por cinco plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e analisados pelo teste de Tukey em nível de 1% de probabilidade de erro.

Resultados e discussões

Todas as cultivares estudadas regeneraram brotações e raízes em meio MS, sendo que a taxa de propagação (avaliada através da regeneração de segmentos nodais) variou de acordo com a cultivar estudada e com o período de tempo de cultivo (Tabela 1). Em geral, a multiplicação das plantas *in vitro* é influenciada por vários fatores, destacando-se o efeito da cultivar estudada, segundo Flores et al. (2010).

Após quatro semanas de cultivo, as cultivares Catarina (7,3 segmentos nodais) e Biaze (5,9 segmentos nodais) regeneraram um número superior a cinco segmentos nodais, o que representa uma boa taxa de multiplicação. Já as demais cultivares estudadas demonstraram um menor potencial organogênico, uma vez que um número inferior a quatro segmentos nodais foi regenerado por planta. Nas semanas subseqüentes, houve um incremento no número médio de segmentos nodais em todas as cultivares estudadas. Nas cultivares Abóbora e Da



costa, a taxa de propagação das plantas aumentou significativamente ao longo do período de cultivo *in vitro* (Tabela 1). Este resultado indica que uma boa produção de mudas dessas cultivares poderá ser obtida se as plantas forem mantidas no mesmo meio durante oito semanas, reduzindo assim os custos com os subcultivos mensais e o manuseio da cultura. Ao final de oito semanas, a cultivar Abóbora apresentou um maior número de segmentos nodais por planta (5,2) em relação a Da Costa (3,5) (Tabela 1). Por outro lado, nas cultivares Catarina, Biazé, Americana e Morada Inta, não foi observado um incremento significativo na taxa de propagação de mudas a partir da quinta semana de cultivo (Tabela 1).

Tabela 1 – Número médio de segmentos nodais em plantas de seis cultivares de batata-doce, cultivadas em meio MS, durante 8 semanas de cultivo *in vitro*.

Cultivar	Semanas de cultivo <i>in vitro</i>							
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Abóbora	0,8abD	1,1 bD	1,9bCD	2,9 bBC	3,7cABC	4,1bAB	4,5bAB	5,2bcA
Catarina	1,5 aD	3,1 aDC	5,0 aBC	7,3 aAB	8,2 aA	8,6 aA	8,8 aA	9,2 aA
Biazé	1,3abD	2,1abCD	4,0 aBC	5,9 aAB	6,6 abA	6,9 aA	7,5 aA	7,8abA
Da Costa	0,7 abC	0,9 bC	1,4 bBC	1,9bABC	2,7 cAB	2,8bAB	2,9bAB	3,5 cA
Americana	1,0 abC	1,3 bC	2,1 bBC	3,1 bAB	4,3 cAas	4,1 bA	4,6 bA	4,6 bA
Morada Inta	0,2 bC	0,9 bBC	1,6bAB	2,4 bAB	2,5 cAB	2,9 bA	3,2 bA	3,4 cA

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si em relação às cultivares e maiúsculas quanto às semanas de cultivo, pelo Teste de Tukey, em nível de 1% de probabilidade de erro.

Todas as cultivares produziram plantas completas com brotações alongadas, sistema radicular bem desenvolvido e morfologia normal (Figura 1). Independente do tempo de cultivo, as maiores taxas de propagação *in vitro* foram registradas nas cultivares Catarina e Biazé (Tabela 1). Por outro lado, as cultivares Da Costa, Americana e Morada



Inta apresentaram uma menor produção de segmentos nodais (Tabela 1), indicando a necessidade de estudos subsequentes no sentido de favorecer a produção de mudas *in vitro*. Castro e Andrade (1995) também constataram que a regeneração de plantas de batata-doce é dependente da cultivar estudada, sendo necessário testar diferentes composições de meio nutritivo no sentido de otimizar a produção de mudas nas diferentes cultivares.

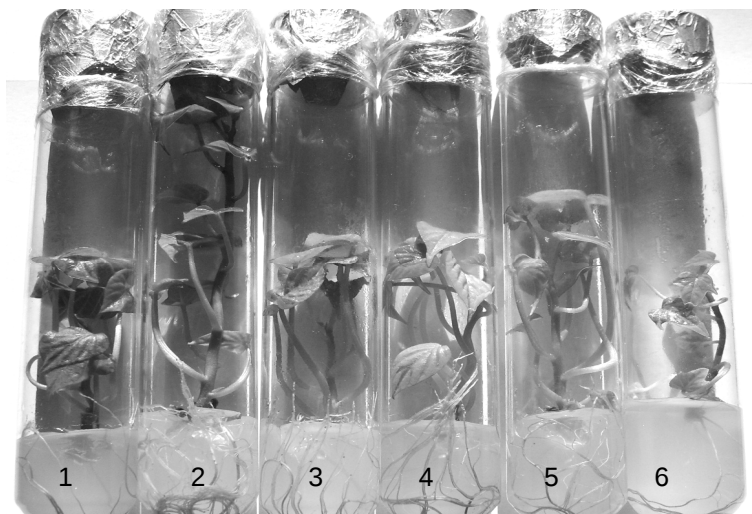


Figura 1 – Plantas de batata-doce *in vitro*. Cultivar Abóbora (1), Catarina (2), Biazze (3), Da Costa (4), Americana (5) e Morada Inta (6).

Em geral, as plantas produzidas *in vitro* apresentaram uma elevada taxa de sobrevivência durante a aclimatização; exceto na cultivar Americana, onde 83,3% das mudas sobreviveram após 30 dias do transplântio, nas demais cultivares todas as plantas sobreviveram e apresentaram crescimento e desenvolvimento normais.

Conclusão

A taxa de propagação de batata-doce varia de acordo com a cultivar e com o período de tempo de cultivo. Observou-se durante as



avaliacoes que as cultivares de batata-doce Catarina, Biazé e Abóbora apresentam maior potencial para a producao de mudas *in vitro* em relacao a Da Costa, Americana e Morada Inta. No entanto as cultivares Abóbora e Da Costa, apresentaram uma maior producao de mudas obtidas apos oito semanas de cultivo. Já as cultivares Catarina, Biazé, Americana e Morada Inta, não há um incremento significativo na taxa de propagacao de mudas a partir da quinta semana de cultivo. As plantas mudas produzidas *in vitro* apresentam uma elevada taxa de sobrevivencia durante a aclimatizacao. Conclui-se assim que durante as oito semanas de cultivo *in vitro*, foi possivel avaliar e comparar as cultivares que tiveram melhor potencial para a producao de mudas com qualidade. Atraves desta avaliacao e comparacao entre as cultivares foi possivel favorecer aos produtores de batata-doce da regioao, as que melhor apresentaram potencial organogenico.

Referencias

CASTRO, O. F. A et al. Cultura de meristemas de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) LAM. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasilia, v. 30, n.7, p. 917-922, jul. 1995.

FLORES, R. et al. Micropropagation and β -ecdysone content of the Brazilian ginsengs *Pfaffia glomerata* and *Pfaffia tuberosa*. **In vitro Cellular Developmental Biology Plant**, Heidelberg, v.46, n.2, p.210-217, abril. 2010.

MALDANER, J. et al. Crescimento de plântula de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pederson cultivadas *in vitro* sob dois niveis de nitrogênio e sacarose, durante seis subculturas sucessivas e aclimatizacao. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.134, jan-fev. 2007.

MARTINS, M. Et al. Purificacao e producao de anticorpos de esporamina: uma proteina especifica da batata-doce. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 4, p. 849-855, 1999.

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



ENRAIZAMENTO E ACLIMATIZAÇÃO *in vitro* DE MICROESTACAS DE *Eucalyptus dunnii* MAIDEN

NAVROSKI, M.C.^{1*}; REINIGER, L.R.S.²; PEREIRA, M.O.³; CURTI, A.R.¹; PAIM, A.F.⁴

¹ Engenheiro Florestal, Mestre e Doutorando do Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *navroskiflorestal@yahoo.com.br.

² Engenheira Agrônoma, Professora Adjunta. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

⁴ Engenheira Florestal, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Pretendeu-se com o presente estudo avaliar o enraizamento e a aclimatização *in vitro* de microestacas alongadas de genótipos de *Eucalyptus dunnii* Maiden. No primeiro ensaio, segmentos nodais de quatro genótipos de *E. dunnii* foram cultivados em meio nutritivo MS, cuja concentração de sais foi reduzida à metade ($\frac{1}{2}$ MS), sendo testadas diferentes concentrações de Ácido indol-3-butírico (AIB) (0; 2,46; 4,92; 9,84 e 19,70 μ M) adicionadas ao meio nutritivo. No segundo ensaio, realizou-se tratamento pulso mediante imersão lenta, por 24 horas, da base de segmentos nodais de três genótipos em cinco concentrações de AIB (0; 2,46; 4,92; 9,84 e 19,70 μ M) e, após, cultivo em meio nutritivo WPM líquido, cuja concentração de sais foi reduzida à metade ($\frac{1}{2}$ WPM), acrescido de vermiculita. Após o cultivo, as microestacas enraizadas foram aclimatizadas *in vitro*. Não foi observada rizogênese em nenhuma microestaca quando se adicionou AIB ao meio nutritivo. Observou-se formação de raiz somente em três microestacas, de dois genótipos, submetidas a tratamento pulso com AIB. O emprego de vermiculita associado a meio nutritivo $\frac{1}{2}$ WPM líquido, após tratamento pulso com AIB, apresenta potencialidade como substrato para o enraizamento de microestacas de *Eucalyptus dunnii*. Depois de enraizadas, as microestacas atingem um satisfatório desenvolvimento na aclimatização.



Palavras-chave: Ácido 3-indol butírico. Vermiculita. Meio nutritivo líquido. Cultura de tecidos.

Introdução

Em geral, as espécies resistentes ao frio, como é o caso de *Eucalyptus dunnii* Maiden, apresentam maior recalcitrância ao enraizamento se comparadas a outras espécies como *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, *Eucalyptus saligna* Smith, *Eucalyptus urophilla* S.T. Blake, entre outras. (Alfenas, 2004; Assis; Mafia, 2007; De Klerk et al., 1995). O uso de reguladores de crescimento, especialmente auxinas, e a utilização de meios nutritivos adequados podem auxiliar a superar este problema.

A rizogênese pode ser dividida em três fases: indução, iniciação e alongamento das raízes. As duas primeiras dependem da adição de auxina no meio nutritivo, enquanto que a terceira prescinde dessa classe de fitoreguladores, que, geralmente, inibe o alongamento das raízes (GEORGE, 1996). As auxinas mais utilizadas em meios nutritivos para formação de raízes são Ácido Indol-3-Butírico (AIB) e Ácido alfa-Naftaleno Acético - ANA (Bertazza et al., 1995; George, 1996). AIB tem sido bastante utilizado por não causar fitotoxicidade aos explantes e ser eficiente no enraizamento de muitas espécies, principalmente naquelas do gênero *Eucalyptus* (Hartmann et al., 2002). As concentrações mais frequentes de emprego desta auxina estão entre 0,1 e 1,0 mg L⁻¹, que correspondem a 0,49 a 4,92 µM respectivamente (George, 1996).

Diluições à ½, ⅓ e ¼ da composição original dos sais do meio nutritivo MS (Murashige; Skoog, 1962) são frequentemente utilizadas, assim como também o emprego do meio nutritivo “Wood Paint Medium” - WPM (Lloyd; Mccown, 1981). Este meio nutritivo é utilizado para a indução de raízes por apresentar concentrações reduzidas de sais, tendo sido eficiente no enraizamento de várias espécies lenhosas (Chalupa, 1987).

Pretendeu-se com o presente estudo avaliar o enraizamento e a aclimatização *in vitro* de microestacas alongadas de genótipos de *Eucalyptus dunnii*.



Metodologia

Material vegetal

O material genético utilizado no presente estudo foi coletado em áreas da empresa StoraEnso, localizadas no município de Rosário do Sul - RS, em povoamentos comerciais de *Eucalyptus dunnii* de cerca de três anos de idade, originados de plantios de sementes.

Decorridos 60 dias do abate das árvores, previamente selecionadas com boas características silviculturais, foram coletadas as brotações. As coletas ocorreram nas primeiras horas da manhã e as brotações foram acondicionadas em frascos de vidro contendo água destilada, autoclavada e acrescida de ácido ascórbico a 1% (p/v) para minimizar o efeito da oxidação fenólica. Os frascos contendo as brotações foram colocados em caixa de isopor contendo gelo e transportados até o Laboratório. A desinfestação das brotações foi efetuada em capela de fluxo laminar, e os explantes (microestacas) isolados foram inoculados em frascos contendo 30 ml do meio nutritivo MS (Murashige e Skoog, 1962).

Após 30 dias de cultivo *in vitro*, os segmentos nodais estabelecidos foram transferidos para a fase de multiplicação, que teve a duração de 30 dias. Transcorrido esse período, as gemas axilares multiplicadas foram alongadas (período de 30 dias) até atingirem um padrão adequado para o enraizamento (microestacas individualizadas com comprimento médio de 2,0 a 3,0 cm).

As condições de cultivo das fases de estabelecimento, multiplicação, alongamento, enraizamento e aclimatização *in vitro* consistiram de temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias tipo luz do dia, durante todo o período de execução dos ensaios a seguir descritos.



Efeito de AIB no enraizamento *in vitro* de microestacas de *Eucalyptus dunnii* em meio nutritivo ½ MS

Microestacas alongadas *in vitro*, obtidas conforme descrito anteriormente, foram preparadas e inoculadas, sob condições assépticas, em frascos com capacidade para 150 ml, contendo 30 ml de meio nutritivo ½MS (Murashige; Skoog, 1962). Ao meio nutritivo MS foram adicionados 6 g L⁻¹ de ágar, 30 g L⁻¹ de sacarose, 50 mg L⁻¹ de mio-inositol, 1 g L⁻¹ de carvão ativado e AIB, conforme o tratamento, descrito na sequência. O meio nutritivo foi preparado utilizando-se água deionizada e o pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem e da adição do ágar. Na sequência, os frascos foram vedados com papel alumínio e autoclavados a 121°C (1,5 kgf cm⁻²) por 20 minutos.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se um esquema bifatorial 4 x 5, em que os níveis do fator “A” referiram-se aos diferentes genótipos e os níveis do fator “B”, às concentrações de AIB avaliadas (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹ – 0; 2,46; 4,92; 9,84 e 19,70 µM). Foram usadas cinco repetições, cada uma composta por um frasco contendo três explantes, totalizando 100 unidades experimentais e 300 microestacas introduzidas *in vitro*. Trinta dias após a inoculação dos explantes no meio nutritivo, foram avaliados a porcentagem de microestacas com raízes e o comprimento (mm) dessas raízes.

Efeito do tratamento pulso com AIB no enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus dunnii* em meio nutritivo ½ WPM

Microestacas de maior tamanho, alongadas *in vitro*, obtidas conforme descrito anteriormente foram selecionadas e sua extremidade basal, cortada em bisel duplo. As brotações foram submetidas ao tratamento de imersão lenta da base (0,5 cm) em soluções de AIB, conforme o tratamento, apresentado na sequência, e dissolvidas com solução de Hidróxido de Sódio - NaOH 0,1N por 24 horas. Após a imersão em AIB, as microestacas foram inoculadas, sob condições assépticas, em frascos com capacidade para 150 ml, contendo 30 ml de vermiculita e 20 ml de meio nutritivo ½ WPM (Lloyd; Mccown, 1981) líquido. Ao meio



nutritivo $\frac{1}{2}$ WPM (Lloyd; Mccown, 1981) foram adicionados 20 g L⁻¹ de sacarose e 50 mg L⁻¹ de mio-inositol. O meio nutritivo foi preparado utilizando-se água deionizada e o pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem e da adição do ágar. Na sequência, os frascos foram vedados com papel alumínio e autoclavados a 121°C (1,5 kgf cm⁻²) durante 20 minutos.

O ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se um esquema bifatorial 3 x 5, em que os níveis do fator “A” referiram-se aos diferentes genótipos e os níveis do fator “B”, às concentrações de AIB avaliadas (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹ – 0; 2,46; 4,92; 9,84 e 19,70 µM). Foram usadas cinco repetições, cada uma composta por um frasco contendo dois explantes, totalizando 75 unidades experimentais e 150 microestacas introduzidas *in vitro*. Trinta dias após a inoculação dos explantes foram avaliados a porcentagem de explantes com raízes e o comprimento (mm) dessas raízes.

Análises estatísticas

Em decorrência do número reduzido de explantes que responderam à indução ao enraizamento *in vitro*, não foram efetuadas análises estatísticas, sendo apenas descritos os resultados observados.

Aclimatização *in vitro* das microestacas de *Eucalyptus dunni*

Após a avaliação do enraizamento, as microestacas enraizadas foram submetidas à aclimatização em copos plásticos contendo vermiculita, substrato Plantmax® e casca de arroz carbonizada, em iguais proporções. Os copos plásticos foram fechados com filme plástico e perfurados, na base, para a drenagem da água excedente. Os copos plásticos permaneceram na sala de cultivo cujas condições foram descritas anteriormente, durante todo o período de avaliação. A cada dois dias, os copos foram abertos e realizou-se a irrigação somente com água corrente.

Quinze dias após o início da aclimatização *in vitro*, procedeu-se a avaliação da sobrevivência das microestacas enraizadas.



Resultados e discussões

Efeito do AIB no enraizamento *in vitro* de brotações alongadas de *Eucalyptus dunnii* em meio nutritivo ½ MS

Não houve formação de raízes em nenhum dos tratamentos avaliados.

Efeito do tratamento pulso com AIB no enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus dunnii*

A utilização de tratamento pulso com AIB e a subsequente inoculação das microestacas em frascos contendo meio nutritivo ½ WPM (Lloyd; Mccown, 1981) líquido e vermiculita não apresentou expressivo enraizamento. Somente três microestacas, de um total de 150, formaram raiz, sendo duas pertencentes ao genótipo 2 e, a outra, ao genótipo 3.

As microestacas do genótipo 2 que formaram raiz tiveram suas bases imersas em 2,0 mg L⁻¹ (9,84 µM) de AIB durante 24 horas. O comprimento das raízes formadas nestas duas microestacas foi de, aproximadamente, 5 cm (Figura 1A). A terceira microestaca enraizada, do genótipo 3, apresentou comprimento de 5,5 cm (Figura 1B) e foi tratada com 4,0 mg L⁻¹ (19,70 µM) de AIB durante 24 horas. Esses resultados confirmam a recalcitrância desta espécie quanto ao enraizamento, conforme citam Alfenas (2004), Assis; Mafia (2007) e Paludzyszyn Filho et al. (2006). Outro fator que pode ter causado o baixo enraizamento é o potencial reativo dos explantes, ocasionado pelo elevado tempo de cultivo *in vitro*.

Considerando-se a reduzida resposta ao enraizamento, devem ser efetuados estudos adicionais para avaliar melhor o uso de vermiculita associado ao meio nutritivo, visto que este substrato apresenta potencialidade em comparação ao uso de meio nutritivo solidificado com ágar. A vermiculita propicia maior aeração das raízes, podendo promover maior rizogênese e um aumento no comprimento das raízes formadas, aumentando a possibilidade de sucesso na fase posterior de aclimatização.

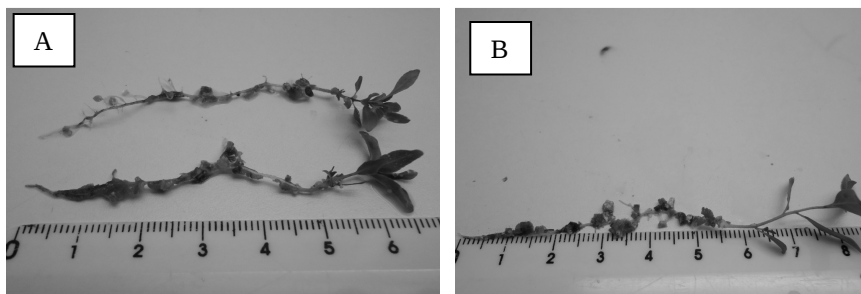


Figura 1- A: microestacas de *Eucalyptus dunnii* (genótipo 2). B: microestaca de *Eucalyptus dunnii* (genótipo 3) enraizadas em meio nutritivo $\frac{1}{2}$ WPM líquido e vermiculita, após tratamento pulso com AIB durante 24 horas. Santa Maria-RS/UFSM, 2010.

Os resultados observados estão de acordo com o que postula Malavasi (1994), que recomendou que os substratos devem ser suficientemente porosos para possibilitar uma boa aeração da estaca, pois o oxigênio é indispensável à respiração resultante dos processos de emissão de raízes; e, ao mesmo tempo, devem armazenar quantidade de água suficiente para o desenvolvimento da planta. Em espécies com dificuldade de enraizamento o meio utilizado para este fim tem influência direta sobre a capacidade de emissão de raízes (Paiva; Gomes, 1995).

Aclimatização

Duas das três microestacas enraizadas e submetidas à aclimatização sobreviveram. A microestaca do genótipo 3 (Figura 2A) destacou-se pelo excelente desenvolvimento apresentado. A microestaca do genótipo 2 apresentou um desenvolvimento relativamente inferior àquele da microestaca do genótipo 3 (Figura 2B).

Considerando-se a sobrevivência e o desenvolvimento das microestacas é possível afirmar que a fase de enraizamento constituiu-se no maior problema na micropropagação do *Eucalyptus dunnii*, uma vez que, após enraizadas, as microestacas atingem desenvolvimento adequando e em curto espaço de tempo.

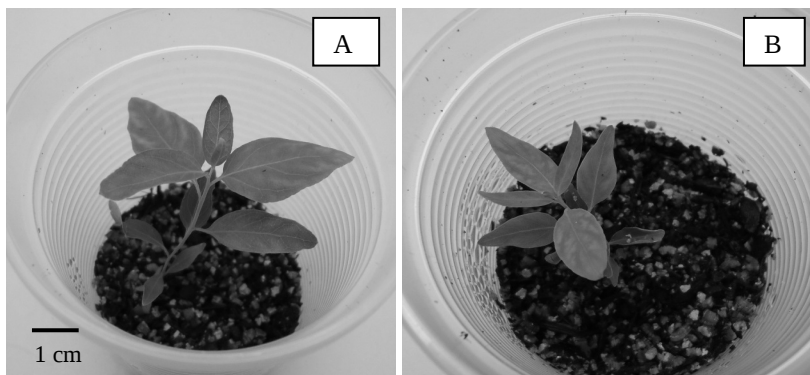


Figura 2 - Microestacas de *Eucalyptus dunnii* aclimatizadas em copos plásticos em substrato composto por vermiculita, Plantmax® e casca de arroz carbonizada. A- Microestaca do genótipo 3. B - Microestaca do genótipo 2. Santa Maria-RS/UFSM, 2010.

Conclusão

No meio nutritivo $\frac{1}{2}$ MS, a adição de AIB não tem efeito no enraizamento *in vitro* de microestacas de *Eucalyptus dunnii*. O emprego de vermiculita associada ao meio nutritivo $\frac{1}{2}$ WPM (Lloyd; Mccown, 1981) líquido, após tratamento pulso com solução de AIB, apresenta potencialidade como substrato para o enraizamento de microestacas de *Eucalyptus dunnii*.

Referências

- ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 442p.
- ASSIS, T. F. de; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biotechnologia florestal**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2007. p. 93-121.
- BERTAZZA, G.; BARALDI, R.; PREDIERI, S. Light effects on in vitro rooting of pear cultivars of different rhizogenic ability. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 41, p. 139-143, jan., 1995.



CHALUPA, V. European hardwoods. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. **Cell and tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff. p. 224-246. 1987.

DE KLERK, G.J. et al. A. Hormone requirements during the successive phases of rooting of *Malus* microcuttings. **Current tissues in plant molecular and cellular biology**, p.111-116, 1995.

GEORGE, E. F. Plant grow regulators: Plant propagation by tissue culture. **Exegetics**, Edington. XI, p. 420-479. 1996.

HARTMANN, H. T. et al. **Propagation**: principles and practices. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 880 p. 2002.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Combined Proceedins International Plant Propagators Society**, Washington, v. 30, p. 327 - 421. 1981.

MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas: perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e ambiente**, v. 1, n.1, p.1331 – 135, 1994.

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

PAIVA, H.N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: UFV, 1995. 40 p. (UFV. Boletim, 322).

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. dos; FERREIRA, C. A. **Eucaliptos indicados para plantio no Estado do Paraná**. Colombo: Embrapa Florestas - CNPF, 2006. 45 p. (Documentos, 129).



DESINFESTAÇÃO E GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE Ipê-amarelo - *Handroanthus chrysotrichus* (MART. ex A. DC.) MATTOS

PEREIRA, M.O.^{1*}; REINIGER, L.R.S.²; NAVROSKI, M.C.³; LEÓN, E.A.B.³; CURTI, A.R.³

¹ Graduanda, Curso de Engenharia Florestal. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *maripereira.florestal@gmail.com

² Engenheira Agrônoma, Professora Adjunta. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Engenheiros Florestais, Mestres e Doutorandos, Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Este estudo teve como objetivos avaliar a desinfestação superficial e a germinação *in vitro* de sementes de ipê-amarelo (*Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex A. DC.) Mattos). O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, esquema trifatorial 5x2x2, correspondendo a combinações de concentrações de hipoclorito de sódio (NaOCl) e tempos de exposição; presença (0,05%) ou ausência de bicloreto de mercúrio (HgCl₂); e, regimes luminosos aos quais as sementes foram expostas (fotoperíodo de 16 horas durante todo o tempo ou primeiros sete dias de cultivo no escuro + 16 horas de luz após). Decorridos 30 dias de cultivo em meio WPM foram avaliados: contaminação microbiana total, plantas normais, anormais, sementes mortas e formação de calos, expressos em porcentagem. Houve efeito significativo apenas de dois fatores principais: NaOCl e HgCl₂. A maior média de contaminação (15,79%) foi observada na ausência de NaOCl, a qual diferiu dos demais tratamentos, que, por sua vez, não diferiram entre si. O emprego de HgCl₂ reduziu significativamente as plantas normais e anormais, porém aumentou a formação de calos. A utilização de NaOCl é fundamental para o controle da contaminação em sementes de ipê-amarelo. HgCl₂, além de não controlar a contaminação, prejudica a germinação *in vitro* de sementes e aumenta a formação de calos.

Palavras-chave: Hipoclorito de Sódio. Bicloreto de Mercúrio. Micropropagação.



Introdução

O ipê-amarelo (*Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex A. DC.) Mattos) é uma espécie arbórea, da família Bignoniaceae, de alto valor ecológico, econômico e ornamental (Martins, 2009), e em consequência tem sido muito explorada comercialmente. A madeira é moderadamente pesada, resistente, de grande durabilidade. Pode ser utilizada em reflorestamento de áreas degradadas, de matas ciliares e demais áreas de preservação permanente (Lorenzi, 1992).

A propagação dessa espécie é feita pela utilização de sementes que, apesar de produzidas em grande quantidade, apresentam problemas de germinação e conservação (Oliveira et al., 2004, 2005). Para muitas espécies florestais de importância econômica ou que se encontram em extinção, a micropropagação tem sido uma ferramenta útil para a obtenção clonal de plantas de interesse econômico e ecológico, promovendo a conservação de espécies e auxiliando em programas de revegetação.

Entretanto, para tornar isso possível é necessário conhecer os principais processos básicos da germinação das sementes de várias espécies, especialmente de plantas lenhosas, visto que a falta dessas informações podem dificultar a realização de programas de reflorestamento e melhoramento genético.

Diversos fatores podem afetar o potencial germinativo das sementes e promover a formação de plântulas anormais, dentre os quais se podem destacar a presença de microrganismos, especialmente fungos e bactérias (Corder e Borges Junior, 1999). Para controlar esses microrganismos e obter plântulas que sirvam como fontes de explantes para a cultura de tecidos, devem ser selecionados eficientes métodos de desinfestação superficial.

O etanol e os compostos à base de cloro (halogênios) são as substâncias com ação germicida mais utilizadas no processo de desinfestação (Couto et al., 2004; Sousa et al., 1999). O hipoclorito de sódio (NaOCl) ou cálcio (Ca(ClO)₂) apresentam grande eficiência na



desinfestação de sementes, eliminando fungos e bactérias. Da mesma maneira, a utilização de fungicidas e bactericidas pode promover um aumento no total de plântulas germinadas a partir das sementes tratadas. Igualmente, tem sido utilizados sais de metais pesados, dentre os quais se pode citar o bicloreto de mercúrio (HgCl_2).

A concentração dos agentes desinfestantes e o tempo de exposição das sementes a esses compostos pode variar de acordo com a espécie (Montarroyos, 2000), sendo necessária, portanto, a sua seleção de acordo com a eficiência e a sensibilidade do tecido a ser desinfestado.

Considerando-se o exposto, este estudo teve como objetivo avaliar a desinfestação superficial e a germinação *in vitro* de sementes de ipê-amarelo utilizando substâncias desinfestantes.

Metodologia

As sementes utilizadas para a realização do experimento são de origem comercial, adquiridas do viveiro Arbocenter, coletadas de árvores matrizes localizadas no estado de São Paulo, Brasil.

Inicialmente as sementes foram submetidas a um pré-tratamento efetuado pela imersão de 100 g de sementes em uma solução contendo 1 g de Benomyl® (Benzimidazol) (p/v), durante 24 horas. Decorrido esse período, as sementes foram lavadas em água corrente durante 10 minutos e enxaguadas em água estéril. Em seguida, foram imersas em uma solução de etanol a 70% (v/v) por 30 segundos e, após, em câmara de fluxo laminar foram aplicados os tratamentos de desinfestação, na sequência descritos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema trifatorial $5 \times 2 \times 2$, com cinco repetições por tratamento, sendo cada uma composta por um frasco de 150 ml, preenchido com 30 ml de meio de cultura e quatro sementes. Os níveis do fator “A” consistiram de combinações de concentrações de NaOCl e tempos de exposição das sementes, a saber: ausência de NaOCl; NaOCl a 2,5% por 10 minutos; NaOCl a 2,5% por 15 minutos; NaOCl a 3,0% por 5

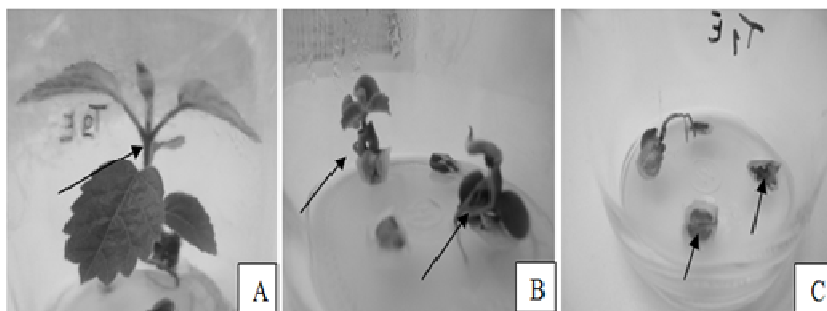


minutos e; NaOCl a 3,5% por 5 minutos. O fator “B” consistiu na presença (0,05%) ou ausência de HgCl_2 ; e o fator “C” correspondeu aos regimes luminosos em que as sementes foram submetidas, sendo: 16 horas de luz durante todo o experimento, sete dias em ausência de luz e, posteriormente, 16 horas de luz durante o restante do experimento.

Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram enxaguadas, três vezes, em água estéril e inoculadas em meio de cultura “Woody Plant Medium” - WPM (Lloyd e Mccown, 1981), na composição original de macro e micronutrientes, vitaminas, sacarose (30 g L^{-1}), ágar (7 g L^{-1}), sendo o pH ajustado em 5,7. O meio de cultura foi previamente autoclavado por 15 minutos a 121°C .

As unidades experimentais foram cultivadas na sala de crescimento sob temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $20 \mu\text{M m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias tipo luz do dia, ou em restrição de luz, conforme o tratamento. Após 30 dias de cultivo foram avaliadas as seguintes variáveis: contaminação microbiana total (fúngica e/ou bacteriana), plantas normais (Figura 1A), plantas anormais (Figura 1B), sementes mortas (Figura 1C) e formação de calos (na base dos explantes), expressas em porcentagem.

Os dados obtidos foram transformados, sempre que necessário para a função $\sqrt{x + 0,5}$, sendo X o valor observado, e submetidos à análise de variância. Quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Sistema para análise de variância) para Windows®, versão 4.0 (Ferreira, 2000). A precisão do experimento foi medida através da acurácia seletiva (AS), calculada por $\sqrt{1 - 1/FcaI}$, sendo apresentados os dados apenas para os fatores com efeitos significativos. Os resultados apresentados são as médias originais obtidas.



F

Figura 1 - Plantas normais (A), plantas anormais (B) e sementes mortas (C), indicadas por setas, em ipê-amarelo após 30 dias de cultivo *in vitro* em meio nutritivo WPM. Santa Maria-RS/UFSC, 2010.

Resultados e Discussões

Em relação à contaminação total houve efeito significativo somente para o fator NaOCl. Já para as plantas normais, anormais e formação de calos houve efeito significativo somente para HgCl₂. Para sementes mortas não houve efeito significativo para nenhum dos fatores testados.

Os valores da AS para a porcentagem de plantas normais e anormais podem ser classificados como muito altos. Já para a formação de calos o valor obtido foi alto. Para a contaminação microbiana, no entanto, foi observado um valor moderado. Os valores observados dessa estatística, no presente estudo, indicam que o experimento foi bem conduzido e que os resultados obtidos são válidos.



Tabela 1 – Resultado da análise de variância para contaminação microbiana total, plantas normais, plantas anormais, sementes mortas e formação de calos em sementes de ipê-amarelo submetidas a desinfestação com NaOCl, HgCl₂ e germinadas *in vitro* em meio de cultura WPM, após 30 dias de cultivo. Santa Maria-RS/UFSM, 2010.

FV	GL	Contaminação microbiana total (%)	Plântulas normais (%)	Plantas anormais (%)	Sementes mortas (%)	Formação de calos (%)
NaOCl	4	796,4*	428,6 ^{ns}	442,9 ^{ns}	1.066,3 ^{ns}	94,1 ^{ns}
HgCl ₂	1	560,1 ^{ns}	6.526,5*	4.342,3*	467,3 ^{ns}	506,5*
Regime luminoso (L)	1	137,6 ^{ns}	592,1 ^{ns}	1.286,5 ^{ns}	15,4 ^{ns}	2,3 ^{ns}
NaOCl * HgCl ₂	4	124,7 ^{ns}	949,3 ^{ns}	475,2 ^{ns}	180,5 ^{ns}	99,0 ^{ns}
NaOCl * L	4	413,7 ^{ns}	777,9 ^{ns}	355,7 ^{ns}	1.062,5 ^{ns}	245,9 ^{ns}
HgCl ₂ * L	1	80,8 ^{ns}	227,8 ^{ns}	472,2 ^{ns}	299,9 ^{ns}	60,8 ^{ns}
NaOCl * HgCl ₂ * L	4	476,1 ^{ns}	592,1 ^{ns}	814,7 ^{ns}	319,6 ^{ns}	105,5 ^{ns}
Resíduo	77	506,5	705,4	564,5	618,1	105,5
Média	-	5,15	37,63	26,03	37,11	3,35
AS	-	0,60	0,95	0,93	-	0,89

^{ns} F não-significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro; * F significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro; AS = acurácia seletiva, faixas: ≤ 0,5 (Baixa); 0,5<AS< 0,7 (Moderada); 0,7<AS< 0,9 (Alta); >0,9 (Muito Alta).



Essa estatística corresponde à correlação linear entre os valores genotípicos e fenotípicos, em que F é o valor do teste F . A estatística AS não depende apenas da magnitude do erro experimental e do número de repetições, mas também da proporção entre as variações de natureza genética e residual associadas ao caráter em avaliação. Para valores de F menores do que um não existe AS e o experimento não tem utilidade. Para valores de F muito grande (tendendo ao infinito) os valores de AS tendem à unidade (Storck et al., 2010). Quanto maior a acurácia, maior será, também, a confiança na avaliação efetuada.

A maior média de contaminação microbiana total (15,79%) foi observada no tratamento testemunha, a qual diferiu dos demais tratamentos, compostos por diferentes concentrações do agente desinfestante, as quais não diferiram entre si (Tabela 2). Contudo, mesmo o valor mais elevado de contaminação é baixo, se comparados muitos relatos existentes na literatura. Em *Swietenia macrophylla* King, por exemplo, foi observado 89% de contaminação na ausência de desinfestação com hipoclorito de sódio (Couto et al., 2004).

O emprego de bicloreto de mercúrio reduziu significativamente a porcentagem de plantas normais, e aumentou a quantidade de plantas anormais e a formação de calos em ipê-amarelo (Tabela 3) comparado ao tratamento controle (ausência do agente desinfestante), provavelmente em decorrência de efeito fitotóxico.

O bicloreto de mercúrio é um sal de metal pesado, que, interfere no crescimento e desenvolvimento da planta, além de ser tóxico para o homem (Figueiredo, 2011). Outros trabalhos revelaram que a utilização de bicloreto de mercúrio como agente desinfestante causa uma oxidação extremamente intensa do meio de cultura impossibilitando a germinação. Isto indica a toxidez causada por esse metal pesado nos tecidos, que, por sua vez, liberaram níveis excessivos de compostos fenólicos no meio (Rhodes e Wooltor, 1978).



Tabela 2 - Médias de contaminação microbiana em sementes de ipê-amarelo submetidas a diferentes combinações de concentrações e tempos de exposição ao hipoclorito de sódio (NaOCl), após 30 dias de cultivo *in vitro* em meio nutritivo WPM. Santa Maria-RS/UFSM, 2010.

Concentração de NaOCl e tempo de exposição	Contaminação total (%)
3,0% 5 min	0,0 a*
3,5% 5 min	0,0 a
2,5% 10 min	5,0 a
2,5% 15 min	5,26 a
Controle	15,79 b

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. A letra “a” refere-se à melhor resposta *in vitro*.

Além de compostos fenólicos, os tecidos danificados também disparam outros eventos metabólicos complexos que incluem aumento na taxa de respiração, síntese de ácidos nucleicos e proteínas, síntese de etileno e liberação de outros metabólitos do vacúolo das células afetadas (Rhodes e Woollor, 1978).

Tabela 3 - Médias de plantas normais, plantas anormais e formação de calos em sementes de ipê-amarelo submetidas à desinfestação com bicloreto de mercúrio (HgCl₂), após 30 dias de cultivo *in vitro* em meio nutritivo WPM. Santa Maria-RS/UFSM, 2010.

HgCl ₂	Plantas normais (%)	Plantas anormais (%)	Formação de calos (%)
controle	45,83 a*	19,27 a	1,04 a
0,05%	29,25 b	32,65 b	5,61 b

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro. A letra “a” refere-se à melhor resposta *in vitro*.



Em *Spondias mombin* L., a maior percentagem de mortalidade dos explantes (18%) foi obtida após a aplicação de bicloreto de mercúrio e hipoclorito de sódio em conjunto (Medeiros et al., 1999). No estudo citado, com a utilização de apenas hipoclorito de sódio a contaminação foi reduzida para 10%.

Conclusão

A utilização de hipoclorito de sódio é fundamental para o controle da contaminação microbiana em sementes de ipê-amarelo. O bicloreto de mercúrio, além de não controlar a contaminação microbiana, prejudica a germinação *in vitro* de sementes, aumentando a formação de plantas anormais e a formação de calos na base dos explantes de ipê-amarelo.

Referências

CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Will. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.

COUTO, J. M. F. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de Mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n.5, p. 633-642. 2004.

FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0**. In. 45^a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.

FIGUEIREDO, M. B., Noções básicas sobre fungos, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal. **Comunicados Técnicos**. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=42. Acesso em 14 de abril de 2011.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountains laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Combined Proceedins International Plant Propagators Society**, Washington, v. 30, p. 327 - 421, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

MARTINS, L. et al. Conservação de sementes de Ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex A. DC.) Standl.) em função do teor de água das sementes e



da temperatura do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, vol.31, n.2, 2009.

MEDEIROS, C. P. C.; CORREIA, D.; BENBADIS, A. K.; LUZ, J. M. Q. Indução de gemas axilares de cajazeira (*Spondias mombin* L.) sob condições *in vitro*. **Boletim EMBRAPA**, Pesquisa em Andamento Nº 61, p.2, 1999.

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

OLIVEIRA, L. M. et al. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 138-143, dez. 2004.

OLIVEIRA, L. M. et al. Temperatura e regime de luz na germinação de sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley e *T. serratifolia* Vahl Nich. - Bignoniaceae. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 642-648, maio/jun. 2005.

RHODES, J.M.; WOOLTOR, L.S.C. **The biosynthesis of phenolic compounds in wounded plant storage tissue**. Berlin: W. de Gruyter, p. 243 - 286, 1978.

SOUSA, P. B. L. et al. Germination *in vitro* of seeds of a threatened arboreal specie in the municipal district of Abaíra (BA). **Sitientibus**, n.20, p.89-99. 1999.

STORCK, L. et al. Avaliação da precisão experimental em ensaios de competição de cultivares de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 572-578, maio/jun., 2010.



ENRAIZAMENTO IN VITRO DE ESPÉCIE MEDICINAL RECALCITRANTE DO RIO GRANDE DO SUL: *Scutia Buxifolia* REISS (RHAMNACEAE)

FERNANDES, T.S.¹; DAHMER, J.²; MARANGON, P.²; PARANHOS, J.T.³;
RUSSOWSKI, D.^{4*}

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

² Graduando, Curso de Química Industrial, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Agrônoma, Doutora, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Pós-doutoranda, Programa de Pós-graduação em Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *
rusden@terra.com.br

Resumo

Este trabalho pretende identificar sistemas de enraizamento da espécie medicinal recalcitrante do Rio Grande do Sul, utilizando estacas de *Scutia buxifolia*. Testou-se dois substratos de enraizamento: meio MS líquido ou mistura terra/vermiculita, além de diferentes tratamentos de indução radicular, como aplicação de injúria e concentrações diversas de auxina. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. O percentual de enraizamento de *S.buxifolia* foi de 12,6% em meio líquido e 8,3% para terra/vermiculita, sendo: meio líquido; dose de 6.000ppm de AIB e injúria, a combinação de melhor resultado (27,78%). A mesma combinação de variáveis também se mostrou mais eficazes para produção de partes aéreas das estacas.

Palavras-chave: Propagação vegetativa. Alcalóides Ciclopeptídicos. Fitormônios.

Introdução

Scutia buxifolia Reiss (coronilha) é uma espécie sul-rio-grandenses pertencente a família das Rhamnaceae (Backes & Irgang, 1998) e



largamente utilizada na etnofarmacologia, devido suas propriedades medicinais, atribuídas aos seus alcalóides ciclopeptídicos, denominados scutianinas (Morel et al., 1979; Menezes et al., 1995; Morel et al., 1998; Morel et al., 2005). É uma árvore de até 20 metros de altura, perene e espinescente (Reitz et al., 1983; Medan & Vasellati, 1996; Plantas Vasculares, 2009), ocorrendo na Argentina, Uruguai e em toda região sul do Brasil, (Reitz et al., 1983; Záchia e Moraes, 1999).

Na etnofarmacologia, a casca das partes aéreas, onde se encontram as scutianinas (Morel et al., 2005), é utilizada na forma de tintura como tônico cardíaco, anti-hipertensivo e diurético (Wasicky et al., 1964; Schultz, 1990). Scutianinas D e E mostraram-se ativas frente a algumas bactérias testadas (Jornada Acadêmica Integrada - Marangon e Morel, 2010).

Alcalóides ciclopeptídicos são amplamente distribuídos no reino vegetal, mas presentes em misturas e em pequenas quantidades: cerca de 0,01 a 1% da massa seca vegetal (East et al., 1998). A baixa produção natural, complexidade e rigidez molecular e estereoquímica dos centros quirais desses alcalóides são fatores de dificuldade em suas sínteses laboratoriais em escala industrial (Tan e Zhou, 2006). Assim, a indústria farmacêutica depende da exploração de matérias-primas vegetais e o cultivo *in vitro* se apresenta como alentadora solução para esses problemas através da indução e elicitação da biossíntese de metabólitos de interesse com estereoquímica desejada, garantindo a manifestação do efeito biológico correto (Zenk et al., 1977; Mariot et al., 1999). Em adição, a organogênese *in vitro* não só se torna uma ferramenta para a biossíntese de metabólitos de interesse em escala industrial, como também garante a perpetuação da espécie, em caso de extinção da mesma, através da produção de mudas e sementes de qualidade (Verpoorte & Maraschin, 2001). Isso se torna relevante, pois atualmente o Brasil é um importador de extratos vegetais e um exportador de germoplasmas (Younes et al., 2000; Barbosa, 2007; Younes et al., 2007). A propagação vegetativa ajuda na introdução de espécies na farmacopéia brasileira, agrega valor econômico aos produtos farmacêuticos, faz a manutenção do equilíbrio dos



ecossistemas, além de garantir propriedade intelectual, controlando a biopirataria (Pavarino, 1995; di Stasi, 1996; Sheldon et al., 1997; Verpoorte e Maraschin, 2001; Barbosa, 2007). Estudos buscando otimizar sistemas de geração de biomassa cataliticamente ativa através da propagação vegetativa têm sido desenvolvidos com sucesso em diversas espécies (Verpoorte e Maraschin, 2001; Nicoloso et al., 2003; Henriques et al., 2004; Russowski et al., 2006).

O enraizamento adventício é essencial para propagação vegetativa de espécies lenhosas economicamente importante (Fett-Neto et al., 2001), como é o caso de *S. Buxifolia*, que além de fornecer princípios ativos medicinais, sua madeira, resistente e pesada, é muito usada para moirões e postes (Schultz, 1990). O processo de indução ao enraizamento em espécies lenhosas é complexo, o qual é afetado por múltiplos fatores entre eles fitormônios, compostos fenólicos, status nutricional, características genéticas, bem como pode estar associado às respostas de estresse, como danos, seca, humidade, frio ou calor (Fett-Neto et al., 2001; Russowski e Nicoloso, 2003). O potencial de enraizamento das estacas depende das condições internas da planta-matriz e das condições ambientais a que elas são submetidas (Murata et al., 2002). Em adição, auxinas parecem desempenhar papel crucial na capacidade de enraizamento de estacas (Fett-Neto et al., 2001).

Dentro desse contexto, apesar de *S.buxifolia* apresentar perfil fitoquímico relativamente bem caracterizado (Menezes et al., 1995; Morel et al., 1998; Maldaner, 2005; Morel et al., 2005), nada se conhece a respeito de sua vias de propagação vegetativa, de modo que ao conhecê-la, será possível manipular as vias biossintética dos alcalóides e sua produção e esta é a próxima fase dos trabalhos com *S. buxifolia*.

Metodologia

Partes aéreas de *S.buxifolia* foram coletadas na região de São Martinho da Serra (RS). A assepsia das estacas apicais de 12-15 cm consistiu em lavagem em água corrente por 15 minutos, seguida de imersão em solução de hipoclorito 2,5% por 10 minutos e três lavagens de 5 minutos



em água destilada. Após, metade das estacas foram injuriadas na base com um corte. Posteriormente, a base de todas as estacas foram imersas em soluções de Ácido Indol Butírico (AIB) de 0, ou 3.000 e ou 6.000 ppm, por 10 ou 20 segundos, antes da inoculação em dois diferentes substratos, perfazendo um total de 24 tratamentos (Ferimento 2 X concentrações AIB 3 X substratos 2 X tempo 2). Foram utilizadas 10 unidades experimentais por tratamento, consistindo de uma estaca por frasco. O substrato líquido se compunha de 200 mL de meio Murashige & Skoog – MS (1962) 10%, isento de ágar, sacarose e vitaminas, em frascos de vidro de 250 mL, cobertos por papel pardo. O substrato sólido consistiu de 200 mm³ de mistura de terra 2:1 vermiculita, em copos plásticos opacos de 250 mL perfurados na base.

As unidades experimentais foram mantidas em sala de crescimento, com fotoperíodo (16 h), luminosidade ($\sim 40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) controlados, por 120 dias. Parâmetros de crescimento número de brotações, de folhas, percentual de enraizamento e de sobrevivência (não mostrado) foram tomados a cada semana e o delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. ANOVAS e Teste de Duncan foram executados quando apropriado, com nível de significância de 95%, pelos softwares Microsoft® Excell 2003 e SPSS for Windows.

Resultados e discussões

Análises estatísticas preliminares revelaram que não existe diferença significativa para a variável tempo. Desse modo, os resultados serão apresentados apenas com as demais variáveis (ferimento, doses de AIB e substrato).

Dentre os tratamentos, a combinação meio MS 10% líquido, explantes imersos em 6.000 ppm de AIB e com injúria na base, foi aquela de melhor rendimento em termos de número de brotações, número de folhas novas e percentual de enraizamento. O tratamento constituído de substrato terra 2:1 vermiculita, explantes imersos em 3.000 ppm, mas isentos de injúria, foi o melhor entre aqueles que utilizaram o substrato



sólido, para os mesmos parâmetros (Fig.1). Observa-se que a natureza do substrato influencia no conjunto de indutores radiculares, de modo que o meio líquido apresentou estacas com melhores resultados para os parâmetros de crescimento das partes aéreas e raízes quando injuriadas e submetidas à maior dose de AIB. O oposto foi apresentado pelo substrato sólido utilizado: ausência de injúria e a menor dose de AIB foram os critérios presentes no melhor resultado apresentado pelo substrato terra 2 :1 Vermiculita. Pode-se estender estes resultados no sentido de que a natureza sólida do substrato substitui o ferimento (dano físico), na indução radicular. Tal fenômeno já era esperado quando se traz à luz o fato de que estresses mecânicos auxiliam na indução/formação de raízes (Fett-Neto et al., 2001). Meios líquidos oferecem maior contato entre os nutrientes e o explante, além de favorecer a disponibilidade e a captação dos mesmos, acarretando uma certa homeostasia, e consequentemente gerando resultados positivos na produção de partes aéreas e raízes. Meios e substratos sólidos, pela maior dificuldade em disponibilizar os nutrientes, atuam como agentes estressantes, favorecendo a indução radicular (Fett-Neto et al., 2001; Russowski et al., 2006). Por isso, especula-se que devido a falta de estresse gerado pelo meio líquido, se faz necessária a associação da injúria à uma dose mais alta de AIB. Substratos sólidos por si só, já oferecem resistência e, por isso, não houve necessidade de altas doses de auxinas, nem mesmo de ferimento.

Na tentativa de se confirmar qual o melhor substrato, isolando-o dos efeitos da ação de fitormônio e injúria, foi verificado que o meio líquido é significativamente melhor que o meio sólido para o parâmetro percentual de enraizamento, já que o presente visa o desenvolvimento do sistema radicular em um substrato que permita a manipulação e o estabelecimento de culturas estáveis, para posterior produção de compostos de interesse.

Culturas líquidas podem proporcionar ótimos sistemas de cultivo, permitindo a propagação biológica das plantas para fins de modulação de geração de biomassa e estudo de composição fitoquímica. Em adição, meios líquidos ocasionam índice menores de hiperhidricidade do que meios sólidos e semi-sólidos (Russowski et al., 2006). Além disso,



sistemas de cultivo em meio líquido pouco interferem na produção de metabólitos vegetais, sendo sua produção facilmente manipulada, principalmente quando se trata de culturas de plantas medicinais.

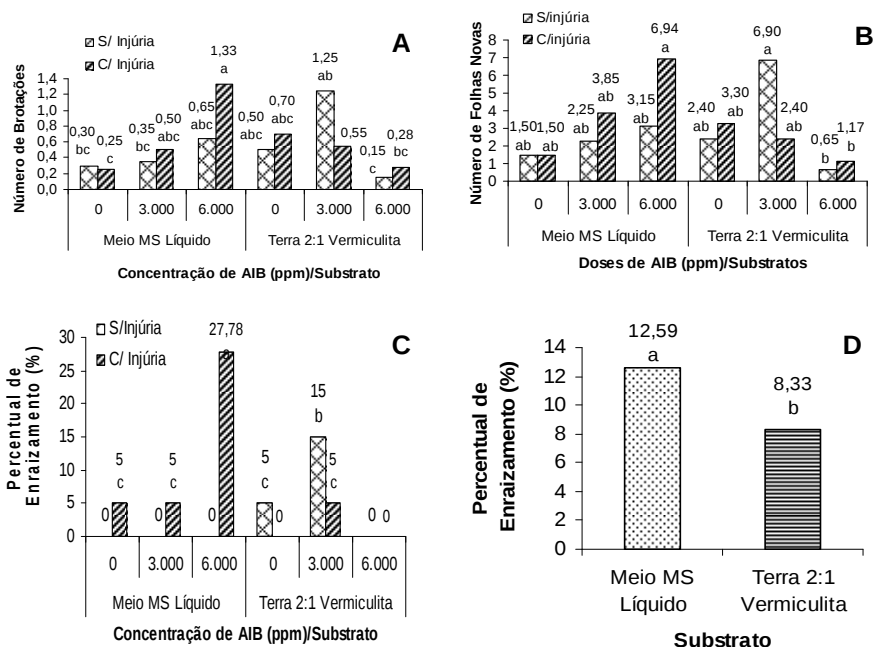


Figura 2 - Efeito dos substratos e tratamentos de indução radicular em estacas de *Scutia buxifolia* nas partes aéreas (A e B) e nas raízes (C e D).

Em comparação, a estaquia de lenhosas em meio/substrato sólido é capaz de originar plantas com maior uniformidade do que as oriundas de sementes (Murata et al., 2002), e daquelas provenientes da propagação clonal via germinação *in vitro* (Preece et al., 1991; Lakshmanan et al., 1997), embora todas apresentem dificuldade de enraizamento. Estacas lenhosas de porta-enxerto de pereira (*Pyrus betulafolia* Bunge), sem adição de fitormônios, mas injuriadas na base apresentaram excesso de produção de gemas e enraizamento quase nulo (Murata et al., 2002). O mesmo porta-enxerto de pereira (*Pyrus betulafolia*) apresentou 76% de



enraizamento quando tratado com 3.000 ppm de AIB, sem injúria (Simonetto, 1990). Resultados variados e inversos aos obtidos aqui já foram observados, de modo a caracterizar o complexo processo de indução/formação de raízes. Enraizamento de estacas de *Eucalyptus globulus* Labill foi obtido a partir da exposição a 10 mg.L⁻¹ de AIB, por quatro dias, no escuro durante a etapa de formação das raízes. Neste caso, um maior tempo de exposição a auxina foi eficaz, em detrimento do uso de dose mais expressiva, bem como a necessidade de ausência de luz. O aumento da idade do explante coopera para perda da capacidade de enraizamento (Fett-Neto et al., 2001).

Conclusão

Apesar dos baixos valores obtidos para percentual de enraizamento, o meio líquido consiste em uma excelente alternativa para geração de biomassa cataliticamente ativa, carecendo de novos estudos, utilizando-se outras variáveis indutoras, como uso de auxinas mais lábeis, influência da luz, novas formas de administração de fitormônios e uso ou não de carvão ativado.

Referências

- BACKES, A.; IRGANG, B. **Árvores, arbustos e algumas lianas nativas do Rio Grande do Sul**. Editora Unisinos. São Leopoldo. 1998. 202p.
- BARBOSA, S. **Ervas brasileiras enriquecem capital estrangeiro**. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br>>. Acesso em: Nov/2007.
- di STASI, L.C. (org.). **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. UNESP, São Paulo, 1996. 230p.
- EAST, S.P.; et al. Total synthesis of the cyclopeptide alkaloid sanjoinine G1 and its C-11 epimer. **Tetrahedron**, v. 54, p. 13371-13390, 1998.
- FETT-NETO, A.G. et al. **Distinct effects of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globulus* Tree Physiology**, Victoria, Canadá, v. 21, n. 7, p. 457–464, mai 2001.
- HENRIQUES, A.T.; et al. N,B-D-glucopyranosil vincosmide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa*. **Phytochemistry**, v.65, n. 4p.449-454, 2004.



JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA DA UFSM –JAI, 25^a , 2010, Santa Maria. **Anais eletrônicos...** Santa Maria: UFSM, 2010 Disponível em: <http://portal.ufsm.br/jai/anais/trabalhos/trabalho_1041217598.htm> Acesso em: 18 abr. 2011.

LAKSHMANAN, P.; LEE, C.-L.; GOH, C.-J. An efficient in vitro method for mass propagation of a woody ornamental *Ixora coccinea* L. **Plant Cell Reports**, v.16, n. 8 p. 572-577, 1997.

MALDANER, G. **Estudo dos metabólitos secundários de Condalia buxifolia e Scutia buxifolia e suas atividades antimicrobianas**. 2005. 96f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

MARIOT, A.; et al. (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Editora da Universidade/ UFRGS, Porto Alegre, 1999. 821p.

MEDAN, D.; VASELLATI, V. Nonrandom mating in *Discaria americana* (Rhamnaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 201, n. 1/2, p. 233-241, 1996.

MENEZES, A.S. et al. Scutianine-J, a cyclopeptidic alkaloid isolated from *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 3, p.783-786, 1995.

MOREL, A.F.; et al. Peptide alkaloids of *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v. 18, p. 473-477, 1979.

MOREL, A.F.; et al. Cyclopeptide alkaloids of *Scutia buxifolia*. **Phytochemistry**, v. 47, p. 125-129, 1998.

MOREL, A.F.; et al., Cyclopeptide alkaloids from *Scutia buxifolia* Reiss and their antimicrobial activity. **Phytochemistry**, v. 66, n. 21, p. 2571-2576, 2005.

MURATA, I.M., et al. Enraizamento de estacas lenhosas de porta-enxertos de pereira sob nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**; v.24, n.2, p. 583-585, ago. 2002.

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

NICOLOSO, F.T. et al. Efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n.1, p.84-90, 2003.

PAVARINO, M.A. **Viabilidade de miniestaquia de raízes em cinco espécies de uso medicinal**. Brasília: Universidade de Brasília, 1995. 12p. (Mineogr.)

PREECE, J.E., et al. Micro- and Cutting Propagation of Silver Maple: I. Results with Adult and Juvenile Propagules. Journal of the American Society for Horticultural Science, v. 116, n.1, p. 142-148.1991.



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



PLANTAS VASCULARES. Disponível em:
<<http://www.plantasvasculares.uns.edu.ar/herbario/galeria/pehuen/d.html>>.
Acesso em: abril 2009.

REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul.** Sellowia , Itajaí-SC. 1983. 525p.

RUSSOWSKI, D. et al. Role of light and medium composition on growth and valepotriate contents in *Valeriana glechomifolia* whole plant liquid cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.86, p. 211-218, 2006.

SCHULTZ, A. **Introdução à botânica sistemática.** Editora Sagra (Universidade Federal do Rio Grande do Sul). 6 ed, Porto Alegre. v.2,. 1990. p.191.

SHELDON, J.W.; BALIK, M.J. & LAIRD, S.A. **Medicinal Plants: can utilization and conservation**

coexist? In: Advances in economic botany. New York Botanic Garden, New York , v.12, 1997. 104 p.

SIMONETTO, P. R. **Propagação de *Pyrus calleryana* Dcne e *Pyrus betulaefolia* Bunge, porta-enxertos para pereira, através do processo de estaquia.** 1990. 59f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - FAEM/Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS: 1990.

TAN, N.-H.; ZHOU, J. Plant cyclopeptides. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 3, p. 840-895, 2006.

VERPOORTE, R., MARASCHIN, M. **Engenharia do metabolismo de plantas medicinais.** In: YUNES, R.A. & CALIXTO, J.B., Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó:Argos. 2001. 500p.

WASICKY, R.; WASICKY, M.; JOACHIMOVITS, R. Erstuntersuchungen na Coronilha – *Scutia buxifolia* Reissek. **Planta Medica**, v.12, p. 13-25, 1964.

YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D.; SUFFREDINI, I.B. Selection, extration and identification of new anti-cancer drugs from Brazilian plants. **Acta Oncológica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 15-19, 2000.

YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D.; SUFFREDINI, I.B. Discovery of new antitumoral and antibacterial drugs from brazilian plant extracts using high throughput screening. **CLINICS**, v. 62, n. 6, p. 763-768, 2007.

ZÁCHIA, N.R.B.; MORAES, D. Estudos taxinômicos dos gêneros *Discaria* Hooker e *Colletia* Commerson Ex Jussieu (Rhamnaceae) no Rio Grande do Sul. **Pesquisas Botânicas**, v. 49, n. 7, p. 121-142, 1999.

ZENK, M.H.; et al., (eds). **Plant tissue culture and its biotecnological application.** Springer-Verlag, Berlin, 1977. 27p.



USO DE FITORREGULADORES NA MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DE CANAFÍSTULA

CANDIDO, D.F.^{1*}; REINIGER, L.R.S.²; BASSAN, J. S.³; CURTI, A.R.¹;
SILVA, C.K.⁴

¹ Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: danieliferneda@yahoo.com.br.

² Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Fitotecnica - Santa Maria, RS, Brasil.

³ Instituto Federal Farroupilha, Campus de Júlio de Castilhos, RS.

⁴ Curso de Engenharia Florestal, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

A canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) é uma espécie florestal que encontra-se ameaçada de extinção, o que justifica a realização de pesquisas em conservação e propagação por meio da cultura de tecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fitorreguladores na multiplicação *in vitro* de canafístula. Utilizou-se o delineamento blocos ao acaso, em esquema trifatorial 3x3x2, composto por diferentes concentrações de Ácido Alfa-Naftaleno Acético (ANA), de 6-Benzilaminopurina (BAP) e de Ácido Giberélico (GA₃) adicionadas ao meio nutritivo MS, totalizando 18 tratamentos, em seis repetições, compostas por um frasco contendo um segmento apical caulinar. Os dados de presença de brotos foram analisados pelo teste qui-quadrado e aqueles do número de nós foram submetidos à análise de variância e de contrastes ortogonais. Foram observadas diferenças entre os tratamentos testados em relação à presença de brotos e número de nós. A citocinina BAP isolada, na máxima concentração avaliada (8 µM) ou na metade desta concentração, porém associada a ANA (0,05 µM) e GA₃ (0,2 µM), é essencial para a formação de brotos. Para estimular o número de nós em canafístula o melhor tratamento é a combinação ANA (0,05 µM), BAP (4,4 µM) e GA₃ (0,2 µM).

Palavras-chave: Cultura de tecidos. Espécie florestal. 6-Benzilaminopurina. GA₃.



Introdução

A canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) é uma árvore semicaducifólia da família Fabaceae, conhecida também como acácia-amarela ou angico (Carvalho, 1994; Lorenzi, 1992; Marchiori, 1997). É uma espécie florestal, nativa, heliófila (Marchiori, 1997), com ampla dispersão geográfica e papel pioneiro em áreas abertas, em capoeiras e matas degradadas, sendo classificada como secundária principal (Carvalho, 1994). É característica da floresta latifoliada semidecídua da Bacia do Paraná (Botelho e Perez, 2001), sendo expressiva tanto em florestas primárias densas como em formações secundárias (Lorenzi, 1992), apresentando, portanto, valor ecológico (Carvalho, 1994). Caracteriza-se pelo grande porte e crescimento rápido (Carvalho, 1994), com tronco cilíndrico mais ou menos reto ou levemente curvo e achatado, podendo atingir até 35 m de altura (Marchiori, 1997) e diâmetro entre 40 a 120 cm, podendo chegar a 300 cm (Carvalho, 1994). Apresenta importância econômica, sendo sua madeira utilizada para diversos fins. Em decorrência do uso predatório, encontra-se ameaçada de extinção, tornando-se importante a conservação de seu germoplasma, bem como a pesquisa relacionada à propagação vegetativa. Técnicas de cultura de tecidos podem ser empregadas para ambas as finalidades referidas.

Em cultura de tecidos, um dos principais fatores que controlam a morfogênese são os fitorreguladores, particularmente o balanço auxina:citocinina no meio de cultura (Handro e Floh, 1990). As citocininas constituem o grupo de reguladores de crescimento indispensáveis para promover a diferenciação celular e dos tecidos (Cid, 2000). A citocinina 6-Benzilaminopurina (BAP) tem sido usada com sucesso na indução de brotações adventícias a partir de explantes de macieira (*Malus domestica* Borkh.) (Sarwar e Skirvin, 1997). Nesta espécie, o Ácido alfa-Naftalenoacético (ANA) revelou efeito sinérgico com BAP na formação de brotações adventícias, porém quantidades elevadas de auxinas estimularam a produção de calos (Rubos e Pryke, 1984). As giberelinas, por sua vez, são consideradas indutoras no alongamento de entrenós em



alguns tipos de plantas, como espécies anãs ou em rosetas de gramíneas. O efeito das giberelinas está relacionado à estimulação do crescimento de órgãos, como o alongamento de eixos caulinares (Mantovani e Franco, 1998). Contudo, ainda não se conhecem, no cultivo *in vitro*, as reais funções das giberelinas, pois são poucas as espécies que mostram alguma resposta a essa classe de fitorregulador (Caldas et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fitorreguladores na multiplicação *in vitro* de canafístula.

Material e métodos

Sementes de canafístula provenientes de material coletado e armazenado na Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária - FEPAGRO/Florestas em Santa Maria, RS forneceram os explantes utilizados neste experimento. Os explantes consistiram de segmentos apicais caulinares obtidos de plântulas germinadas assepticamente em meio ágar-água, isolados aos 30 dias de cultivo, quando apresentavam tamanho de 8 a 10 mm de comprimento e 1 a 2 nós.

O meio de cultura utilizado foi o meio base MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e fitorreguladores (ANA, BAP e GA₃) conforme o tratamento. O pH foi ajustado para 5,7 antes da adição do ágar na concentração de 7 g L⁻¹. A esterilização do meio foi efetuada através de autoclavagem a 121°C e 1,5 atm por 15 minutos. Após a inoculação dos explantes em meio de cultura, os frascos foram vedados com uma película plástica de polivinilcloreto (PVC) e mantidos em sala de crescimento sob temperatura de 25±3°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade de fluxo de fótons de 20 μmol m⁻² s⁻² fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias tipo luz do dia.

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, em esquema trifatorial 3 x 3 x 2: constituído por concentrações de ANA (0; 0,05 e 0,5 μM), de BAP (0; 4,4 e 8,8 μM) e de GA₃ (0 e 0,2 μM), totalizando 18 tratamentos, em seis repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um frasco de vidro de 150 mL contendo 30 mL de meio de cultura e um explante. Após 35 dias do início de experimento avaliaram-



se o número de nós e a presença de brotos. Os dados de presença de brotos foram analisados pelo teste qui-quadrado. Quando este foi significativo procedeu-se, adicionalmente, à análise de resíduos padronizados, conforme Pereira (2001), para identificar as frequências observadas que desviaram significativamente das frequências esperadas. Os resultados da variável número de nós foram submetidos à análise de variância e em seguidas transformados para $\sqrt{x + 0,01}$, sendo X o valor obtido. Quando ocorreram efeitos significativos dos fatores principais ou das interações foram efetuadas análises de contrastes ortogonais. Foi utilizado o programa estatístico SANEST (Zonta e Machado, 1987).

Resultados e discussão

Foram observadas diferenças entre os tratamentos testados ($\chi^2=42,84$ significativo a $p<0,05$) em relação à presença de brotos (Tabela 1). Formação superior à esperada foi observada na presença de BAP (8,8 μM) isolado ou na associação de ANA (0,05 μM), BAP(4,4 μM) e GA_3 (0,2 μM). Ao contrário, formação inferior à expectativa foi encontrada em dois tratamentos: na ausência de fitorreguladores e na combinação de ANA (0,05 μM) e GA_3 (0,2 μM), ou seja, na ausência de citocinina. Contudo, em outras combinações de fitorreguladores que não incluíram a citocinina não foram observadas diferenças entre o observado e o esperado. O mesmo ocorreu na combinação BAP (8,8 μM), ANA (0,05 μM) e GA_3 (0,2 μM). O emprego de BAP isolado (8,8 μM) ou da associação de BAP (4,4 μM), ANA (0,05 μM) e GA_3 (0,2 μM) teve, portanto, influência positiva na formação de brotos. Estes resultados sugerem que a adição da citocinina isolada na máxima concentração testada colabora com a formação de um balanço hormonal favorável à formação de brotos. Entretanto, quando é adicionada na metade dessa concentração de BAP, é necessário incluir ANA e GA_3 para obter-se a mesma resposta.

Maior número de brotos foi formado no tratamento que continha a associação de ANA (0,05 μM), BAP (4,4 μM) e GA_3 (0,2 μM), conforme pode ser observado na Tabela 2. Esta combinação também influenciou positivamente a presença de brotos. Outros tratamentos que se



destacaram neste quesito foram aqueles que continham BAP na sua composição. Isto indica que a presença de BAP é essencial para induzir a formação de brotos em canafístula.

Tabela 1 – Análise de resíduos padronizados (z) referente à presença de brotos formados em segmentos apicais caulinares de canafístula cultivados *in vitro* em meio nutritivo MS, acrescido de fitorreguladores, isolados ou combinados, conforme o tratamento, aos 60 dias de cultivo.

Fitorreguladores	o_i	Total	e_i	z^2
Controle	1	19	4,91	-2,10
4,4 μ M BAP	5	23	5,95	-0,47
8,8 μ M BAP	10	22	5,69	2,16
0,2 μ M GA ₃	2	22	5,69	-1,81
4,4 μ M BAP + 0,2 μ M GA ₃	7	21	5,43	0,79
8,8 μ M BAP + 0,2 μ M GA ₃	4	18	4,66	-0,36
0,05 μ M ANA	2	23	5,95	-1,94
0,05 μ M ANA + 4,4 μ M BAP	8	18	4,66	1,84
0,05 μ M ANA + 8,8 μ M BAP	6	22	5,69	0,16
0,05 μ M ANA + 0,2 μ M GA ₃	1	23	5,95	-2,38
0,05 μ M ANA + 4,4 μ M BAP + 0,2 μ M GA ₃	13	24	6,21	3,27
0,05 μ M ANA + 8,8 μ M BAP + 0,2 μ M GA ₃	7	19	4,91	1,12
0,5 μ M ANA	3	21	5,43	-1,25
0,5 μ M ANA + 4,4 μ M BAP	8	21	5,43	1,32
0,5 μ M ANA + 8,8 μ M BAP	5	20	5,17	-0,09
0,5 μ M ANA + 0,2 μ M GA ₃	2	19	4,91	-1,57
0,5 μ M ANA + 4,4 μ M BAP + 0,2 μ M GA ₃	7	20	5,17	0,96
0,5 μ M ANA + 8,8 μ M BAP + 0,2 μ M GA ₃	6	20	5,17	0,43
Total	97	375		

¹ Resíduos (z) maiores que 1,96 e menores que -1,96 (destacados em negrito) são significativos ao nível de 5% de probabilidade.



Tabela 2 – Distribuição de frequência do número de brotos formados em segmentos apicais caulinares de canafístula cultivados *in vitro* em meio nutritivo MS, acrescido de fitorreguladores, isolados ou combinados, conforme o tratamento, aos 60 dias de cultivo.

Fitorreguladores	Número de brotos					Total
	0	1	2	3	4	
Controle	3	0	0	0	0	0
4,4 µM BAP	1	3	2	0	0	7
8,8 µM BAP	3	2	2	0	0	5
0,2 µM GA ₃	4	1	0	0	0	1
4,4 µM BAP+0,2 µM GA ₃	4	2	3	0	0	7
8,8 µM BAP+0,2 µM GA ₃	2	1	1	0	0	3
0,05 µM ANA	4	0	0	0	0	0
0,05 µM ANA+4,4 µM BAP	2	3	2	0	0	7
0,05 µM ANA+8,8 µM BAP	3	2	1	0	0	4
0,05 µM ANA+0,2 µM GA ₃	2	2	0	0	0	2
0,05 µM ANA+4,4 µM BAP+0,2 µM GA ₃	0	6	3	0	0	12
0,05 µM ANA+8,8 µM BAP+0,2 µM GA ₃	4	2	3	0	0	8
0,5 µM ANA	4	1	1	0	0	3
0,5 µM ANA+4,4 µM BAP	2	6	0	0	0	6
0,5 µM ANA+8,8 µM BAP	3	1	1	0	0	3
0,5 µM ANA+0,2 µM GA ₃	5	0	0	0	0	0
0,5 µM ANA+4,4 µM BAP+0,2 µM GA ₃	3	1	2	0	0	5
0,5 µM ANA+8,8 µM BAP+0,2 µM GA ₃	2	2	0	0	1	6
Total						79

Em paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke) a concentração 3 mg L⁻¹ de BAP foi a que apresentou maior número médio de brotos (Cordeiro et al., 2004). Para os autores, o efeito benéfico do BAP na multiplicação de brotações relaciona-se à influência desse regulador de crescimento na divisão celular e na liberação das gemas axilares inibidas pela dominância apical. Em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire), o maior número médio de brotações foi observado na presença de BAP e na



ausência de AIB (Zaniolo e Zanette, 2002). Em caixeta (*Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne. et. Planch.), o aumento na concentração de BAP incrementou a indução de brotações até a concentração de 1 mg L^{-1} ($4,44 \mu\text{M}$), na qual foi obtida a maior taxa (87,5%). Já com o emprego de 10 mg L^{-1} ($44,4 \mu\text{M}$) este valor reduziu-se para 52,5% (Mantovani et al., 1999).

Para número de nós houve diferenças significativas apenas para os efeitos principais BAP e GA_3 . Em relação à BAP, a sua presença não foi importante, ou seja, não houve diferença entre as médias na ausência deste fitorregulador e na presença das duas concentrações testadas (médias de 4,74 e 5,07 para ausência e presença respectivamente). A presença de GA_3 revelou-se essencial à formação de nós (médias de 0,048 e 0,041 para presença e ausência respectivamente), podendo ser considerado necessário à diferenciação celular em canafístula.

Conclusão

A citocinina BAP isolada, na máxima concentração avaliada ($8 \mu\text{M}$) ou na metade desta concentração, porém associada a ANA ($0,05 \mu\text{M}$) e GA_3 ($0,2 \mu\text{M}$), é essencial para a formação de brotos. Para estimular o número de nós em canafístula o melhor tratamento é a combinação ANA ($0,05 \mu\text{M}$), BAP ($4,4 \mu\text{M}$) e GA_3 ($0,2 \mu\text{M}$).

Referências

- BOTELHO, B.A.; PEREZ, S.C.J.G.A. Estresse hídrico e reguladores de crescimento na germinação de sementes de canafístula. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.1, p.43-49, 2001.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. p.533-568.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira**. Colombo: EMBRAPA – CNPF, 1994. 640 p.
- CID, L.P.B. (Ed.) Citocininas. In: CID, L.P.B. **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília: EMBRAPA, 2000. Cap.2, p.83-105.



CORDEIRO, I. M. C. C., LAMEIRA, O. A., OHASHI, S. T., ROSAL, L. F. Efeito do BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (paricá). **Cerne**, Lavras, v. 10, n. 1, p. 118-124, 2004.

HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. Aspectos básicos de controle da morfogênese *in vitro*. In: TORRES,

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 1992. v.1, 161 p.

MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E.T.H. **Cultura de tecidos de plantas lenhosas**. Santa Maria: UFSM, CEPEF, FATEC, 1998. 28 p.

MANTOVANI, N.C. et al. Micropropagação de caixeta, *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Dcne. et Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.9, n.1, p.47-61, 1999.

MARCHIORI, J.N.C. **Dendrologia das angiospermas**: leguminosas. Santa Maria: UFSM, 1997. 200p.

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

PEREIRA, J.C.R. **Análise de dados qualitativos**: estratégias metodológicas para as ciências da saúde, humanas e sociais. 3.ed. São Paulo: EDUSP/FAPESP, 2001. 160 p.

RUBOS, A.C.; PRYKE, J.A. Morphogenesis in embryonic tissue culture of apple. **Journal of Horticultural Science**, Ashford Kent, v.59, n.4, p.469-475, 1984.

SARWAR, M.; SARVIN, R.M. Effect of thidiazuron and 6-benzylaminopurine on adventitious shoot regeneration from leaves of three strains of 'McIntosh' apple (*Malus X domestica* Borkh) *in vitro*. **Scientia horticulturae**, Amsterdam, v.68, p.95-100, 1997.

ZANIOLO, S. R., ZANETTE, F. Micropropagação de erva-mate a partir de segmentos nodais. **Scientia Agrária**: Curitiba, V. 2, N. 1-2, p. 31-36, 2002.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **SANEST**: Sistema de análise estatística para microcomputadores. Pelotas: DMEC/IFM/UFPEL, 1987. 138p.



ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO DE INDUÇÃO À CALOGÊNESE E REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE *BRUGMANSIA SUAVEOLENS* BER. & PRESL. A PARTIR DE EMBRIÕES MADUROS

MONTANUCCI, C.A.R.¹; ZADINELO, I.V.^{2*}; SERENISKI, R.M.²;
VENDRUSCOLO, E.C.G.³; ROMANI, I.⁴; FONSECA, M.S.³;
MISSIO, R.F.³; ECHER, M.M.⁵

¹ Mestranda, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Nível mestrado, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil.

² Graduando, Curso de Tecnologia em Biotecnologia, Setor *Campus* Palotina, Universidade Federal do Paraná, Palotina, PR, Brasil. * izabelzadinelo@hotmail.com

³ Doutor(a), professor(a), Universidade Federal do Paraná, *Campus* Palotina, Palotina, PR, Brasil.

⁴ Doutorando em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

⁵ Doutora, professora, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Nível mestrado, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil.

Resumo

Brugmansia suaveolens Ber. & Presl. é uma planta medicinal pertencente à família das solanaceae que produz metabólitos secundários (alcalóides) com grande importância industrial. O trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo de regeneração eficiente de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. a partir de embriões maduros. Foram usados para indução, manutenção e regeneração o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com a metade da concentração de macro e micronutrientes, com concentrações decrescentes e combinadas de 2,4-D (0; 0,5 e 1mg.L⁻¹) e KIN (0; 0,5 e 1mg.L⁻¹), totalizando 9 tratamentos. Foram avaliados os índices de regeneração, porcentagens de indução, tamanho de calos, germinação de embriões, número de pontuações verdes e o número de plântulas regeneradas. Aplicou-se o teste de Tukey a 5% por meio do programa estatístico SISVAR. Foi obtido um protocolo eficiente de regeneração de plantas a partir de embriões maduros para esta espécie. A



ausência de reguladores promove a formação de calos, mas não a regeneração de plantas de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl..

Palavras-chave: *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl.. Calogênese. Regeneração. Embrião Maduro. Biotécnicas.

Introdução

O trombeteiro (*Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl.) é uma planta medicinal pertencente à família das *solanaceae* que produz metabólitos secundários da classe dos alcalóides com grande importância para a indústria farmacêutica (Sato et al., 2001). A produção do alcalóide é freqüentemente tecido específico. Em *Datura* L., *Brugmansia* Ber. & Presl., *Atropa* L., *Hyoscyamus* L. e outras plantas, o sítio de produção do alcalóide é a raiz (Robins, 1991) e, posteriormente estes alcalóides são transportados para as partes aéreas (Yukimune et al., 1994).

Na literatura, são escassos os trabalhos com a indução à calogênese e regeneração de plantas em *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl.. Outro ponto é que, pela importância farmacêutica desta espécie, o estabelecimento de um eficiente sistema de cultura de tecidos e regeneração de plantas é pré-requisito fundamental para a engenharia genética, principalmente utilizando-se o sistema *Agrobacterium* para inserção de genes e obtenção de cultura de raízes (hairy roots) com a finalidade de obter sistemas *high scale* comerciais (Sheludko, 2010) e prover um grande número de regenerantes em pouco espaço de tempo (Nithiya e Arockiasamy, 2007).

Para se conseguir a transformação genética com *Agrobacterium rhizogenes* é necessário se conhecer diversos fatores como a resposta da espécie frente à cultura de tecidos *in vitro* e a sua regeneração (Niño et al., 2003). Vários fatores podem afetar a performance de diferentes espécies em cultivo *in vitro*: composição de macro e micronutrientes, vitaminas, aminoácidos ou outras fontes suplementares, açúcares, compostos orgânicos (suco de laranja, água de coco), agentes geleificantes e reguladores de crescimento (Parsaeimehr e Alizadeh, 2010).



O objetivo deste trabalho foi o estabelecimento de protocolo de regeneração eficiente de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. com a cultura de calos e regeneração de plantas a partir de embriões maduros .

Materiais e métodos

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Bioquímica e Genética (LABIOGEN), da Universidade Federal do Paraná - *Campus* Palotina. Neste estudo foram utilizadas sementes de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. do biótipo branco, oriundas de uma propriedade do município de Palotina - Pr. As sementes foram coletadas de mesma planta e tiveram os tegumentos retirados mecanicamente. Para a assepsia, em câmara de fluxo laminar , estas foram submergidas em álcool 70% por 5 min. e em hipoclorito de sódio 2% acrescido com duas gotas de TWEEN 80, por 20 min e após foram lavadas três vezes em água destilada e autoclavada. Em seguida, os embriões foram excisados com auxílio de um estereomicroscópio e bisturi, e foi feito um corte longitudinal afim de retirar os embriões.

Foram usados para indução, manutenção e regeneração o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com a metade da concentração de macronutrientes e micronutrientes com concentrações decrescentes de 2,4-D (Ácido 2,4- Diclorofenoxiacético) e KIN (cinetina) solidificados com 8.0 g.L⁻¹ de ágar, contendo 30 g.L⁻¹ de sacarose e carvão ativado 1 g.L⁻¹ e com pH ajustado para 5.8 (Tabela 1).

Em todas as etapas do cultivo, a temperatura 23°C [±] 2. Nas fases de indução os embriões permaneceram no escuro por 7 dias e nas fases de manutenção e regeneração, à luz com fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro.

Após 30 dias de cultivo em meio indutor, os embriões foram avaliados quanto à formação de calos. Decorridos 15 dias (45º dia) na fase de manutenção, o número de pontuações verdes foi avaliado. O número de plântulas regeneradas foi avaliado no 60º dia. Para a quantificação do tamanho dos calos utilizou-se de um paquímetro de precisão (0,1 mm). O número de embriões germinados foi também quantificado.



Tabela 1 - Concentração dos reguladores de crescimento nas fases de indução, manutenção.

Concentração de Reguladores de Crescimento		
Tratamentos	2,4-D (mg L ⁻¹)	KIN (mg L ⁻¹)
Indução		
T1	0,0	0,0
T2	0,0	0,5
T3	0,0	1,0
T4	0,5	0,0
T5	0,5	0,5
T6	0,5	1,0
T7	1,0	0,0
T8	1,0	0,5
T9	1,0	1,0
Manutenção		
T2	0,0	0,25
T3	0,0	0,5
T4	0,25	0,0
T5	0,25	0,25
T6	0,25	0,5
T7	0,5	0,0
T8	0,5	0,25
T9	0,5	0,5

A análise de variância foi realizada considerando as diferentes combinações de reguladores como tratamentos e, as placas, como repetições, aplicando-se o teste Tukey a 5% para diferenciar as médias por meio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).



Resultados

As etapas de inducao de calos e obtencao de plântulas regeneradas estao demonstradas na Figura 1. Os explantes utilizados foram embriões maduros com cerca de 2 à 3 mm (Figura 1A). A iniciacao da formacao de calos foi observada a partir de 30 dias após os embriões terem sido dispostos no meio de cultura (Figura 1C). Os calos embriogênicos foram observados no meio de manutencao a partir do 40º dia (Figura 1D). As plântulas com um sistema radicular bem desenvolvido foram observadas no meio de regeneracao após 55 dias de cultivo (Figura 1F).

Um dos requisitos básicos de um protocolo eficiente é a sua rapidez em obter plântulas regeneradas. Os dados permitem concluir que em *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl., o tempo médio requerido para a obtencao de plântula é de 60 dias ou 8 semanas. Em *Datura innoxia*, Rahman et al. (2008), cometam sobre o período mínimo de 6 semanas; Zayed et al. (2006), 10 meses sem a adicao de hormônios.

Na Figura 2 apresenta-se o número de embriões que germinaram (porcentagem). Na Figura 3 a porcentagem de embriões que sofreram a inducao e desenvolveram calos. Na Figura 4 o tamanho médio dos calos (em milimetros) induzidos por repeticao. Na Figura 5 o percentual de calos que formaram pontos embriogênicos. Na Figura 6 o percentual de plantas regeneradas.

As percentagens de germinacao dos embriões nos diferentes tratamentos foram similares estatisticamente e variaram de 78 a 100%. O tratamento 1 (controle) apresentou 80% de germinacao, o que demonstra que o meio MS pela metade é por si só indutor da germinacao in vitro, possivelmente explicado pela presenca de água e nutrientes.

Em relacao à porcentagem de calos induzidos, os tratamentos 2, 3, 6, 7 e 8 apresentaram as melhores performances. Apenas no tratamento 9 (21% de calos induzidos), os resultados permitem concluir que concentrações elevadas de 2,4-D e KIN foram inibidores para a formacao de calos nesta espécie.

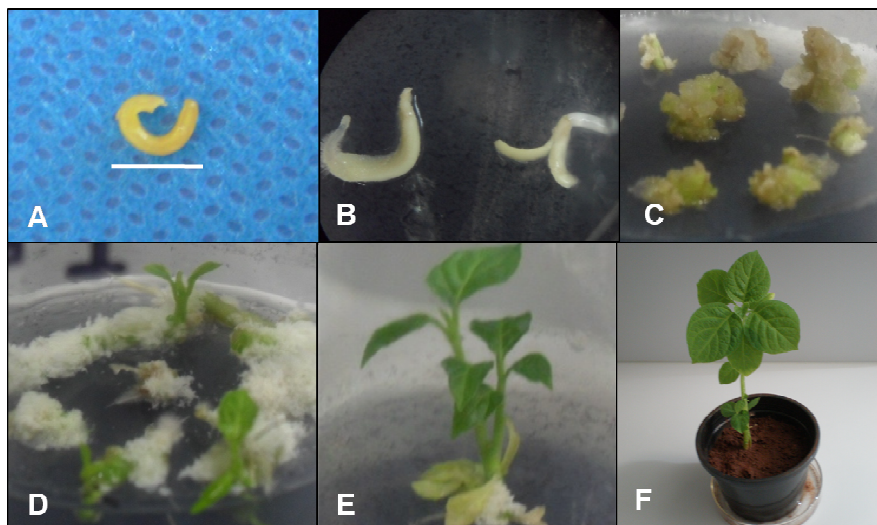


Figura 1 - (A) embrião inteiro com cerca de 3 mm; (B) calo induzido; (C) calo embriogênico; (D) calos apresentando pontuações verdes; (E) plântula em meio de regeneração; e (F) plântula regenerada e aclimatada.

O tamanho médio dos calos foi de 2.29 mm, sendo que o tratamento 6 (0.5 mg L^{-1} de 2,4-D e 1 mg L^{-1} de KIN) foi estatisticamente distinto dos demais originando os maiores calos (2.3 cm). O tratamento 9 com as maiores concentrações de reguladores de crescimento apresentou um efeito inibidor sobre o tamanho dos calos (0.4 cm) como pode ser observado na figura 4.

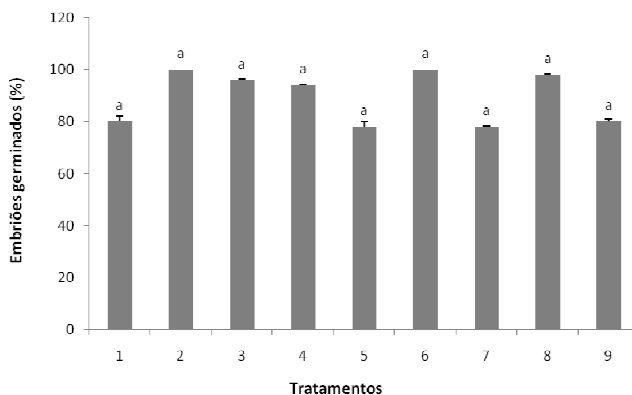


Figura 2 - Embrões germinados de *B. suaveolens* Ber. & Presl. em diferentes concentrações de 2,4-D KIN. Valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n=50).

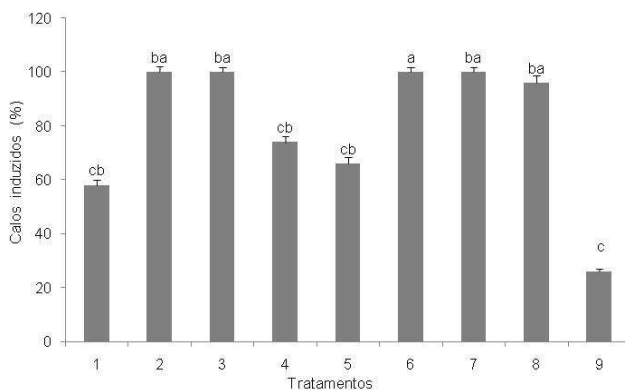


Figura 3 - Calos induzidos de *B. suaveolens* Ber. & Presl. em diferentes concentrações de 2,4 D e Kin. Valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n=50).

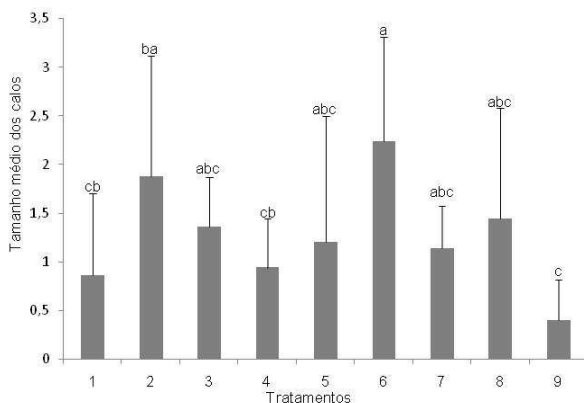


Figura 4 - Tamanho médio de calos de *B.suaveolens* Ber. & Presl. em diferentes concentrações de 2,4 D e Kin. Valores são apresentados como média± desvio padrão (n=50).

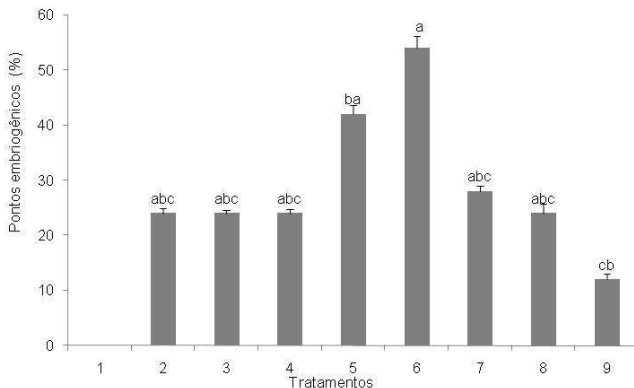


Figura 5 - Pontos embriogênicos de *B. suaveolens* Ber. & Presl. em diferentes concentrações de 2-4 D e KIN. Valores são apresentados como média± desvio padrão (n=50).

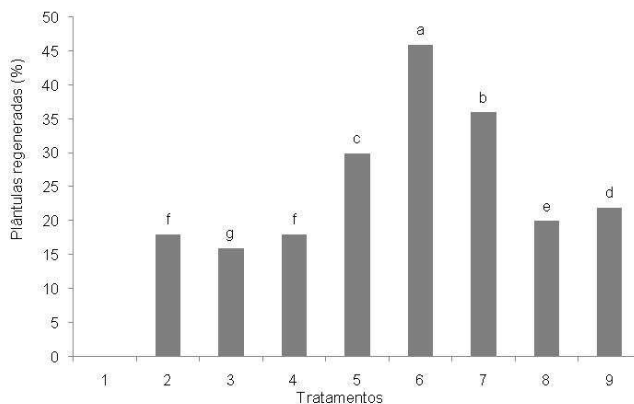


Figura 6 - Plantas regeneradas de *B.suaveolens* Ber. & Presl. em diferentes concentrações de 2-4 D e KIN. Valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n=50).

A porcentagem de indução de calos variou de 26-100%, e a eficiência de regeneração variou de 0 a 32%. As dosagens de 0,5 mg.L⁻¹ de 2-4 D e 1,0 mg.L⁻¹ KIN (tratamento 6) mostrou-se ser o mais eficiente com as melhores respostas para indução de calos, maior tamanho de calos, maior número de pontos embriogênicos e plântulas regeneradas. Altas concentrações de reguladores de crescimento (1 mg.L⁻¹ de 2-4 D e 1,0 mg.L⁻¹ KIN) mostraram-se inibidoras da calogênese e regeneração e a ausência destes reguladores promoveram a formação de calos mas não a regeneração de plantas de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl.

Conclusões

Foi obtido um protocolo eficiente de regeneração de plantas a partir de embriões maduros onde os tratamentos diferiram entre si.

Referências bibliográficas

FERREIRA, D. F. SISVAR 4.3 - Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999.



MUSHARIGE T, SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol Plant** 15:473-497; 1962.

NIÑO, J; GALLEGO M.C; CORREA M.Y; MOSQUERA .Production of scopolamine by normal root cultures of *Brugmansia cândida*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 74: 289-291, 2003.

NITHIYA. P.AND D.I. AROCKIASAMY. *In vitro* Micropropagation of *Datura metel* L. through Somatic Embryos from Root Explants. **Plant Tissue Cult. & Biotech.** 17(2): 125-130, 2010

PARSAEIMEHR, A. E ALIZADEH O, 2010. Requirement of Organic Factors for the Growth of *Datura stramonium in vitro* Tissus Cultured. **Research Journal of Medical Sciencies** 4:. 252-254.

RAHMAN, M. M.; SHAMSUDDIN, A. K M.; ASAD, V. *In vitro* regeneration from mature embryos in spring wheat. **International journal of sustainable crop production**, v.3, n.2, p. 76-80, 2008.

ROBINS R. J., et all. Studies on the biosynthesis of tropane alkaloids in *Datura stramonium* L. transformed root cultures. 1. The kinetics of alkaloid production and the influence of feeding intermediate metabolites. **Planta** 183:185–195. 1991.

SATO, K., et al; Grape seed proanthocyanidin reduces car- diomyocyte apoptosis by inhi- biting ischemia/reperfusion-in- duced activation of JNK-1 and C-JUN. **Free Radical Biol.&Med.**,31: 729-737, 2001.

SHELUDKO, D. V., A. J. MCCULLOCH **Single-shot diffractive imaging of inhomogeneous cold atom clouds using electromagnetically induced transparency**. KOALA (Konference on Optics and Laser Applications) 2009. Student Conference, 23rd-27th Nov, University of Sydney. , 2010.

YUKIMUNE, Y.; HARA, Y.; YAMADA, Y.; Tropane alkaloid production in root cultures of *Duboisia myoporoides* obtained by repeated selection. **Biosci Biotech Biochem** 58, 1443–1446. 1994.

ZAYED R., WINK, M. EL-SHAMY, H. *organogênese in vitro* e acúmulo do alcalóide no *innoxia Datura*. Z. Naturforschung; **Biociências J.**; 61c, 560-564, 2006.



GENÉTICA E CITOGENÉTICA

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CROMOSSOMOS DE *Luehea divaricata* M. NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL

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

¹ Engenheira Agrônoma, Mestranda, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. *apauladurand@yaho.com.br.

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

³ Engenheiro Agrônomo, Co-orientador, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Docente, Orientadora, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Os estudos citogenéticos de espécies vegetais auxiliam a resolução de problemas taxonômicos, minimizando as dificuldades na sua identificação correta. Uma das características citogenéticas mais frequentemente avaliadas é o número de cromossomos. Entre as inúmeras espécies vegetais encontradas no território brasileiro, de interesse medicinal, temos a *Luehea divaricata* Martius (Tiliaceae), conhecida popularmente por açoita-cavalo. Este trabalho foi desenvolvido para determinar o número cromossômico de populações nativas de *L. divaricata* ocorrentes no Rio Grande do Sul, visando preservação de germoplasma da espécie e futuros trabalhos de melhoramento genético. Foram utilizadas sementes de duas populações da espécie *L. divaricata* para obtenção das pontas de raízes. Foram coletadas radículas com aproximadamente 2 cm de comprimento, e colocadas em pré-tratamento a frio por 22 horas, posteriormente fixadas em etanol:ácido acético (3:1). Para o preparo das lâminas, as pontas de raízes foram colocadas em HCl 1N para amaciar a parede celular e em seguida foram lavadas em água destilada e seguiu-se a técnica de esmagamento e



coloração com orceína acética 2%. Os resultados obtidos são a primeira contagem dos cromossomos de *Luehea divaricata* nativa do Rio Grande do Sul e as células apresentaram $2n=20$ cromossomos.

Palavras-chave: cromossomos, planta medicinal, espécie arbórea

Introdução

O potencial econômico de espécies medicinais nativas no Brasil é imenso, tanto que tais espécies são consideradas uma riqueza a ser preservada e utilizada, sendo necessário conservar a diversidade genética vegetal disponível. E para otimizar a utilização dos recursos medicinais nativos de um país, são indispensáveis estudos de caracterização do germoplasma de uma espécie e também propiciar que as mesmas sejam incluídas em um programa de melhoramento genético (Pereira et al., 2006).

Entre as inúmeras espécies vegetais encontradas no território brasileiro, de interesse medicinal, temos a *Luehea divaricata* Martius, conhecida popularmente por açoita-cavalo. Sua aplicação medicinal está voltada ao tratamento de bronquite, laringite e disenteria, sendo suas folhas usadas por decocção ou infusão. Os estudos fitoquímicos indicam que esse vegetal apresenta grande quantidade de taninos e monoterpenos, tanto na casca como no caule (Lorenzi, 2002). Além do interesse medicinal a *L. divaricata* tem grande importância na indústria madeireira, pois, apresenta madeira de qualidade, com média retratibilidade e baixa resistência mecânica e é indicada para a confecção de móveis vergados e peças torneadas (Rizzini, 1971).

A açoita-cavalo é uma árvore pioneira em várias formações florestais. Trata-se de uma espécie heliófita, ou seja, vegeta preferencialmente em locais de bastante luz, além de ser seletiva higrófila, isto é, em solos bastante úmidos (Reitz et al, 1988).

No Rio Grande do Sul, ocorre em todas as bacias hidrográficas. Apresenta uma dispersão irregular e descontínua, sendo particularmente freqüente ao longo dos rios, terrenos rochosos e íngremes, onde a floresta



é mais aberta e nas capoeiras mais desenvolvidas. Foi observada em todas as regiões fitogeográficas; inclusive no Escudo Rio-Grandense e na Campanha Gaúcha, onde se torna uma das árvores características e emergentes das matas de galeria. É encontrada praticamente desde o nível do mar até 950 metros de altitude no planalto (Reitz et al, 1988; Lorenzi, 1992).

A *L. divaricata* perde totalmente suas folhas durante o inverno, floresce nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, seus frutos encontram-se maduros de maio a junho (Lorenzi, 1998). É considerada uma das 55 árvores mais importantes para o reflorestamento de áreas degradadas, assim como a cabreúva, cedro, coronilha, ipê-roxo, maria-preta, murta, peroba, salveiro, timbaúva, entre outras (Reitz et al, 1988; Lorenzi, 1992).

Os estudos citogenéticos de espécies vegetais auxiliam a resolução de problemas taxonômicos, minimizando as dificuldades na sua identificação correta. Uma das características citogenéticas mais freqüentemente avaliadas é o número de cromossomos, os quais representam o primeiro conjunto de dados que leva a uma compreensão da genética de qualquer espécie. Para Sybenga (1998), a citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação de plantas. Neste contexto, o número cromossômico é um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie que, aliado a outros caracteres citológicos, fornece informações para o entendimento das alterações genéticas envolvidas (Auler et al, 2006).

Este trabalho foi desenvolvido para determinar o número cromossômico de duas populações nativas de *L. divaricata* ocorrentes no Rio Grande do Sul, visando caracterização citogenética e futuros trabalhos de melhoramento genético.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Citogenética Vegetal da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. Foram utilizadas



sementes de duas populações da espécie *L. divaricata*. As sementes foram coletadas em maio de 2010, no município de São Francisco de Assis.

Para a contagem cromossômica das populações, foram colocadas sementes para germinar. As quais foram distribuídas de modo uniforme sobre duas folhas de papel filtro, umedecidas com 5 mL de água e mantidas em temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$), até atingir a fase para coleta de material específico para estudo citogenético. As radículas foram pré-tratadas a frio por 22 horas, após, estas radículas foram fixadas em fixador 3:1 (etanol: ácido acético), por 24 horas. Depois de fixadas foram armazenadas em etanol 70%, em geladeira até o preparo das lâminas.

Para o preparo das lâminas, as pontas de raízes foram colocadas em HCl 1N para amaciar a parede celular e em seguida foram lavadas em água destilada. Após, o meristema radicular foi retirado, com auxílio de agulhas histológicas e microscópio estereoscópico, sendo colocado sobre a lâmina, corado com uma gota de coranteorceína acética 2% e esmagado com bastão de vidro. Posteriormente, o material foi coberto com laminula.

As lâminas foram observadas ao microscópio com aumento de 40x e fotografadas as melhores metáfases, ou seja, aquelas com bom espalhamento dos cromossomos.

Resultados e discussões

Os resultados obtidos para contagem dos cromossomos de *L. divaricata* são inéditos, já que não foram encontrados relatos na literatura a respeito de contagens do número de cromossomos dessa espécie e tendo em vista que ainda são escassos os trabalhos sobre a caracterização de germoplasma de plantas medicinais nativas. Além disso, o presente estudo poderá vir a auxiliar em futuros estudos de taxonomia, trabalhos de melhoramento genético e conservação desta espécie, já que tem grande importância na indústria moveleira, com finalidade ambiental, além das propriedades medicinais.



As células observadas possuem $2n=20$ cromossomos (Figura 1), sendo portanto, considerado esse o número diplóide desses genótipos coletados no Rio Grande do Sul.

Outros autores, tem priorizado estudos de caracterização citogenética enfatizando o número de cromossomos, tais como Pereira et al. (2006) que determinaram pela primeira vez o número de cromossomos de *Achyrocline satureioides* e registraram $2n=24$ cromossomos nas populações nativas do Rio Grande do Sul estudadas.

Biondo et al. (2005) caracterizaram citogeneticamente através da contagem do número de cromossomos, as espécies arbóreas da família Caesalpinoideae conhecidas como *Senna macranthera* e *Peltophorum dubium* que apresentaram $2n = 26$ cromossomos, enquanto que *Senna multijuga* e *Schizolobium parahyba* apresentam $2n = 24$ cromossomos.

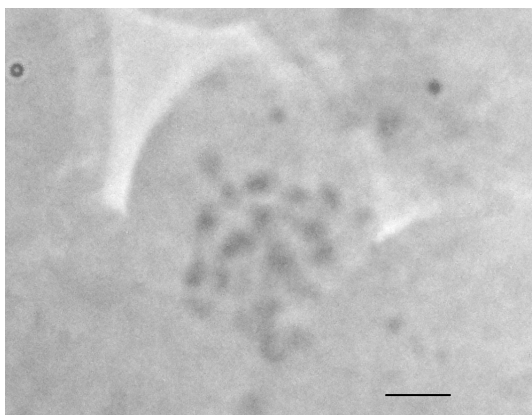


Figura 1 - Célula em metáfase de *Luehea divaricata* exibindo $2n=20$ cromossomos. Escala= 4μ .

Foi também realizada a determinação do número de cromossomos de duas espécies florestais da família Fabaceae, *Parkia pendula* e *Dinizia excelsa* por Barela e Karsburg (2007) que registraram para ambas espécies $2n=22$ cromossomos.



No entanto, apesar dos esforços de pesquisas para determinação do número de cromossomos de várias espécies arbóreas e medicinais, existe ainda uma lacuna a ser preenchida nessa área de caracterização citogenética.

Conclusão

Conclui-se que as populações estudadas de *Luehea divaricata* possuem $2n=20$ cromossomos, os quais foram contados pela primeira vez, de que se têm notícia, para essa espécie nativa do Rio Grande do Sul.

Referências

ALICE, C. B. et al. **Plantas medicinais de uso popular**: atlas farmacognóstico. Canoas: Ed. da ULBRA, 1995.

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**. Botucatu, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.

BARELA, A. P. W.; KARSBURG, I. Caracterização morfológica dos cromossomos mitóticos de *Parkia pendula* (Willd.) Benth ex Walp. e *Dinizia excelsa* Ducke (Fabaceae, Mimosoideae) **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.5, n.1, p.85- 93. 2007.

BIONDO, E.; MIOTTO, S.T.S.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Cytogenetics of Caesalpinoideae-Leguminosae tree species from southern Brazil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 241-248. 2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2 ed. São Paulo: Nova Odessa, 2002. v. 2. 384p

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p

LORENZI, H. **Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352p

PEREIRA, L.P.; LUZ, L. P.; TEDESCO, S.B.; SILVA, A. C. F. Número de cromossomos em populações de *Achyrocline satureioides* Lam. (marcela) do Estado do Rio Grande do Sul. Brasil, **Ciência Rural**, v.36, n.2, mar-abr, p.678-681. 2006.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



REITZ, R.; KLEIN, R. M. & REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, BR. 1988.

RIZZINI, C.T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**– Manual de dendrologia Brasileira. São Paulo: Edgard Blücher, 1971. 294p.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in breeding a personal view. In: LELLEY, T. **Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement**. Viena: Universitäts Verlag, 1998. p.22-33.



ANÁLISE DA VIABILIDADE POLÍNICA DE *Sphagneticola trilobata* L. Pruski ATRAVÉS DE DISTINTOS CORANTES

AGUIAR, A.R.^{1*}; KUHN, A.W.²; TEDESCO, M.²; FRESCURA, V. D.
³; TEDESCO, S.B.⁴

¹ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * andiagossi@yahoo.com.br

² Graduanda, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

⁴ Docente, Orientadora, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Estudos citogenéticos para caracterização de germoplasma e estudos da estimativa da viabilidade polínica de espécies vegetais, são essenciais para propiciar a inclusão das mesmas em um programa de melhoramento genético. Devido a importância da espécie medicinal *Sphagneticola trilobata* L. Pruski, esse trabalho objetivou realizar o estudo comparativo de duas metodologias de coloração para estimar a viabilidade dos grãos de pólen visando a inclusão da mesma em um futuro programa de melhoramento genético. Foram coletadas inflorescências da espécie *S. trilobata* no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. As inflorescências das plantas de 01 população foram fixadas em etanol:ácido acético (3:1) durante um período de 24 horas, em temperatura ambiente. Após, foram transferidas e conservadas em etanol 70% sob refrigeração até o preparo das lâminas pela técnica de esmagamento. As metodologias utilizadas para coloração foram com o uso de dois corantes: carmim acético 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fuscina ácida). Foram contados 300 grãos de pólen com cada metodologia de coloração e feita análise estatística com auxílio do programa Bioestat 4.0. Os dados foram analisados pelo teste qui-quadrado (χ^2) a 5% ($p \leq 0,05$). Conclui-se que *S. trilobata* possui alta viabilidade polínica, porém não houve distinção entre os corantes.



Palavras-chave: Viabilidade polínica. Carmim acético 2%. Reativo de Alexander. *Sphagneticola trilobata*.

Introdução

Estudos citogenéticos para caracterização de germoplasma e estudos da estimativa da viabilidade polínica de espécies vegetais, são essenciais para propiciar a inclusão das mesmas em um programa de melhoramento genético. Dentre espécies importantes nativas do Rio Grande do Sul com potencial econômico está a espécie medicinal conhecida como insulina vegetal. *Sphagneticola trilobata* L. Pruski (Família Asteraceae), que é uma erva nativa dos trópicos da América Central e naturalizada em muitas outras áreas tropicais úmidas do mundo. Impede a regeneração de outras espécies locais. É cultivada como ornamental, sendo tolerante à inundações e altos níveis de salinidade (Wagner et al., 1990). Suas infusões são utilizadas no sul do Brasil para tratamento de diabetes, por isso seu nome comum de insulina. Estudos de seus extratos aquosos mostraram (Kadea et al., 2010) efeito hipoglicêmico considerável em ratos.

A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita por métodos diretos, tais como a indução da germinação do pólen *in vivo* ou *in vitro* e, por métodos indiretos, baseados em parâmetros citológicos, como a coloração (Shivanna e Johri, 1985; Dafni, 1992; Shivanna e Rangaswamy, 1992; Kearns e Inouye, 1993). Na literatura, não há a descrição de um teste de viabilidade polínica universal utilizando um corante específico (Techio et al. 2006).

Devido a importância da espécie medicinal *S. trilobata*, esse trabalho objetivou realizar o estudo comparativo de duas metodologias de coloração para estimar a viabilidade dos grãos de pólen visando a inclusão da mesma em um futuro programa de melhoramento genético.



Metodologia

Foram coletadas inflorescências da espécie *S. trilobata* (Figura 1) no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. O experimento foi realizado no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (LABCITOGEN) do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As inflorescências das plantas de 01 população foram fixadas em etanol:ácido acético (3:1) durante um período de 24 horas, em temperatura ambiente. Após, foram transferidas e conservadas em etanol 70% sob refrigeração até o preparo das lâminas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento (Guerra e Souza, 2002).

As metodologias utilizadas para coloração foram com o uso de dois corantes: carmim acético 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fuscina ácida). O corante carmim acético 2% cora 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, devido à reação completa de coloração e foram considerados viáveis os grãos de pólen com coloração púrpura, enquanto que os com coloração azul-esverdeada foram considerados inviáveis, bem como os diminutos.

Avaliou-se 10 lâminas da população coletada, contando-se 300 grãos de pólen com cada metodologia de coloração e os mesmos foram observados com auxílio de um microscópio ótico com lente objetiva de 40x. Após a contagem, foram feitos cálculos para obtenção da percentagem de coloração dos grãos de pólen. Sendo usada para cálculo da percentagem a seguinte fórmula: viabilidade do pólen (%) = (n° de grãos de pólen corados / n° total de grãos de pólen) x 100.

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Bioestat 4.0. Os dados foram analisados pelo teste qui-quadrado (χ^2) a 5% ($p \leq 0,05$).



Figura 1- Planta da espécie *Sphagneticola trilobata* em período de floração (abril de 2011), Campus, UFSM, Santa Maria, RS.

Resultados e discussões

Os resultados obtidos para *S. trilobata* apresentam-se na Tabela 1. Observou-se comparativamente entre os corantes utilizados que não houve diferença significativa entre os mesmos ($\chi^2 = 2,418$). Entre as médias gerais dos dois corantes, não ocorreu diferença significativa na estimativa da viabilidade dos grãos de pólen de *S. trilobata* (Tabela 1).

Techio et al. (2006) registraram que não existe descrição de um teste de viabilidade universal utilizando um corante específico. Para Alexander (1980), alguns corantes tem a aplicação limitada, pois apresentam a capacidade para corar somente pólenes funcionais ou viáveis, enquanto os inviáveis são identificados por não apresentarem coloração. Portanto, tais corantes não são adequados para espécies com grãos de pólen que apresentam paredes espessas, que dificultam a penetração do corante, impedindo a coloração. A viabilidade polínica é considerada alta acima de 70%, de acordo com Souza et al. (2002).

Espécies medicinais foram estudadas por diversos autores para verificar a estimativa da viabilidade polínica, entre essas, da família Asteraceae foram feitos estudos quanto à viabilidade polínica por Tedesco et al., 2010 que registraram alta viabilidade polínica em *Achyrocline*



satureiodes (Lam.) D.C. (marcela ou macela). Outras espécies medicinais, como *Hyptis mutabilis* da família Lamiaceae também apresentaram valores altos de viabilidade polínica em quatro populações estudadas, 71.19 a 92.34% e 83.25 a 96% (Fachinetto e Tedesco, 2009). A espécie *Maytenus ilicifolia* (Mart. ex Reiss.) da família Celastraceae, apresentou viabilidade polínica alta variando de 80.9 a 99.4% (Lunardi et al., 2004).

Tabela 1 - Médias da viabilidade polínica para a população de *Sphagnetico trilobata* com os corantes carmim acético 2% e reativo de Alexander.

Corantes	Pólen viáveis	Pólen inviáveis	Viabilidade (%)
Carmim acético 2%	286	14	95,33 ^a
Reativo de Alexander	293	7	97,66 ^a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste (χ^2) a 5% de probabilidade.

Os resultados apresentados demonstram que a espécie *S. trilobata* tem alta taxa de viabilidade polínica, o que viabiliza a inclusão dessa espécie em um programa de melhoramento genético.

Conclusão

Conclui-se que *S. trilobata* possui alta viabilidade polínica não existindo distinção entre os corantes carmim acético 2% e 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.
- DAFNI, A. **Pollination ecology**: a practical approach (the practical approach serried). New York: University Press, 1992.250 p.
- 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.

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

KADEA, I.J. et al. 2010. Aqueous extracts of *Sphagnetocola trilobata* attenuates streptozotocin-induced hyperglycaemia in rat models by modulating oxidative stress parameters. **Research Article Biology and Medicine**, v.2, n.3, p: 1-13, 2010.

KEARNS, C.A.; INOUE, D. **Techniques for pollinations biologist**. Niwot: University Press of Colorado, 1993.

LUNARDI, M.P.M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; BARROS, I.B.I. Chromosome number variability in the south american medicinal plant *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss (Celastraceae). **Cytologia**, v.69, p.439-45, 2004

SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The angiosperm pollen: structure and function**. New Dehli: Wiley Eastern Ltd., 1985.

SHIVANNA, K.R.; RANGASWAMY, N.S. **Pollen biology**. A laboratory manual. Berlin/New York: Springer-Verlag, Berlím/Heidelberg, 1992.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. 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.

TEDESCO, M. et al. Estimativa da viabilidade polínica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. In: 25ª Jornada Acadêmica Integrada, 2010, Santa Maria-RS.

TECHIO, V. H. et al. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milheto). **Acta Scientiarum Biological Sciences**. Maringá, v. 28, n. 1, p. 7-12, Jan-Mar, 2006.

WAGNER, W.L.; HERBST D.R.; SOHMER, S.H. **Manual of the flowering plants of Hawai'i**. 2 vols. Univ. of Hawai'i Press and Bishop Museum Press, Honolulu. 1,853 p.1990.



VIABILIDADE POLÍNICA DE *Commelina erecta* L. NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL

KUHN, A.W.^{1*}; TEDESCO, M.¹; CANTO-DOROW, T.S.²; TEDESCO, S.B.³

¹ Bacharelanda, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * andri-kuhn@hotmail.com

² Bióloga, Professor Associado, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga, Professor Associado, Orientadora, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

No Brasil, grande parte da população encontra nas plantas medicinais importante fonte de recurso terapêutico. Dentre as plantas com importância medicinal se encontra *Commelina erecta* L., usada na medicina popular como colírio e conhecida popularmente como erva-de-santa luzia. O presente estudo teve como objetivo realizar a estimativa da viabilidade polínica de *Commelina erecta* nativa do Rio Grande do Sul, visando o melhoramento genético da espécie. Foram coletados botões florais de 01 população de *Commelina erecta* e comparados 03 corantes diferentes:orceína acética 2%, carmim acético 2% e reativo de Alexander. Para a estimativa da viabilidade polínica, os botões forais foram fixados em etanol:ácido acético (3:1) por 24h e conservados em álcool 70% sob refrigeração. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e então contados 300 grãos de pólen por corante. Observou-se 99,66% de viabilidade polínica para os corantes orceína acética 2% e carmim acético 2% e 99% para o reativo de Alexander, não havendo diferenças significativas entre os corantes. Conclui-se que *Commelina erecta* possui alta viabilidade polínica, podendo ser incluída em um programa de melhoramento da espécie.

Palavras-chave: Grão de pólen. *Commelina erecta*. Plantas medicinais.

Introdução

No Brasil, grande parte da população encontra nas plantas medicinais importante fonte de recurso terapêutico e isso é devido a vários



fatores, dentre os quais destaca-se a falta de recursos financeiros para serem utilizados os benefícios da medicina tradicional. Portanto, a população tem necessidade de uso das plantas medicinais nativas, porém tem-se constatado a ocorrência de perdas associadas à biodiversidade brasileira e conseqüente diminuição do número de espécies empregadas para tratamento das enfermidades (Baldauf et al., 2009). As plantas medicinais são muito utilizadas na medicina popular, sendo algumas vezes, a única fonte de medicação que a população tem acesso (Fachinetto e Tedesco, 2009). Estudos de caracterização citogenética, como análise da viabilidade polínica são úteis para realização de futuros trabalhos de melhoramento genético.

Entre as plantas com potencial medicinal, estão as espécies da família Commelinaceae, como a *Commelina erecta* L., nativa no sul do Brasil. Essa é a espécie mais abundante do gênero, distribuindo-se em todas as regiões do Estado, sendo também a que apresenta maior variação nos caracteres morfológicos, possivelmente em resposta ao ambiente, especialmente pilosidade, forma da lâmina e base foliar e coloração dos verticilos florais (Maia, 2006). A planta possui propriedades medicinais relatadas do seu uso como colírio (Baldauf, 2009), além da importância econômica da família por algumas espécies serem ornamentais, devido à beleza de suas flores e folhagem, como no caso da *Commelina erecta* (Lorenzi e Souza, 2001). Considerando a 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 & Battistin, 1997; Pedrosa et al., 1999; Pagliarini, 2000).

Outras espécies nativas do Rio Grande do Sul tem sido estudadas para estimar a viabilidade polínica com vistas ao melhoramento genético, tais como Tedesco et al. (2010), estudaram a espécie *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., e os resultados mostraram alta viabilidade dos seus grãos de pólen e Auler et al. (2006) que encontraram de 88.90 a 98.95% de grãos de pólen viáveis para *Baccharis trimera* (Less.) DC. com a utilização de carmim propiônico 2%, orceína acética 2% e reativo de



Alexander. Hister et al. (2010) encontraram alta viabilidade polínica para a espécie medicinal *Aloysia gratissima* (Gill. et Hook) Troncoso.

O presente estudo teve como objetivo realizar a estimativa da viabilidade polínica de *Commelina erecta* nativa do Rio Grande do Sul, através de três metodologias de coloração, visando futuros trabalhos de melhoramento genético da espécie.

Metodologia

Para análise da viabilidade dos grãos de pólen de *Commelina erecta* (Figura 1), as inflorescências de uma população (Campus–UFSM) foram coletadas no campo e imediatamente fixadas em Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético) por 24 horas a temperatura ambiente, sendo transferidas para etanol 70% e armazenadas sob refrigeração. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras (Guerra & Souza, 2002). Foram utilizados para a coloração 3 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 300 grãos de pólen por corante, obtidos de 3 plantas de uma população. Para os corantes orceína acética 2% e carmim acético 2%, foram considerados viáveis os grãos de pólen que se apresentaram corados e inviáveis, os não corados. Para o corante reativo de Alexander, foram considerados viáveis os grãos de pólen de cor púrpura e inviáveis de cor verde-claro-azulado. Os grão de pólen foram medidos com auxílio de uma ocular micrométrica adaptada ao microscópio.

Os dados foram analisados pelo teste estatístico de Tukey a 5% de probabilidade.



Figura 1 - Planta da espécie *Commelina erecta*, família Commelinaceae.

Resultados e discussões

Os resultados obtidos a partir dos botões florais da espécie medicinal *Commelina erecta*, estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que 99,66% dos grãos de pólen corados comorceína acética e carmim acético 2% foram viáveis, não havendo diferença estatística entre os mesmos (Tabela 1). Já, os grãos de pólen corados com reativo de Alexander (Figura 2) mostraram 99% de grãos viáveis e 1% de grãos inviáveis e também não diferiram significativamente dos demais tratamentos.

Tabela 1 – Comparação da viabilidade polínica de *Commelina erecta* com diferentes corantes.

População	Orceína acética 2%		Carmim acético 2%		Reativo de Alexander	
	N*	% viabilidade	N	% viabilidade	N	% viabilidade
Campus UFSM	299	99,66 a	299	99,66 a	297	99 a

*N,

Número de pólenes viáveis.



Estudos da viabilidade polínica foram realizados com plantas medicinais nativas por vários autores, como por Lunardi et al. (2004) que registraram 80,9 a 99,4% de viabilidade em *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch; Auler et al (2006) que encontraram de 88.90 a 98.95% de grãos de pólen viáveis para *Baccharis trimera* com a utilização de carmim propiônico 2%, orceína acética 2% e reativo de Alexander; Tedesco et al. (2010) observaram que 96,66% de grãos de pólen de *Achyrocline satureioides* foram viáveis com orceína acética.

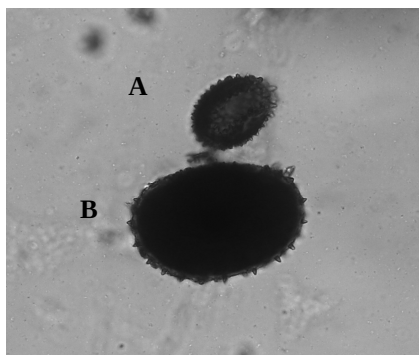


Figura 2 – Grãos de pólen de *Commelina erecta*. A- grão de pólen inviável (diminuto); comprimento=50µm, largura=25µm. B- grão de pólen viável; comprimento=100µm, largura=72,5µm.

Conclusão

Por meio da metodologia de coloração comparativa com diferentes corantes, conclui-se que *Commelina erecta* possui alta viabilidade polínica, podendo ser incluída em um programa de melhoramento da espécie.

Referências

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.



BALDAUF, et al., 2009. **“Ferveu, queimou o ser da erva”:** conhecimentos de especialistas locais sobre plantas medicinais na região Sul do Brasil. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.3, p.282-291, 2009.

FACHINETTO e TEDESCO, 2009. **Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*.** Rev. bras. plantas med. vol.11 no.4 Botucatu 2009.

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.

HISTER, C.A.L.; TEDESCO, S.B.; SILVA, A.C.F.; CANTO-DOROW, T.C. **Meiotic behavior and pollen viability of *Aloysia gratissima* and *Aloysia triphylla* (Verbenaceae).** Rev. ciência e natura, vol. 32 no.1, p. 37-47. Santa Maria, 2010.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas Ornamentais no Brasil:** Arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Ed. 3. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 1120 p., 2001.

LOVATTO, M.T.; BATTISTIN, A. **Cytogenetics of five ornamental species of Liliales.** Ciência Rural, v.27, p.583-591, 1997.

LUNARDI, M.P.M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; BARROS, I.B.I. **Chromosome number variability in the south american medicinal plant *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss (Celastraceae).** Cytologia, v.69, p.439-45, 2004.

MAIA, D.C. **Estudo taxonômico dos gêneros *Commelina* L. e *Dichorisandra* J. C. Mikan (Commelinaceae), no estado do Paraná, Brasil.** 2006. 114 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

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 Brasílica, v.13, p.49-60, 1999.

TEDESCO, M. et al. **Estimativa da viabilidade polínica de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC.** Anais 25^a JAI, 2010. 25^a Jornada Acadêmica Integrada, Santa Maria, 2010.



VIABILIDADE POLÍNICA DE CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (*Pasheolus vulgaris* L.) COM COMPARAÇÃO DE DIFERENTES CORANTES

DALLA NORA, G.^{1*}; FRESCURA, V.D.²; PASTORI, T.³; TEDESCO, S.B.⁴; RIBEIRO, N.D.⁵

¹ Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. gracielibio@gmail.com

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

³ Graduanda, Curso de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Bióloga, Professora Associada-Orientadora, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Agrônoma, Professora Associada, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), leguminosa pertencente à Família Fabaceae, é um alimento protéico amplamente consumido pela população brasileira. O melhoramento genético do feijão tem priorizado o aumento da capacidade de produzir sementes, grãos e a resistência a doenças. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi, estudar a viabilidade polínica da cultivar mesoamericana Pérola e cultivar andina Iraí de feijão. A análise da viabilidade polínica foi feita através da coleta de botões florais de cultivares de feijão mantidas em estufa, os quais foram fixados em etanol:ácido acético (3:1) e armazenados sob refrigeração. O preparo de lâminas foi realizado pela técnica de esmagamento das anteras e coloração com distintos corantes:orceína acética a 2% e reativo de Alexander. Foram analisadas, em média 16 lâminas por cultivar para a realização da estimativa da viabilidade dos grãos de pólen, a qual foi feita contando-se 400 grãos de pólen por planta, obtidos de duas plantas de cada vaso, sendo quatro vasos de cada cultivar. Os resultados mostraram que não ocorreram diferenças significativas entre as cultivares, entre os corantes, concluindo que as duas possuem alta taxa de viabilidade, indicando que a incompatibilidade gerada



nos cruzamentos entre estas cultivares não está relacionada a viabilidade do pólen.

Palavras-chave: Citogenética. Viabilidade polínica. Feijão.

Introdução

O Phaseolus vulgaris L. (feijão comum) é um dos mais importantes componentes da dieta alimentar do brasileiro, por ser reconhecidamente uma excelente fonte protéica, além de possuir bom conteúdo de carboidratos, vitaminas, minerais, fibras e compostos fenólicos, com ação antioxidante, que podem reduzir a incidência de doenças (Perina, 2008).

As pesquisas sobre o feijão têm considerado três aspectos sobre a cultura: produtividade, resistência a doenças e qualidade do produto. No Brasil, o cultivo de feijão pode ser realizado durante todo o ano, principalmente, em razão da grande variação de condições de clima e de solo nas diversas regiões do país (Borém; Carneiro, 1998).

No Brasil, feijões do grupo mesoamericano são preferidos pela população, e esta preferência se dá pelos tipos de grãos carioca e preto. Cultivares com características andinas, devido ao tamanho da semente, possui pouca aceitabilidade no comércio, dificultando o trabalho do melhorista, uma vez que estas exigências, muitas vezes, reduzem o número de genitores para cruzamentos (Carbonell *et al.* 1999). Contudo, o aproveitamento de uma maior divergência genética, por meio do cruzamento entre cultivares andinas e mesoamericanas, em inúmeras situações, não é possível em consequência da ocorrência de incompatibilidade genética manifestada nas plantas da geração F₁ (Vieira *et al.*, 2005).

Conforme Sybenga (1998), a citogenética possui duas funções principais no melhoramento de plantas: primeiramente, gerar informações e, após, fornecer métodos para a subsequente manipulação genética. O pressuposto básico dos programas de melhoramento genético vegetal está fundamentado na obtenção de cultivares superiores, a partir da manipulação genética existente no germoplasma de determinada espécie.



Dentre os fatores mais importantes para o sucesso desses programas destacam-se a seleção de genótipos e os cruzamentos. A eficácia dos cruzamentos, tanto entre variedades e cultivares de uma espécie como entre espécies, depende diretamente da viabilidade do pólen (Techio et al., 2006).

A viabilidade do pólen é um parâmetro de grande importância no 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 algum tipo de melhoramento ou cultivo (Alexander, 1980). No caso do feijão, os recursos genéticos bem caracterizados permitem ganhos genéticos mais promissores no melhoramento e potencializam o uso destes pelo próprio agricultor.

Os objetivos deste trabalho foi determinar a viabilidade dos grãos de pólen da cultivar mesoamericana Pérola e da cultivar andina Iraí de *Phaseolus vulgaris* L. (feijão) através da comparação entre dois métodos de coloração.

Metodologia

As análises foram feitas no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil. O material vegetal utilizado foram botões florais da cultivar de feijão mesoamericana: Pérola e da cultivar de feijão andina: Iraí, semeadas em vasos plásticos com capacidade de 5 L e cultivadas em casa de vegetação no Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil.

Durante o período de floração foram coletados botões florais em diversos estádios de desenvolvimento e fixados em álcool absoluto-ácido acético glacial (3:1), durante o período mínimo de 24 horas e máximo 72



horas, à temperatura ambiente, entre 18°C a 25°C. Posteriormente, os botões florais foram transferidos para álcool etílico a 70° e mantidos sob refrigeração até a sua utilização. Para realizar a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen, as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras (Guerra e Souza, 2002). Foram feitas duas lâminas de cada planta, contando-se 800 grãos de pólen por planta, obtidos de duas plantas de cada vaso, sendo quatro vasos de cada cultivar. Foram utilizados dois tipos de corantes, para posterior comparação entre os resultados de cada corante: orceína acética a 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fucsina ácida) (Alexander, 1980).

Para a estimativa da viabilidade polínica pelo método de coloração com orceína acética a 2%, os grãos de pólen foram considerados inviáveis quando apresentarem tamanho visivelmente anormal, coloração fraca, protoplasma reduzido e/ou ausente, e viáveis os que apresentarem a exina intacta, protoplasma bem corado com distribuição homogênea (Tedesco, 2000). Na análise da viabilidade polínica o delineamento estatístico foi inteiramente casualizado. A unidade experimental constou de duas lâminas por corante em que foram contados 400 grãos de pólen por lâmina. Cada tratamento foi repetido quatro vezes, perfazendo um total de 1600 grãos de pólen por repetição, totalizando 6400.

Resultados e discussões

Na tabela 1 encontram-se os resultados da comparação das estimativas da viabilidade dos grãos de pólen com os dois diferentes corantes para a cultivar mesoamericana Pérola e a cultivar andina Irai de feijão comum. Nas duas cultivares, não ocorreram diferenças significativas dentro de cada corante testado. Observou-se, pela análise dos resultados, que o corante orceína acética 2% foi o que apresentou maior porcentagem de viabilidade para as duas cultivares (99,79%), enquanto que o corante reativo de Alexander foi o que apresentou uma menor porcentagem de viabilidade (99,48%). Porém, estatisticamente não houve diferença significativa entre os corantes testados. Na comparação entre as cultivares, dentro de cada corante, com orceína acética não houve diferença na viabilidade. No presente trabalho, a viabilidade polínica foi



considerada alta acima de 95%, evidenciando que não houve diferenças significativas entre as cultivares analisadas. Mesmo não havendo diferenças significativas na comparação entre os dois corantes, constatamos que o coranteorceína acética pode ter superestimado a viabilidade, pois cora polens viáveis e inviáveis com a mesma intensidade. Como não existe outro parâmetro comparativo, às vezes a distinção entre viáveis e inviáveis torna-se duvidosa.

Tabela 1 - Cultivares de feijão e porcentagem de grãos de pólen corados com distintos corantes.

Cultivares	Orceína Acética 2%		Reativo de Alexander	
	N*	%	N*	%
Pérola	6381	99,70 ^{aA}	6363	99,42 ^{aA}
Irai	6391	99,88 ^{aA}	6371	99,54 ^{aB}
Total	12772	99,79 ^A	12734	99,48 ^A

*

número de polens viáveis; % percentual de viabilidade. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O corante reativo de Alexander é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen no feijão, pois permitiu distinguir com mais segurança pólen viável do inviável. As análises usando esse corante parecem fornecer dados mais acurados sobre a viabilidade do pólen, pois se obtém uma coloração diferencial dos polens viáveis e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam coloração reversa. O primeiro tem afinidade pela celulose presente na parede celular, corando-a de verde, enquanto que o protoplasma é corado pela fucsina ácida. Dessa maneira, por não apresentarem protoplasma, os grãos de pólen abortados coram-se de verde (Alexander, 1980)



Conclusão

Conclui-se que a viabilidade polínica nas duas cultivares de feijão comum mostrou-se elevada. Sendo assim, a incompatibilidade nos cruzamentos entre cultivares mesoamericanas e andinas não está relacionada à viabilidade do pólen das cultivares, pois tanto a cultivar mesoamericana Pérola, quanto a cultivar andina Iraí, apresentaram alta taxa de viabilidade polínica.

Referências

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology** v.5, n.1, p. 13-18, 1980.

BORÉM, A. e CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: **Feijão: Aspectos Gerais e Cultura no Estado de Minas Gerais**. VIEIRA, C., TRAZILBO, P. Jr., BORÉM, A. (eds.). Editora UFV, Viçosa, p. 13-17, 1998.

CARBONELL, S.A.M.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S.; FRANCISCO, F.G.; RAVAGNANI, S.; ALMEIDA, A.L.L. **Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de linhagens e cultivares de feijoeiro no Estado de São Paulo**. Brasília. Fitopatologia Brasileira, v.24, n.1, p.60-65,1999.

GUERRA, M. S.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 191p.

PERINA, E.F. **Avaliação da qualidade tecnológica de grãos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivados em diferentes ambientes**. Resumo. In: 1ª Reunião Paulista de Melhoramento de Plantas. Piracicaba, SP. 2008.

SYBENDA, J. Forty years of cytogenetic in plant breeding: a personal view. In: LELLEY, T. (Ed). **Current topics in plant cytogenetic related to plant improvement**. Tullen, Áustria: Universitätsverlag, 1998. p.22 – 32.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C. A.; PEREIRA, A.V. **Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milho e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milho)**. Acta Sci. Biol. Sci. Maringá, v. 28, n. 1, p. 7-12, Jan./Mar, 2006.

TEDESCO, S.B. **Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae)**. 2000. Tese



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



(Doutorado – Zootecnia) Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2000.

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. de S. **Melhoramento do feijão.** In: BORÉM, A. (Ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. p. 301-391.



ANÁLISE DA VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN DE *Verbena litoralis* Kunth NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL

TEDESCO, M.^{1*}; KUHN, A.W.¹; CANTO-DOROW, T.S.²; TEDESCO, S.B.³

¹ Bacharelanda, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.
marilia_tedesco@hotmail.com.

² Bióloga, Professor Associado, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Bióloga, Professor Associado, Orientadora, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

A espécie medicinal *Verbena litoralis*, conhecida como gervãozinho, possui propriedades desintoxicantes e antifebris, dentre outras. Devido a grande utilização de plantas medicinais, estudos relacionados à propagação e preservação de espécies da flora brasileira visando seu melhoramento são de muita importância, dentre eles o estudo da viabilidade polínica. O objetivo deste trabalho foi analisar a viabilidade dos grãos de pólen da espécie *Verbena litoralis* utilizando dois corantes:orceína acética 2% e reativo de Alexander. Os botões florais foram coletados, fixados em etanol:ácido acético (3:1) e conservados em etanol 70% até o uso. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras e posterior coloração com os distintos corantes. Foram contados 300 grãos de pólen por corante e então calculado a porcentagem de grãos viáveis e inviáveis. A análise estatística foi feita pelo teste do qui-quadrado (χ^2). Os resultados obtidos mostraram que 71% e 76,6% dos grãos de pólen foram viáveis corados com orceína acética e reativo de Alexander, respectivamente, mostrando que não houve diferença significativa entre os mesmos. Conclui-se que através dessas metodologias de coloração comparativa, *Verbena litoralis* possui viabilidade polínica acima de 71%, e sugere-se que pode ser incluída em um programa de melhoramento da espécie.

Palavras-chave: *Verbena litoralis*. Grão de pólen. Plantas medicinais.



Introdução

Aspectos importantes a respeito da utilização da citogenética no melhoramento de plantas foram discutidos por Sybenga (1998) que considerou que, citogeneticamente, tem-se dois aspectos mais importantes no melhoramento de plantas. Um deles fornece informações; o outro providencia métodos para manipulação genética. Hanna (1980) esclareceu que a citogenética tem contribuído e continuará contribuindo diretamente para o melhoramento nas áreas referentes aos estudos dos cromossomos, incluindo esterilidade e estudos de viabilidade dos grãos de pólen. Portanto, a caracterização de recursos genéticos vegetais é essencial para sua conservação e futuros trabalhos visando o melhoramento genético de espécies nativas e a diminuição do extrativismo. Espécies de plantas medicinais nativas da Família Verbenaceae tem sido utilizadas na medicina alternativa para o tratamento de doenças.

A família Verbenaceae compreende aproximadamente 100 gêneros de distribuição tropical e subtropical (Joly, 1979), e dentre eles o gênero *Verbena*, com aproximadamente 250 espécies distribuídas preferentemente nas regiões tropicais e temperadas da América. *Verbena litoralis* Kunth, é conhecida comumente como gervãozinho-do-campo ou erva-de-pai-caetano. Esta planta vegeta na região andina do Chile ao Peru, Guianas, Venezuela, Argentina (Lorenzi, 2000) e regiões Sudeste e Sul do Brasil, além disso, pode ser encontrada eventualmente na Austrália e África. *Verbena litoralis* caracteriza-se por seu caule quadrangular, folhas ovadas, ovado-lanceoladas, lanceoladas, espatuladas ou lineares, de base afiliada, com pecíolo curto, e também por suas inflorescências que são caracteristicamente longas e pouco densas quando comparadas com as espécies com as quais poderia ser eventualmente confundida (*Verbena bonariensis* L. e *V. brasiliensis* Vell) (Yeo, 1989).

Verbena litoralis é uma erva popularmente utilizada no Sul do Brasil como desintoxicante do organismo, em diarreias e distúrbios gastrointestinais, e também por suas propriedades antifebris (Souza et al.,



2005). Além dessas, são atribuídas a essa espécie usos como estimulante, diaforética, tônica, afecções crônicas do fígado e na forma de cataplasma como cicatrizante. As flores são utilizadas como calmante e contra palpitações do coração e o sumo das folhas é considerado antigangrenoso, nos casos em que a gangrena tem princípios de inflamação (OMS, 1995).

Devido a importância de *Verbena litoralis*, a qual poderá ser utilizada comercialmente, são necessários mais estudos para sua utilização. Esse trabalho teve como objetivo realizar a estimativa da viabilidade polínica através de duas metodologias de coloração.

Metodologia

As inflorescências de *Verbena litoralis* foram coletadas no Campus da UFSM em Santa Maria-RS. Para realizar a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen, as inflorescências foram imediatamente fixadas em etanol-ácido acético (3:1) por 24 horas a temperatura ambiente, transferidas para etanol 70% e armazenadas sob refrigeração por dois anos. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras (Guerra & Souza, 2002). Foram utilizados para a coloração 02 tipos de corantes:orceína acética 2% e Reativo de Alexander.

As lâminas foram preparadas e contados 300 grãos de pólen a partir de cada corante, obtidos de 03 plantas de uma população. A contagem dos grãos de pólen foi feita por varredura, considerando o tamanho da lamínula, em cinco campos visuais a serem percorridos. A viabilidade dos grãos de pólen foi estimada através da porcentagem de grãos viáveis, dividindo-se o número de grãos corados pelo total de grãos x 100. Através do método da coloração torna-se possível realizar somente a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen (no caso, capacidade de coloração), pois ressalta-se que a fertilidade do pólen é determinada por testes de germinação e crescimento do tubo polínico (Tedesco, 2000).



Na análise dos grãos de pólen corados com orceína acética 2% foram considerados viáveis os grãos de pólen que se apresentaram corados e inviáveis, os não corados e também os diminutos. Através da coloração com reativo de Alexander, foram considerados viáveis os grãos de pólen de cor púrpura (Figura 1A) e inviáveis de cor verde-claro-azulado e também os diminutos (Figura 1B). Os grãos de pólen foram medidos com auxílio de ocular micrométrica em 40x.

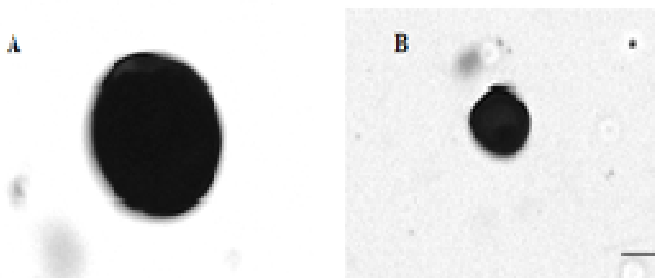


Figura 1 – Grãos de pólen de *Verbena litoralis*. A- pólen viável corado e tamanho normal. B- pólen inviável corado e de tamanho diminuto. Escala= 10 μ

Os resultados foram analisados pelo teste estatístico do Qui-quadrado (χ^2) a 5% de probabilidade.

Resultados e discussões

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que 71% dos grãos de pólen corados com orceína acética foram viáveis. Já, os grãos de pólen corados com reativo de Alexander mostraram 76,6% de grãos viáveis e 23,4% de grãos inviáveis. A comparação entre os corantes não mostrou diferença significativa pelo teste estatístico χ^2 entre os corantes utilizados.

As medições realizadas nos grãos de pólen de *Verbena litoralis* mostraram que houve variação de tamanho de 51,25 μ (normais) a 24,75 μ (diminutos),



Tabela 1 – Comparação da viabilidade polínica de *Verbena litoralis* com os 02 corantes.

População	Orceína acética 2%		Reativo de Alexander	
	N*	% viabilidade	N	% viabilidade
Campus UFSM	213	71% a	230	76,6% a

*N, Número de pólen viáveis.

Estudos da estimativa da viabilidade polínica pelo método da coloração foram realizados com plantas medicinais nativas por vários autores, como por Frescura et al. (2010) que registraram de 65 a 80% de viabilidade em *Casearia sylvestris* Sw. com a utilização de orceína acética 2% e reativo de Alexander; Tedesco et al. (2010) observaram que 96,66% de grãos de pólen de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. foram viáveis com orceína acética 2%. Em uma espécie invasora dos campos sulinos, *Eragrostis plana* Nees, Piccinini et al. (2010) encontraram 95% de grãos de pólen viáveis para com a utilização de reativo de Alexander, demonstrando também alta viabilidade.

Nesse estudo, observou-se que todos os botões florais analisados da população estudada de *Verbena litoralis* tiveram valores acima de 70%, o que é considerado como alta viabilidade, porém são desejáveis valores acima de 90% para melhores resultados em trabalhos envolvendo cruzamentos de plantas.

Conclusão

Conclui-se que através de metodologia de coloração comparativa com dois diferentes corantes, *Verbena litoralis* apresenta viabilidade polínica acima de 71%, não diferindo quanto às metodologias de coloração e sugere-se que pode ser incluída em um programa de melhoramento da espécie.



Referências

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, 2010, Santa Maria. Anais JAI, 2010.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 191p.

HANNA, H.H. **Application of cytogenetics to plant breeding**. In: SOUTHERN PASTURE AND FORAGE CROP IMPROVEMENT CONFERENCE, [S.I.], Proceedings... [S.I.:s.n.], 1980, p. 75-80.

JOLY, A.B., 1979. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**, 5. ed., Editora Nacional, São Paulo, pág. 579.

LORENZI, H., 2000. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**, 3ª.ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum de estudos da flora, São Paulo, 807p.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). 1995. **Classificação Internacional das Doenças – 10ª Conferência**. Porto Alegre, Ed. Sagra-DC Luzzatto, 444p.

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.

TEDESCO, et al. **Estimativa da viabilidade polínica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC**. In: 25ª Jornada Acadêmica Integrada da UFSM, 2010, Santa Maria. Anais JAI, 2010.

TEDESCO, S.B.. **Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae)**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

SOUZA, et al., 2005. **Análise Morfo-Histológica e Fitoquímica de *Verbena litoralis* Kunth**. Acta Farm. Bonaerense, v.24, n.2, p.209-214, 2005.

SYBENGA, J. **Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view**. In: CURRENT Topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Viena: T. Lelley; Universitäts Verlag, 1998. p. 22-23.

YEO, P.F., 1989. **Kew Bull.** 45: 101-20.



ESTIMATIVA DA VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN DE *Polygala paniculata* L. POR METODOLOGIAS DE COLORAÇÃO

TEDESCO, S.B.^{1*}; FRESCURA, V.D.²; LAUGHINGHOUSE IV, H.D.³;
CANTO-DOROW, T. S.¹

¹ Docente, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. solatedesco@yahoo.com.br

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

³ Biólogo, Doutorando, Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, DC, USA; Department of Environmental Science and Technology, University of Maryland, Maryland, USA.

Resumo

A *Polygala paniculata* L., é uma planta medicinal que cresce na costa Atlântica brasileira. É utilizada pela população para o tratamento de doenças respiratórias, problema renal, dor de estômago, artrite, artrose e diarreia. Estudos fitoquímicos revelaram a presença de flavonóides que já foram identificados e isolados da *P. paniculata*. O objetivo deste trabalho foi estudar a viabilidade polínica de cinco acessos da espécie *P. paniculata*, com duas diferentes metodologias de coloração. A análise da viabilidade polínica foi feita através da coleta de botões florais, após fixação e armazenamento, o preparo de lâminas foi realizado pela técnica de esmagamento das anteras e coloração com carmim acético 2% e reativo de Alexander, sendo preparadas 2 lâminas para cada corante, analisando 300 grãos de pólen de cada uma das lâminas, totalizando 600 grãos de pólen para cada corante. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% ($p \leq 0,05$). Dentre os acessos estudados, a viabilidade polínica foi considerada alta para os cinco acessos, acima de 70%, O reativo de Alexander demonstrou ser o mais indicado para estimar a viabilidade polínica de *P. paniculata*.

Palavras-chave: Viabilidade polínica. Carmim acético 2%. Reativo de Alexander. *P. paniculata*



Introducao

A *Polygala paniculata* L. (Poligalaceae), popularmente conhecida como barba-de-sao-joao, bromil, vassourinha branca e mimosa, e uma planta que cresce na costa Atlantica brasileira e tambem no litoral de Santa Catarina. E utilizada na medicina popular para o tratamento da asma, bronquite cronica, artrite, artrose, problemas renais, dor de estomago e diarreia (Newall et al. 1996). Alguns compostos da *P. paniculata* ja foram identificados e isolados como xantonas, cumarinas, o flavonol rutina e fitosterol (Cristiano et al. 2003).

Em estudos realizados por Pizzolatti et al. (2003) demonstrou-se que as fracoes diclorometano e etanolica do extrato bruto da *P. paniculata* apresentaram atividade tripanossomicida contra a forma epimastigota do parasita *Trypanosoma cruzi*.

A estimativa da viabilidade polinica constitui um importante parametro em analises de fluxo genico no estudo de plantas, pois evidencia a potencialidade reprodutora masculina da especie e ainda contribui para estudos taxonomicos, ecologicos, palinologicos e geneticos (Alexander, 1980). E de acordo com Alexander (1980), atraves dos testes com o corante reativo de Alexander, e possivel diferenciar os graos de polen abortados dos nao abortados. Os graos de polen abortados nao possuem o nucleo sendo corada apenas a celulose contida na parede.

Em estudo realizado por Paula (2009) foi analisada a viabilidade polinica de *Conyza bonariensis* utilizando os corantesorceina acetica 2%, carmin acetico 1%, azul de amila e reativo de Alexander, sendo que os resultados mostraram que o reativo de Alexander foi o mais indicado para estimar a viabilidade polinica, pois cora de cores diferentes o polen viavel do inviavel. Enquanto que os demais corantes podem ter superestimado a viabilidade dos graos de polen, pois coram os polens viaveis e inviaveis da mesma cor (vermelho), diferenciando-os apenas pela tonalidade.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade dos graos de polen de cinco acessos de *P. paniculata* com duas diferentes



metodologias de coloracao, o corante carmim acetico 2% e o reativo de Alexander, fornecendo dados para inclusao da mesma em um programa de melhoramento genetico da especie.

Metodologia

O material vegetal avaliado foi coletado no municipio de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Para o estudo da viabilidade polinica, realizado no Laboratorio de Citogenetica e Genotoxicidade do Departamento de Biologia, Centro de Ciencias Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), avaliaram-se cinco acessos de *P. paniculata*. Para a coloracao dos graos de polen foram utilizados dois corantes: carmim acetico 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fuscina acida).

No inicio da floraacao, as inflorescencias das plantas foram coletadas e fixadas em etanol:acido acetico (3:1) durante um periodo de 24 horas, em temperatura ambiente. Apas, foram mantidas em etanol 70% e conservadas sob refrigeracao ate o preparo das laminas. As laminas foram preparadas pela tecnica de esmagamento (Guerra e Souza, 2002).

No caso do corante carmim acetico 2%, a analise foi realizada imediatamente. Para esse corante, a viabilidade foi determinada pela diferenciacao de tamanho e pela capacidade de coloracao dos graos de polen, onde foram considerados viaveis os polens que apresentaram tonalidades mais escuras e com tamanho maior, e inviaveis aqueles que apresentaram tonalidades mais claras e tamanho inferior aos demais. Ja com o corante reativo de Alexander, o material foi recoberto com laminula, vedado com cola, armazenado em ambiente refrigerado e, somente apas 24 horas, foi realizada a analise das laminas, e foram considerados viaveis os graos de polen com tamanho maior e coloracao purpura, enquanto que os polens com tamanho menor e com coloracao azul-esverdeada foram considerados inviaveis.

Foram avaliadas 4 laminas por planta, sendo 2 para cada corante, em microscopio optico com lente objetiva de 40x. Para se obter



uma amostragem ao acaso dos grãos de pólen viáveis e inviáveis, foi utilizado o método de varredura até se alcançar o número total de 300 grãos de pólen por lâmina, totalizando 600 grãos de pólen por corante utilizado. Após a contagem, foram feitos cálculos para obtenção da percentagem de coloração dos grãos de pólen.

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Assistat versão beta 7.5. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussões

Na Tabela 1, encontram-se os resultados da viabilidade polínica dos 5 acessos avaliados com os corantes carmim acético 2% e reativo de Alexander.

A comparação da estimativa da viabilidade polínica entre os acessos estudados mostrou que não ocorreu diferença significativa entre os acessos, para nenhum dos corantes utilizados (Tabela 1). Porém, dentre os corantes utilizados, foi possível verificar que o carmim acético 2% apresentou maior taxa de viabilidade polínica (79,52%) diferindo estatisticamente do reativo de Alexander (72,26%).

Na Tabela 1, ainda é possível observar a comparação dos resultados de cada acesso estudado com os 2 tipos de coloração, onde, os acessos apresentam resultados que não diferem significativamente entre os corantes em estudo.

Entre as médias gerais dos dois corantes, ocorreu diferença significativa na estimativa da viabilidade dos grãos de pólen de *P. paniculata* (Tabela 1). Dentre os acessos estudados, a viabilidade polínica foi considerada alta para a maioria dos acessos, acima de 70% (Souza et al. 2002),

No caso do corante carmim acético 2%, foi possível obter dados menos acurados que os resultados obtidos com o reativo de Alexander, pois para o carmim acético 2%, a viabilidade dos grãos de pólen foi descrita através da diferenciação da tonalidade da coloração do corante e



através do tamanho anormal dos grãos de pólen. Para o carmim acético 2%, a viabilidade polínica totalizou 79,52%. Para o corante reativo de Alexander, a viabilidade polínica foi de 72,26%, diferindo significativamente do carmim acético 2%, e apresentando-se nesse estudo como o corante com maior eficácia na discriminação de grãos de pólen viáveis de inviáveis.

Tabela 1 - Médias da viabilidade polínica para os cinco acessos estudados com os corantes carmim acético 2% e reativo de Alexander.

Acessos	Viabilidade com o corante carmim acético 2% (%)	Viabilidade com o corante reativo de Alexander (%)
1	84.66 ^{aA*}	76.00 ^{aA}
2	73.66 ^{aA}	67.33 ^{aB}
3	79.99 ^{aA}	72.66 ^{aA}
4	83.49 ^{aA}	76.66 ^{aA}
5	75.83 ^{aA}	68.66 ^{aA}
Total	79,52 ^A	72,26 ^B

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

De acordo com Alexander (1980), as análises de estimativa da viabilidade polínica usando o corante reativo de Alexander, parecem fornecer dados mais acurados, pois se obtém uma coloração diferencial entre os pólenes viáveis e inviáveis, e isso ocorre devido à utilização simultânea de verde-malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam coloração reversa. O protoplasma celular do pólen reage quimicamente com a fucsina ácida dando cor púrpura. O pólen inviável (abortado) apresenta a parede celulósica verde ou verde-azulada e o protoplasma, mal distribuído, pouco corado e não raramente ausente.



Conclusão

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que *P. paniculata* possui alta viabilidade polínica, sendo que entre os dois corantes utilizados, o reativo de Alexander foi o que apresentou melhor poder de discriminação para a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen desta espécie, viabilizando sua inclusão em um programa de melhoramento genético.

Referências

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

CRISTIANO, R.; PIZZOLATTI, M.G.; DELLE F.M.; REZENDE C.M.; BRANCO, A. Two xanthenes from *Polygala paniculata* and confirmation of the 1-hydroxy-2,3,5-trimethoxy-xanthone at trace level by HRGC-MS. **Z. Naturforsch [C]**, v.58, n.7-8, p. 490-494, 2003.

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

NEWALL, A.C.; ANDERSON A.L.; PHILLIPSON, D.J. **Herbal Medicines: A guide for health-care professionals.**, 3.ed. London: The pharmaceutical press, 1996.

PAULA, J.M. **Caracterização e manejo de *Conyza* spp resistente ao herbicida glifosato.** 2009. 70f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, 2009.

PIZZOLATTI, M. G. KOGA, A. H. GRISARD, E. C. Steindel, M. Trypanocidal activity of extracts from Brazilian Atlantic Rain Forest plant species. **Phytomedicine**, v.10, n.5, p: 422-6, 2003.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. 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.



ANÁLISE DA VIABILIDADE POLÍNICA DE FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.) EM DIFERENTES HORÁRIOS DE COLETA

PASTORI, T.^{1*}; DALLA NORA, G.²; FRESCURA, V.D³; RIBEIRO, N.D⁴; TEDESCO, S.B⁵.

¹ Bacharelando, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * tamarapastori@gmail.com

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

³ Biólogo, Mestrando, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

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

Resumo

A caracterização citogenética de uma espécie é muito importante para um programa de melhoramento, principalmente por gerar informações e fornecer métodos para manipulação genética. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a viabilidade polínica nos botões florais de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Guapo Brilhante, em três horários diferentes durante um dia. Os botões florais foram coletados e fixados em álcool-ácido acético (3:1), durante o período de 24 horas, após isso, transferidos para álcool 70%. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras. Utilizaram-se dois corantes: carmim acético a 2% e reativo de Alexander. Na análise da viabilidade polínica o delineamento estatístico foi inteiramente casualizado. Sendo contados 300 grãos de pólen por lâmina e cada lâmina considerada como uma repetição, perfazendo um total de 16 botões florais analisados, obtidos de quatro plantas. Os resultados mostram que não houve diferença significativa entre as plantas utilizadas em nenhuma das temperaturas estudadas, e também não ocorreu diferença entre as plantas dentro de um mesmo horário. O corante reativo de Alexander é mais indicado para a coloração de grão de pólen de feijão. Os grãos de pólen de feijão comum apresentaram alto percentual de viabilidade polínica nos três horários analisados.



Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.. Feijão. Viabilidade polínica. Grãos de pólen.

Introdução

O feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L., é uma das espécies mais importantes da família Fabaceae, pois representa um dos principais componentes da dieta de grande parcela da população mundial. No Brasil é a principal leguminosa fornecedora de proteínas, fazendo parte da alimentação diária das classes sócio-econômicas menos favorecidas (Antunes, 1995). O grão constitui o alimento protéico básico na dieta da população, variando regionalmente quanto à exigência de cor e tipo de grão, além da qualidade culinária. O melhoramento genético apresenta-se como uma estratégia para elevar a qualidade nutricional e tecnológica das sementes de feijão aumentando o teor de minerais, disponibilizando um alimento com composição química adequada, minimizando os problemas de carências nutricionais na alimentação.

A caracterização citogenética de uma espécie é muito importante para um programa de melhoramento, uma vez que ajuda a selecionar materiais adequados e a manter uma monitoração constante, revelando alterações na fertilidade dos indivíduos (Navarini, 2008). Segundo Sybenga (1998), a citogenética possui duas funções principais no melhoramento de plantas: primeiramente, gerar informações e, posteriormente, fornecer métodos para manipulação genética. As informações citogenéticas importantes ao melhorista são aquelas já existentes sobre o material que está sendo trabalhado, sobre a metodologia que será utilizada durante o trabalho e, as novas informações que irão surgindo ao longo do projeto.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a viabilidade polínica nos botões florais de feijão, na cultivar Guapo Brilhante, em três horários diferentes de coleta durante um dia, a fim de investigar a existência de um horário onde os grãos estariam com maior viabilidade para facilitar os cruzamentos.



Metodologia

O experimento foi conduzido no Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Santa Maria, em casa-de-vegetação. A semeadura foi realizada em vasos plásticos com capacidade para 5 L, contendo a mistura de solo + substrato comercial Plantimax® + casca de arroz carbonizada, na proporção volumétrica de 2: 1: 1. Foram utilizadas nesse estudo quatro plantas da cultivar Guapo Brilhante (B1P1, B1P2, B2P1 e B2P2). Durante o período de floração, os botões florais foram coletados em diversos estádios de desenvolvimento. As coletas foram realizadas às 7 horas, às 12 horas e às 17 horas. Após coletados, os mesmos foram fixados em álcool absoluto-ácido acético glacial (3:1), durante o período de 24, à temperatura ambiente. Posteriormente, os botões florais foram transferidos para álcool 70% e mantidos sob refrigeração até a sua utilização.

As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras, de forma que, ao se romperem as anteras ocorre a liberação dos grãos de pólen. A coloração foi feita utilizando-se dos corantes distintos: carmim acético 2% e Reativo de Alexander. Para a estimativa da viabilidade polínica pelo método de coloração com carmim acético 2%, os grãos de pólen foram considerados inviáveis quando apresentaram tamanho anormal e colorações fracas, e viáveis quando bem corados com distribuição homogênea. Pelo método de coloração de Alexander (1980), foram considerados viáveis os grãos corados de púrpura e inviáveis os corados de verde.

Na análise da viabilidade polínica o delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, testando a viabilidade do pólen com o auxílio de dois corantes. A unidade experimental é de uma lâmina por corante. Foram contados 300 grãos de pólen por lâmina, sendo cada lâmina considerada como uma repetição, foram analisados 8 botões por corante, totalizando 16 botões florais, 4.800 grão de pólen, obtidos de quatro plantas (B1P1, B1P2, B2P1 e B2P2). A análise estatística constou de análise de variância dos dados e comparação das médias pelo Teste de



Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e discussões

Não houve diferença significativa entre as plantas utilizadas em nenhuma das temperaturas estudadas, e também não ocorreu diferença entre as plantas dentro de um mesmo horário, para o corante carmin acético 2% (Tabela 1). O corante reativo de Alexander também não apresentou diferença significativa entre as plantas dentro dos horários estudados, bem como não houve diferença entre os três horários (Tabela 2). Quando comparados os dois corantes, carmin acético 2% e o reativo de Alexander, que não houve diferença significativa entre eles em nenhum dos horários em estudo, tanto entre horários quanto dentro de cada horário (Tabela 3).

Tabela 1 - Médias da viabilidade polínica com o corante carmin acético 2%.

CORANTE CARMIM ACÉTICO 2%			
	1º horário (7 horas)	2º horário (12 horas)	3º horário (17 horas)
B1P1	92,83 ^{aA*}	93,50 ^{aA}	85,00 ^{aA}
B1P2	96,50 ^{aA}	97,16 ^{aA}	97,16 ^{aA}
B2P1	93,50 ^{aA}	92,83 ^{aA}	90,66 ^{aA}
B2P2	99,50 ^{aA}	97,33 ^{aA}	100 ^{aA}

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

A viabilidade polínica foi considerada alta acima de 80 %, demonstrando que todas as plantas estudadas apresentam alta viabilidade polínica nos três diferentes horários analisados. Mesmo não havendo diferenças significativas na comparação entre os dois corantes, constatamos que o corante carmin acético 2% pode ter superestimado a



viabilidade, pois cora polens viáveis e inviáveis com a mesma intensidade. Como não existe outro parâmetro comparativo, às vezes a distinção entre viáveis e inviáveis torna-se duvidosa.

Tabela 2 - Médias da viabilidade polínica com o corante reativo de Alexander.

CORANTE REATIVO DE ALEXANDER			
	1º horário (7 horas)	2º horário (12 horas)	3º horário (17 horas)
B1P1	96,83 ^{aA*}	93,16 ^{aA}	95,83 ^{aA}
B1P2	94,16 ^{aA}	89,50 ^{aA}	96,33 ^{aA}
B2P1	91,33 ^{aA}	98,83 ^{aA}	95,50 ^{aA}
B2P2	93,50 ^{aA}	89,66 ^{aA}	98,50 ^{aA}

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

O corante reativo de Alexander é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen no feijão, pois permitiu distinguir com mais segurança pólen viável do inviável. As análises usando esse corante parecem fornecer dados mais acurados sobre a viabilidade do pólen, pois se obtém uma coloração diferencial dos polens viáveis e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam coloração reversa. O primeiro tem afinidade pela celulose presente na parede celular, corando-a de verde, enquanto que o protoplasma é corado pela fucsina ácida. Dessa maneira, por não apresentarem protoplasma, os grãos de pólen abortados coram-se de verde (Alexander, 1980).

Segundo estudo realizado por Vargas (2006) os grãos de pólen de mamona (*Ricinus communis* L.) apresentaram alto percentual de viabilidade polínica na antese. Outros estudos mostram que em



leguminosas nativas, como é o caso do gênero *Leucaena* sp., a viabilidade polínica variou de 71 a 98% (Boff, 2002). Segundo Tedesco (2000) a viabilidade do pólen do *Adesmia* sp. apresentou-se acima de 90% para a maioria das plantas estudadas. Nos gêneros *Eriosema* e *Rhynchosia*, também nativas na Região Sul, foi encontrada uma porcentagem de viabilidade do pólen superior a 94% (Biondo e Battistin, 2001).

Tabela 3 - Comparação entre as médias da viabilidade polínica com o corante camim acético 2% e reativo de Alexander.

MÉDIA GERAL DOS CORANTES				
		1º horário	2º horário	3º horário
		(7 horas)	(12 horas)	(17 horas)
Carmim Acético 2%		95,58 ^{aA}	95,20 ^{aA}	93,20 ^{aA}
Reativo	de	93,95 ^{aA}	92,78 ^{aA}	96,54 ^{aA}
Alexander				

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

Conclusão

Os grãos de pólen de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) apresentaram alto percentual de viabilidade polínica nos três horários analisados e não houve diferença significativa entre os mesmos para a cultivar Guapo Brilhante. O corante Reativo de Alexander é mais indicado para a coloração de grão de pólen de feijão, já que o corante carmim acético 2% pode superestimar a viabilidade.

Referências

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**. v.5, n.1, p. 13-18, 1980.



ANTUNES, P.L. et al. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares RICO 23, CARIOCA, "PIRATÃ-1" E "ROSINHA-G2". Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.1, n.1, p. 12-18, Jan-Abr. 1995.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) e *Rhynchosia* LOUR (Leguminosae-Faboideae), nativas na região sul do Brasil. **Bioikos**, v.15, n.1, p.39- 44, 2001.

BOFF, T. **Comportamento meiótico e fertilidade do pólen em espécies de *Leucaena* Bentham (Leguminosae/Mimosoidae).** 2002. 159 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2002.

NAVARINI, A.P.G. **Caracterização citogenética de populações de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schltld. (Clusiaceae) em comparação com outras espécies do gênero.** 2008. 85f. Dissertação (Mestrado em Horticultura)–Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2008.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view. In: LELLEY, T. **Current Topics in plant cytogenetics related to plant improvement.** Viena: Universitäts Verlag, 1998. p.22-33

TEDESCO, S.B. **Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae).** 2000. 163f. Tese (Doutorado em Zootecnia)–Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2000.

VARGAS, D.P. **Mamona (*Ricinus communis* L.): cultura de antera, viabilidade e conservação de pólen.** 2006. 98f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. 2006.



REGENERAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ARROZ *IN VITRO* UTILIZANDO A TÉCNICA DE CULTURA DE ANTERAS

SOUZA, T.M.^{1*}; CIMA, F.F.¹; SILVA, P.S. da¹; WENDT, S.N.²; PETERS, J.A.³; COSTA DE OLIVEIRA, A.¹

¹ Centro de Genômica e Fitomelhoramento-FAEM/UFPEL, Pelotas, RS. * E-mail : tati_msouza@yahoo.com.br

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, PR

³ Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica/UFPEL

Resumo

A cultura de anteras de arroz é uma técnica utilizada para a obtenção de plantas haplóides. Esta técnica possibilita a obtenção de plantas totalmente homozigotas em apenas uma geração. O arroz, cereal de grande importância econômica e social, apresenta em condições de alagamento, toxidez ao ferro. Este estresse pode ocasionar elevadas perdas na produtividade. O objetivo deste trabalho consistiu no estudo da regeneração *in vitro* de genótipos de arroz através da cultura de anteras. Os genótipos utilizados foram as cultivares Nipponbare e BRS Atalanta e os híbridos em geração F₂ do cruzamento realizado entre essas cultivares. O meio de cultura para indução de calos foi o NL modificado suplementados com ANA e Cinetina. Para a indução de gemas e multiplicação de plantas foi utilizado o meio de cultura MS modificado. As variáveis analisadas foram formação de calos e regeneração de plantas verdes e albinas. A cv.Nipponbare e o cruzamento entre Nipponbare X BRS Atalanta tiveram 2,06% e 0,65% de formação de calos, respectivamente. A regeneração de plantas verdes e albinas também foi obtida neste trabalho para ambos os genótipos. Desta forma, o método utilizado é eficiente para a regeneração de plantas, sendo o genótipo Nipponbare mais responsivo.

Palavras-chave: Arroz. Cultura de anteras. Duplo-haplóides.

Introdução

O arroz é uma cultura de grande destaque no cenário mundial, sendo de grande importância econômica e social. No ano de 2010 foi o



segundo cereal mais produzido no mundo (FAO, 2010). O Brasil possui um papel de destaque por ser o primeiro país fora da Ásia em produção e consumo tendo produzido na última safra 11,5 milhões de toneladas. O principal método de cultivo de arroz na região Sul do Brasil é o sistema irrigado. O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de arroz do país, representando cerca de 63% da produção (CONAB, 2010).

O melhoramento genético de plantas tem como objetivo aumentar a produtividade, a qualidade do grão e os aspectos relacionados a estresse abiótico e biótico. Devido à importância da cultura do arroz, muitos centros de pesquisa desenvolvem periodicamente novas cultivares de arroz através de programas de melhoramento (Bertan, 2005). Sendo assim, o melhoramento genético de plantas surge como uma alternativa para ser utilizada para amenizar problemas no cultivo do arroz, como por exemplo, a toxicidade de ferro. O acúmulo de concentrações de ferro reduzido (Fe^{2+}) nos solos alagados causa problemas de toxidez nas plantas (Ratering e Schnell, 2000). A utilização de cultivares tolerantes a toxicidade por ferro é uma alternativa eficiente para evitar os efeitos da toxicidade em lavouras de arroz irrigado (Magalhães Jr., 2005).

A cultura de tecidos vegetais, na qual utiliza distintos processos de manipulação *in vitro*, é empregada de diferentes formas no desenvolvimento de cultivares superiores de plantas (Moraes-Fernandes et al., 1999). Uma de suas aplicações no melhoramento de plantas é a obtenção de haplóides através da cultura de anteras. Estas plantas possuem somente metade do patrimônio genético e são, portanto, estéreis. Através da duplicação de seu número cromossômico recuperam a condição de diplóides, restaurando assim a fertilidade (Moraes-Fernandes, 1990).

Diversos fatores podem influenciar na obtenção de plantas duplo-haplóides. Os principais fatores são o genético, meio de cultura, planta doadora de micrósporos, estágio de desenvolvimento dos micrósporos, pré-tratamento e a grande produção de plantas albinas (Silva, 2010). Uma população de duplo-haplóide com características diferenciais a tolerância ao ferro pode contribuir para estudos futuros visando entender os



mecanismos que controlam a tolerância ao ferro em arroz. Desta forma, esta ferramenta possibilitará a seleção precoce de indivíduos tolerantes ao excesso de ferro, contribuindo de maneira significativa com a eficiência dos programas de melhoramento genético.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de regeneração *in vitro* de plantas de arroz contrastantes a toxidez por ferro da subespécie indica (BRS Atalanta) e japônica (Nipponbare), assim como, o cruzamento realizado entre japônica X indica (Nipponbare X BRS Atalanta).

Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Centro de Genômica e Fitomelhoramento (UFPEL), Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas (UFPEL) e Embrapa Clima Temperado Estação Terras Baixas (ETB).

Como material botânico foram utilizadas sementes das cultivares Nipponbare, BRS Atalanta e o cruzamento de Nipponbare x BRS Atalanta em geração F₂. A tolerância ao ferro foi utilizada como característica contrastante para a escolha dos genótipos utilizados no cruzamento. Assim, a cultivar Nipponbare foi utilizada como tolerante a toxidez por ferro enquanto a cultivar BRS Atalanta como sensível.

As sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 10% por 10 minutos. Após as sementes foram acondicionadas em caixas Gerbox com papel germinador e mantidas por sete dias em estufa incubadora BOD à 25°C. Após, as sementes foram transplantadas para vasos de oito litros contendo solo e mantidas em casa-de-vegetação.

As panículas para a cultura de anteras foram coletadas entre 8:30 e 9:30h, de afilhos cuja distância entre as aurículas da folha bandeira e da penúltima folha encontrava-se entre 5 a 8 cm. As anteras nesse estágio apresentam coloração amarelo-esverdeada, contendo grãos de pólen em sua maioria no estágio uninucleado (Lentini et al., 1997). Como pré-tratamento, as panículas foram armazenadas em geladeira, a aproximadamente 8°C, por um período de sete a dez dias.



Passado o pré-tratamento, a desinfestação do material foi realizado com as soluções de álcool 70% por 1 minuto e hipoclorito de sódio 5% na qual foi adicionado detergente líquido (3 gotas para cada 100 mL) e ácido clorídrico (HCL 1 N – 5 gotas para cada 100 mL) por 7 minutos. As anteras foram inoculadas em frascos de vidros de 200 mL, contendo cerca de 20 mL de meio de cultura líquido, e mantidas em estufa, no escuro, a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por um período de 30 a 60 dias. Foram inoculadas 60 anteras por frasco. O meio de cultura utilizado foi o NL modificado (Lentini et al., 1994), acrescidos de 4 ml L^{-1} de ANA (ácido naftaleno acético), 1 ml L^{-1} de Cinetina e 50 g L^{-1} de maltose.

Para a regeneração de gemas e multiplicação de plantas verdes foi utilizado o meio de cultura MS modificado (Murashige e Skoog, 1962). No meio MS para a indução de gemas foi acrescentado sacarose 30 g L^{-1} , mio-inositol 100 mg L^{-1} , 7 g L^{-1} de ágar e como reguladores de crescimento ANA 1 mg L^{-1} e cinetina 4 mg L^{-1} . No meio de multiplicação foi acrescentado 3 mg L^{-1} de 6-benzilaminopurina (BAP), sacarose (30 g L^{-1}) e ágar (7 g L^{-1}). Os frascos com calos para a regeneração de gemas e multiplicação foram incubados com fotoperíodo de 8 horas de escuro e 16 horas de luz e temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, em sala de crescimento.

Foram avaliados o número de calos formados e o número de plantas verdes e albinas. As avaliações dos calos foram efetuadas no momento da transferência para o meio de multiplicação de plantas. Contou-se o número de calos formados e obteve-se a porcentagem de calos para cada genótipo. Para avaliar a regeneração das plântulas de arroz, contou-se o número de calos com plantas verdes e albinas, também obtendo-se a porcentagem. A eficiência do processo, ou seja, a eficiência da cultura de anteras é calculada através do número de plantas verdes regeneradas pelo número de anteras inoculadas.

Resultados e discussão

O número de anteras inoculadas por genótipo está descrita na Tabela 1. A cultivar Nipponbare apresentou uma maior formação de calos (2,06%), seguido pelo cruzamento Nipponbare X BRS Atalanta (0,65%) e



BRS Atalanta (0,06%). Considerando que a cultivar Nipponbare é da subespécie japônica, este resultado corrobora com a afirmativa de que a resposta de genótipos do tipo japônica é mais responsiva a técnica de cultura de anteras que do tipo indica (Brar e Kush 2006; Kush e Brar 2002). Os genótipos da subespécie japônica e indica são fatores genéticos que influenciam na resposta a técnica de cultura de anteras (Raina e Zapata, 1997; Chen et al., 1991). Recentes trabalhos visam modificações de meios de cultura e alguns tratamentos para aumentar assim a resposta de genótipos indica para a obtenção de haplóides (Khatun et al., 2010; Dewi et al., 2009; Bagheri e Jelodar, 2008).

Tabela 1 - Número de anteras inoculadas, calos formados, plantas verdes e albinas regeneradas nos três genótipos de arroz. FAEM/UFPel-CGF, 2011.

Genótipo	Anteras inoculadas	Calos formados		Plantas verdes			Plantas albinas		
		nº	%	nº	%	Eficiência %	nº	%	Eficiência %
Nipponbare	9.000	185	2,06	8	72,73	0,09	3	27,27	0,03
BRS Atalanta	9.720	5	0,06	0		-	0		-
Nipponbare x BRS Atalanta	64.800	418	0,65	17	68	0,03	8	32	0,01
Total de anteras	83.520	608							

A cultivar BRS Atalanta não obteve formação de plantas. No entanto, a cv. Nipponbare apresentou uma eficiência na formação de plantas verdes de 0,09%, enquanto o híbrido proveniente do cruzamento das cv. Nipponbare X BRS Atalanta obteve 0,03% de eficiência para a técnica utilizada neste trabalho.

A formação de plantas albinas também ocorreu neste trabalho. Plantas albinas tem alta ocorrência em cultura de anteras, sendo um dos fatores de grande influência nos resultados da técnica. A porcentagem de ocorrência de plantas albinas foi observada em maior número na cv. Nipponbare (0,03%) do que no cruzamento Nipponbare X BRS Atalanta (0,01%). A ocorrência deste fenômeno é influenciada por fatores como a espécie, o genótipo, a composição do meio de cultura e com a temperatura



de incubação das anteras (Raina, 1989). A frequência de plantas albinas é bastante variável, podendo representar de 5 a 90% das gemas regeneradas (Mantell et al., 1994).

Conclusão

A cultivar Nipponbare da subespécie japonica é mais eficiente, tanto na formação de calos como na regeneração de plantas verdes.

Referências

BAGHERI, N.; JELODAR, N.B. Combining Ability and Heritability Induction and Green-Plant Regeneration in Rice Anther Culture. **Biotechnology**, v.7, n.2, p.287-292, 2008.

BERTAN, I. **Distância genética como critério para escolha de genitores em programas de melhoramento de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2005. 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Curso de Pós-Graduação em Agronomia, FAEM-UFPEL, Pelotas.

BRAR, D.S.; KUSH, G.S. Cytogenetic manipulation and germplasm enhancement of rice (*Oryza sativa* L.). In: SINGGH, R.J.; JAUHAR, P.P. (Eds.). **Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement**. v.2. US: CRC press, 2006. p.115-158.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em 15/12/2010.

DEWI, I.S.; PURWOKO, B.S.; ASWIDINNOOR, H.; SOMANTRI, I.H; CHOZIN, M.A. Plant Regeneration from Anther Culture of Several Genotypes of Indica Rice Tolerant to Aluminum Toxicity. **Indonesian Journal of Agriculture**, 2 (1), 1-5, 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database, disponível em <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx>, acessado em 15/12/2010.

KHATUN, R; SHAHINUL, I.; MIAH, B. Studies on Plant Regeneration Efficiency Through *in vitro* Micropropagation and Anther Culture of Twenty Five Rice Cultivars in Bangladesh. **Journal of Applied Sciences Research**, 6 (11): 1705-1711, 2010.

KUSH, G.S.; BRAR, D.S. **Biotechnology for rice breeding**: process and potential impact. The international rice commission – 20th sessions, Bangkok, Thailand, 2002.



LENTINI, Z., MARTÍNEZ, C., ROCA, W. **Cultivos de anteras de arroz en el desarrollo de germoplasma**. Cali: CIAT, 1997. 62p.

LENTINI, Z.; REYES, P.; MARTÍNEZ, C.; NÚÑEZ, V.; ROCA, W. **Mejoramiento del arroz con cultivo de anteras: aplicaciones en el desarrollo de germoplasma adaptado a ecosistemas latinoamericanos y el Caribe**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 1994. 79p.

MAGALHÃES JR, A. M de; FAGUNDES, P. R. R; GOMES, A.S; FRANCO, D. F.; SEVERO, A. Seleção de linhagens de arroz irrigado do programa de melhoramento da Embrapa á toxicidade por ferro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4 ; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26, 2005, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, 2005. p. 204-206.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; McKEE, R.A. Técnicas de cultura de tecidos. In: MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J.A.; McKEE, R.A. **Principios de biotecnologia em plantas: uma introdução a engenharia genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de genética, 1994. p.101-181.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Obtenção de plantas haplóides através da cultura de anteras. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPB, 1990. p. 311-332.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; STIVAL, A.L.; BRAMMER, S.P., et al. Haplodiploidização: genética e melhoramento. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S., BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília : EMBRAPA/CBAB, 1999. v.2, p.569-612.

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

RAINA, S.K.; BALACHANDRAN, S.M.; VIRMANI, S.S.; ZAPATA, F.J. I mproved medium for efficient anther culture of some *indica* rice hybrids. **International Rice Research Newsletter**, v.14, n.3, 1989.

RATERING, S.; SCHNELL, S. Localization of iron-reducing activity in paddy soil by profile studies. **Biogeochem**, v.48, p.341–365, 2000.

SILVA, T.D. Indica rice anther culture: can the impasse be surpassed? **Plant Cell Tissue Organ Cult**, v.100, p.1–11, 2010.



MELHORAMENTO DE PLANTAS

SOMA TÉRMICA ACUMULADA PARA DISTINGUIR A BROTAÇÃO DE TUBÉRCULOS DE BATATA

MÜLLER, D.R.^{1*}; BISOGNIN, D.A.²; GNOCATTO, F.S.³

¹ Doutorando, Programa de Pós Graduação em Agronomia, Professor do Colégio Agrícola de Frederico Westphalen, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * dagmuller@hotmail.com.

² Engenheiro Agrônomo, PhD., Professor do Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a soma térmica das diferentes fases de desenvolvimento das plantas para distinguir a brotação dos tubérculos de clones de batata produzidos e armazenados em diferentes condições. Foi determinada a emergência (EM), início da tuberização (IT) e início da senescência (IS) de quatro clones de batata (SMIJ461-1, SMINIA793101-3, SMINIA97145-2 e Macaca) produzidos a campo em Santa Maria e Júlio de Castilhos, durante os cultivos de primavera e outono e calculada a soma térmica acumulada (STa) em cada fase. Os tubérculos foram ainda armazenados a 10 e 20°C e determinada a porcentagem e o número de brotos por tubérculo. Tubérculos produzidos em Júlio de Castilhos e na primavera apresentaram maiores valores de STa e também maior porcentagem e número de tubérculos brotados do que aqueles produzidos em Santa Maria e no outono. As condições ambientais do cultivo de outono proporcionaram maiores diferenças entre clones para a brotação dos tubérculos. A STa entre a EM-IS ou entre o IT-IS pode ser utilizada para distinguir batata semente quanto ao período necessário para a brotação dos tubérculos.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.. Graus dia. Idade Fisiológica. Brotação.



Introdução

No desenvolvimento da batata, a tuberização é um processo complexo que envolve a diferenciação dos estolões em órgãos de reserva, que são os tubérculos. Neste momento, a relação fonte-dreno da planta de batata inverte-se, sendo os tubérculos o principal dreno e não mais o desenvolvimento e crescimento foliar (Heldwein et al., 2009). O início da tuberização (IT) da batata é influenciado principalmente pela temperatura do ar e pelo fotoperíodo (Beukema & Van Der Zaag, 1990; Streck et al., 2007; Bisognin et al., 2008b), sendo a batata uma planta de dia curto para o IT (Streck et al., 2007).

Após a colheita, a temperatura de armazenamento é o principal fator responsável pelo avanço da idade fisiológica dos tubérculos (Wiersema, 1985; Caldiz, 2009). Esse avanço compreende os estádios de dormência (ausência de brotos), dominância apical (apenas um broto), plena brotação (vários brotos laterais) e senescência (ramificação intensa dos brotos) (Wiersema, 1985; Struik, 2007; Bisognin et al., 2008a). No entanto, a velocidade de avanço pelos diferentes estádios é muito dependente da cultivar (Struik, 2007) e das condições ambientais durante o período de cultivo e armazenamento (Wiersema, 1985; Struik et al., 2006; Bisognin et al., 2008a; Heldwein et al., 2009).

A indicação de novas cultivares para as condições de cultivo do Rio Grande do Sul, em que são realizados dois cultivos anuais, implica na adaptação destas a condições distintas de fotoperíodo e temperatura do ar, sendo necessário ainda apresentarem um curto período de dormência. Nesse contexto, o método da soma térmica, que se baseia na premissa de que as plantas necessitam de um somatório térmico para completarem cada fase de desenvolvimento (Paula et al., 2005), pode ser uma ferramenta para prever a brotação dos tubérculos de batata e assim facilitar o manejo pós-colheita e a seleção de clones de curta dormência. O objetivo do trabalho foi determinar a soma térmica das diferentes fases de desenvolvimento das plantas para distinguir a brotação dos tubérculos de clones de batata produzidos e armazenados em diferentes condições.



Metodologia

Os tubérculos de batata foram produzidos a campo na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil e na Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), Júlio de Castilhos, RS, Brasil, nos cultivos de primavera (2006) e de outono (2007). Durante os cultivos foram determinados a emergência (EM = 50% das plantas na parcela visíveis acima do solo), o início da tuberização (IT = duas das quatro plantas, amostradas diariamente, com pelo menos um tubérculo com 1,0cm de diâmetro) e o início da senescência (IS = 50% das plantas na parcela com todas as folhas amarelecidas) dos clones avançados SMIJ461-1, SMINIA793101-3 e SMINIA97145-2, do Programa de Genética e Melhoramento de Batata da UFSM, e da cultivar Macaca, amplamente cultivada na região central do RS.

O experimento foi conduzido em um fatorial de quatro clones, duas temperaturas de armazenamento (10 e 20°C $\pm$ 1), dois cultivos (outono e primavera) e dois locais (Santa Maria e Júlio de Castilhos) no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 tubérculos. As avaliações foram realizadas aos 0, 30, 60 e 90 dias após o período de cura dos tubérculos. Foram determinados a porcentagem e o número de brotos por tubérculo. Tubérculos brotados foram determinados pela contagem dos tubérculos com pelo menos um broto maior que 2mm de comprimento (Heldwein et al., 2009), sendo os valores expressos em porcentagem. O número de brotos por tubérculo foi determinado através de contagem. Os dados de porcentagem de tubérculos brotados e de número de brotos por tubérculo durante o armazenamento foram expressos como a área abaixo da curva de progressão, calculada conforme Bisognin et al. (2002).

A soma térmica diária (STd, °C dia) foi calculada pela equação descrita por McMaster & Wilhelm (1997):

$$STd = (Tmed - Tb). 1 \text{ dia}$$

$$\text{Se } Tmed < Tb \text{ então } Tmed = Tb$$



em que T_{med} é a temperatura média diária do ar, calculada pela média aritmética das temperaturas máxima e mínima diárias do ar, e T_b é a temperatura base para o desenvolvimento da planta de batata. Nesse estudo utilizou-se $T_b = 7^{\circ}\text{C}$ (Paula et al., 2005). A soma térmica acumulada (STa , $^{\circ}\text{C dia}$) a partir da emergência foi calculada por $STa = \sum STd$. Os dados foram submetidos à análise de variância para o teste F e as médias de clones comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro. Também foi realizada a análise de correlação linear de Pearson entre a STa das fases EM-IT, IT-IS e EM-IS e a área abaixo da curva da porcentagem de tubérculos brotados e do número de brotos por tubérculo.

Resultados e discussões

A temperatura média durante os cultivos de outono e primavera foi, respectivamente, de $18,9^{\circ}\text{C}$ e $19,6^{\circ}\text{C}$ em Júlio de Castilhos e de $19,6^{\circ}\text{C}$ e $20,0^{\circ}\text{C}$ em Santa Maria. O número médio de dias da fase EM-IT e IT-IS foi semelhante nos cultivos de primavera e outono em Santa Maria, enquanto que em Júlio de Castilhos ocorreu menor duração da fase EM-IT para o cultivo de primavera e IT-IS para o cultivo de outono. No entanto, quando observada a soma térmica média acumulada, verificou-se em ambos locais, maiores valores na fase EM-IT, para o cultivo de outono, e IT-IS, para o cultivo de primavera, o que se deve ao período da maior temperatura média ocorrer no outono da EM ao IT e, na primavera, do IT ao IS.

A duração do ciclo das plantas, em dias, no cultivo de primavera foi maior em Júlio de Castilhos (77 dias) do que em Santa Maria (66 dias), enquanto que no cultivo de outono a situação inverteu-se, 64 dias em Santa Maria e 57 dias em Júlio de Castilhos. No entanto, a soma térmica média acumulada foi maior para ambos os cultivos em Júlio de Castilhos. Essas diferenças entre locais de cultivo resultaram em diferentes valores de soma térmica acumulada, sendo que o acúmulo de graus-dia pode estar associado ao grau de maturidade dos tubérculos uma vez que tubérculos produzidos em Júlio de Castilhos apresentaram maior número



de brotos e maior porcentagem de tubérculos brotados do que aqueles produzidos em Santa Maria (Tabela 1). Além disso, tubérculos produzidos durante o cultivo de primavera apresentaram maior soma térmica média acumulada e maior número de brotos e porcentagem de tubérculos brotados do que aqueles produzidos durante o outono (Tabela 1). Beukema & Van Der Zaag (1990) atribuem às condições de temperatura e de fotoperíodo crescentes no final do ciclo, característico do cultivo de primavera, como responsáveis pela diminuição do nível de dormência dos tubérculos, o que acelera o envelhecimento fisiológico e reduz o tempo de armazenamento (Bisognin, et al., 2008a).

O efeito da temperatura do ar, tanto do local quanto da época de cultivo, no estágio fisiológico do tubérculo pode, através do manejo da temperatura de armazenamento, ser superado e proporcionar adequada brotação para o próximo plantio. Tubérculos armazenados a 20°C apresentaram em média, brotação de 25,2% e 22,8% superior àqueles armazenados a 10°C, respectivamente para os cultivos de primavera e outono (Tabela 1). Bisognin et al. (2008a) encontraram uma redução de 50% no período de armazenamento dos tubérculos até a brotação somente pelo efeito da época de cultivo e recomendaram o armazenamento dos tubérculos-semente produzidos no outono a 12°C e, na primavera, a 8 ou 4°C, devido as diferenças de idade fisiológica.

Esta pesquisa foi conduzida com quatro clones de batata que diferem no período de dormência dos tubérculos e na adaptação às condições de cultivo do Rio Grande do Sul, pois o avanço da idade fisiológica dos tubérculos é muito dependente da cultivar (Struik, 2007). Os clones Macaca e SMIJ461-1 são os mais contrastantes, sendo Macaca o mais bem adaptado as condições de cultivo e de curta dormência dos tubérculos. A partir da comparação desses dois clones observou-se que a soma térmica acumulada na fase IT-IS foi sempre maior para Macaca em ambos locais e épocas de cultivo, sendo o mesmo observado para a porcentagem de tubérculos brotados e o número de brotos por tubérculo (Tabela 1). No entanto, mesmo quando observados valores de soma térmica muito próximos, como por exemplo, a STa da fase EM-IS durante



Tabela 1 – Área abaixo da curva de progressão da porcentagem de tubérculos brotados (%TB) e do número de brotos por tubérculo (NB/T) de clones de batata produzidos na primavera e no outono, em Santa Maria e Júlio de Castilhos, RS, armazenados a 10 e 20°C.

Caracter	Clones	Local				Temperatura de Armazenamento							
		Santa Maria		Júlio de Castilhos		10°C		20°C					
%TB		Cultivo de Primavera											
	Macaca	0,4395	b ¹	B ²	0,7621	a	A	0,5354	b	B	0,6663	b	A
	SMIJ461-1	0,2683	c	B	0,5667	b	A	0,2868	c	B	0,5482	c	A
	SMINIA793101-3	0,3922	b	B	0,8090	a	A	0,5541	a b	B	0,6471	b	A
	SMINIA97145-2	0,5804	a	B	0,7942	a	A	0,5976	a	B	0,7771	a	A
	Média	0,4176			0,7330			0,4934			0,6596		
	CV(%) = 6,54												
NB/T	Macaca	0,0202	a	B	0,0421	a	A	0,0237	a	B	0,0385	a	A
	SMIJ461-1	0,0063	c	B	0,0147	d	A	0,0065	d	B	0,0144	c	A
	SMINIA793101-3	0,0130	b	B	0,0356	b	A	0,0148	c	B	0,0338	b	A
	SMINIA97145-2	0,0193	a	B	0,0308	c	A	0,0187	b	B	0,0314	b	A
	Média	0,0147			0,0308			0,0159			0,0295		
	CV(%) = 10,68												
%TB		Cultivo de Outono											
	Macaca	0,1707	a	B	0,2341	a	A	0,1365	a	B	0,2683	a	A
	SMIJ461-1	0,0755	bc	A	0,0815	c	A	0,0000	c	B	0,1571	b	A
	SMINIA793101-3	0,0896	b	A	0,0745	c	A	0,0000	c	B	0,1642	b	A
	SMINIA97145-2	0,0497	c	B	0,1598	b	A	0,0377	b	B	0,1718	b	A
	Média	0,0963			0,1374			0,0435			0,1903		
	CV(%) = 16,11												
NB/T	Macaca	0,0049	a	B	0,0097	a	A	0,0040	a	B	0,0105	a	A
	SMIJ461-1	0,0009	b	A	0,0011	c	A	0,0000	b	B	0,0020	d	A
	SMINIA793101-3	0,0015	b	A	0,0017	c	A	0,0000	b	B	0,0032	c	A
	SMINIA97145-2	0,0008	b	B	0,0041	b	A	0,0006	b	B	0,0043	b	A
	Média	0,0020			0,0041			0,0011			0,0050		
	CV(%) = 18,60												

¹ Médias de clones não seguidas pela mesma letra, minúscula nas colunas, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade de erro.

² Médias de local e temperatura não seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.



a primavera em ambos os locais de cultivo, o clone Macaca novamente apresentou a maior porcentagem de tubérculos brotados e o maior número de brotos por tubérculo. Isso confirma que o avanço na idade fisiológica dos tubérculos e, em consequência, o manejo pós-colheita são muito dependentes da cultivar. Quando observadas as diferenças entre clones para a porcentagem e o número de brotos por tubérculo, apenas para o cultivo de primavera houveram clones que não diferiram em relação à testemunha, enquanto que para o cultivo de outono a testemunha Macaca foi superior em relação aos demais clones avaliados. Ou seja, o cultivo de outono, possibilitou maior diferenciação entre os clones com relação à brotação dos tubérculos.

A análise de correlação entre a soma térmica acumulada nas diferentes fases do ciclo de desenvolvimento da batata com a porcentagem de tubérculos brotados e o número de brotos por tubérculo indicou, na média dos locais e épocas de cultivo, altos valores de correlação positiva, tanto para a fase EM-IS quanto para a fase IT-IS, e negativa para a fase EM-IT (Tabela 2). Sendo assim, a soma térmica acumulada das fases EM-IS e IT-IS pode ser utilizada como um indicativo do estágio fisiológico dos tubérculos e assim inferir sobre a brotação dos mesmos. Valores altamente significativos ($p < 0,01$) de correlação entre as fases EM-IS e IT-IS somente foram obtidos quando os tubérculos foram produzidos em Júlio de Castilhos, em condições mais favoráveis de temperatura, ou no conjunto das avaliações. Portanto, o fator local de cultivo é importante para inferir sobre a brotação dos tubérculos de batata com base na soma térmica acumulada, o que requer o conhecimento prévio do comportamento em um local específico ou a avaliação em vários locais, devido a interação com o ambiente. O conhecimento da idade fisiológica é fundamental para o manejo pós colheita dos tubérculos, principalmente quando destinados para semente. A idade fisiológica do tubérculo semente afeta importantes componentes do rendimento, como o vigor e o número de hastes, o número e o tamanho dos tubérculos, a velocidade de emergência das plantas e o início da tuberização e da senescência (Struik et al., 2006; Struik, 2007).



Tabela 2 – Coeficientes de correlação de Pearson e probabilidade ou valor-p (entre parênteses) para valores médios de soma térmica acumulada (STa) da emergência (EM) ao início da tuberização (IT), do IT ao início da senescência (IS) e da EM-IS, da área abaixo da curva de progressão da percentagem de tubérculos brotados (%TB) e do número de brotos por tubérculo (NB/T) de clones de batata.

STa	%TB	NB/T
Geral		
EM-IT	-0,6112 (0,012) ¹	-0,5857 (0,017)
IT-IS	0,8453 (0,000)	0,8132 (0,000)
EM-IS	0,8327 (0,000)	0,8044 (0,000)
Santa Maria		
EM-IT	-0,5305 (0,176)	-0,5723 (0,138)
IT-IS	0,5309 (0,176)	0,5579 (0,151)
EM-IS	0,226 (0,4837)	0,4837 (0,225)
Júlio de Castilhos		
EM-IT	-0,7751 (0,024)	-0,7331 (0,039)
IT-IS	0,9783 (0,000)	0,9144 (0,001)
EM-IS	0,9257 (0,001)	0,8625 (0,006)

¹ Probabilidade para determinar a significância da correlação.

Diferentes características têm sido propostas como indicadores da dormência e/ou idade fisiológica do tubérculo, incluindo caracteres morfológicos, fisiológicos, (bio) químicos, moleculares e biofísicos (Caldiz et al., 2001; Caldiz, 2009). Tais indicadores são necessários para quantificar e explicar as diferenças no envelhecimento de tubérculos oriundos de diferentes cultivares e condições de cultivo e armazenamento e para quantificar e modelar os efeitos da idade das sementes sobre o crescimento e a produtividade das plantas (Struik et al., 2006). Nesse sentido, a possibilidade da previsão da brotação dos tubérculos de batata a



partir da soma térmica acumulada se constitui em uma importante ferramenta para inferir sobre a idade fisiológica e definir técnicas de manejo pós colheita dos tubérculos de batata produzidos em diferentes condições de cultivo, além de possibilitar a identificação de clones de curta dormência.

Conclusão

A soma térmica acumulada entre a emergência e o início da senescência ou entre o início da tuberização e da senescência pode ser utilizada para distinguir batata semente quanto ao período necessário para a brotação dos tubérculos.

Referências

BEUKEMA, H.P. & VAN DER ZAAG, D.E. **Introduction to potato production**. Wageningen: PUDOC, 1990. 208p.

BISOGNIN, D.A. et al. Half-sib progeny evaluation and selection of potatoes resistant to the US8 genotype of *Phytophthora infestans* from crosses between resistant and susceptible parents. **Euphytica (Wageningen)**, Holanda, v.125, p.129-138, 2002.

BISOGNIN, D.A. et al. Envelhecimento fisiológico de tubérculos de batata produzidos durante o outono e a primavera e armazenados em diferentes temperaturas. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.1, p.693-699, 2008a.

BISOGNIN, D.A. et al. Desenvolvimento e rendimento de clones de batata na primavera e no outono. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.6, p.699-705, 2008b.

CALDIZ, D.O. Physiological age research during the second half of the twentieth century. **Potato Research**, v.52, p.295-304, 2009.

CALDIZ, D.O.; FERNANDEZ, L.V.; STRUIK, P.C. Physiological age index: a new, simple and reliable index to assess the physiological age of seed potato tubers based on haulm killing date and length of the incubation period. **Field Crops Research**, v.69, p.68-79, 2001.

HELDWEIN, A.B.; STRECK, N.A.; BISOGNIN, D.A. Batata. In.: MONTEIRO, J.E.B.A. (Org.) **Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília, DF: INMET, 2009. p.93-108.



McMASTER, G.S. WILHELM, W.W. Growing degree-days: one equation, two interpretations. **Agricultural and Florest Meteorology**, Amsterdan, v.87, p.291–300, 1997.

PAULA, F.L.M. et al. Soma Térmica de algumas fases do ciclo de desenvolvimento da batata (*Solanum tuberosum* L.) **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.5, p.1034-1042, 2005.

STRECK, N.A. et al. Simulating the development of field grown potato (*Solanum tuberosum* L.). **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v.142, n.1, p.1–11, 2007.

STRUIK, P.C. The Canon of potato science: 40. Physiological age of seed tubers. **Potato Research**, v.50, p.375-377, 2007.

STRUIK, P.C. et al. Response of stored potato seed tubers from contrasting cultivars to accumulated day-degrees. **Crop Science**, v.46, p.1156-1168, 2006.

WIERSEMA, S.G. **Physiological development of potato tubers**. Technical Information Bulletin, n.20. International Potato Center, Lima, Peru, 1985.



SELEÇÃO DE CLONES DE BATATA PARA PROCESSAMENTO EM DUAS CONDIÇÕES DE AMBIENTE

SOUZA, Z. S.^{1*}; BISOGNIN, D. A.²; MORIN JUNIOR, G. R.³; GNOCATO, F. S.⁴; ASCOLI, C.⁵

¹ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Estação Experimental de São Joaquim, EPAGRI, São Joaquim, SC, Brasil. * zilmar@epagri.sc.gov.br

² Engenheiro Agrônomo, PhD, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. dilsonb@smail.ufsm.br

³ Engenheiro Agrônomo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. glademirmorin@gmail.com

⁴ Engenheiro Agrônomo, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. fgnocato@gmail.com

⁵ Graduando, Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. ascoliclaudinei@gmail.com

Resumo

Este trabalho objetivou a seleção de clones de batata para processamento industrial em duas condições de ambiente no Sul do Brasil. Foram avaliados 120 clones na terceira geração clonal juntamente com seis cultivares testemunhas, em parcela única de 10 covas, nos cultivos de primavera em Júlio de Castilhos, RS e de verão em São Joaquim, SC. No cultivo de verão, as médias do número de hastes por cova, de tubérculos por cova, da produtividade por cova e da massa fresca média dos tubérculos por cova foram mais elevadas. Os valores médios da aparência dos tubérculos, da cor de chips e do teor de massa seca foram aproximados indicando menor efeito do ambiente sobre estes caracteres. O teor de massa seca ficou abaixo e o de açúcares redutores ficou acima do esperado no cultivo de verão, considerando que os fatores meteorológicos são mais favoráveis. Os resultados indicam que existe variabilidade genética entre os clones e famílias em processo de seleção para processamento industrial e, que o efeito ambiental foi determinante sobre as principais características que conferem produtividade e qualidade da batata para processamento.

Palavras-chave: Batata, Melhoria, Seleção, Clones, Ambiente.



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 qualidade da matéria prima para processamento industrial estão relacionadas aos teores de massa seca e de açúcares redutores nos tubérculos.

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 (Howard, 1978; 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 os principais fatores considerados na avaliação do potencial qualitativo da matéria prima para processamento e que estão negativamente correlacionados (Lisinska e Leszczynski, 1989).

Outros fatores, como o formato dos tubérculos, a aparência e os defeitos fisiológicos internos e externos, também afetam a qualidade dos tubérculos para processamento, também muito influenciados pelo ambiente (Kumar et al., 2004). Entretanto estes podem ser mais facilmente contornados pelo produtor com a utilização de cultivares e técnicas apropriadas de cultivo.



Na selecao de clones de batata para processamento e importante realizar a avaliacao em diferentes condicoes de ambiente, para se conhecer a expressao destas caracteristicas sob diferentes condicoes de fatores meteorologicos. Na regioao Sul do Brasil a batata pode ser cultivada na primavera e outono, em condicoes subtropicais e, durante o verao em condicoes temperadas. A possibilidade de realizar selecao simultanea de clones em ambiente subtropical e temperado no Sul do Brasil e altamente favoravel ao melhoramento genetico da batata na identificacao de clones superiores. O conhecimento do comportamento dos clones em varios locais, anos e as interacoes obtidas permitirao conhecer os ganhos geneticos de selecao para os caracteres de adaptacao, produtividade e qualidade de tuberculos (Johansen et al., 1967).

Alguns estudos ja realizados na regioao Sul do Brasil sugerem que no cultivo de primavera deve-se maximizar o ganho genetico de selecao para massa seca, acucares redutores e cor de chips, em relacao ao cultivo de outono menos favoravel a selecao, devido aos fotoperiodos e temperaturas decrescentes que caracterizam esta epoca de cultivo (Andreu, 2005; Freitas et al., 2006; Müller et al., 2009). Outros estudos tambem relatam a influencia do ambiente nos principais caracteres de qualidade para processamento nas condicoes subtropicais de cultivo no Sul do Brasil (Rodrigues e Pereira, 2003; Zorzella et al., 2003; Andreu, 2005; Freitas et al., 2006; Bisognin et al., 2008; Müller et al., 2009). A selecao com base na media dos ambientes aumenta o progresso genetico permitindo a identificacao de clones com ampla adaptacao para as diferentes condicoes de cultivo (Johansen et al. 1967). A selecao de clones superiores nas condicoes de cultivo no Sul do Brasil devera priorizar caracteres como alto teor de massa seca, de 20 a 24%, alta produtividade e o baixo teor de acucares redutores (abaixo de 0,4% da massa fresca dos tuberculos) (Pereira, 2003; Zorzella et al., 2003).

Metodologia

Os tuberculos utilizados no plantio foram obtidos no cultivo de outono de 2008 (2ª geracao clonal), no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Apas a colheita, os



tubérculos dos clones selecionados foram divididos em duas amostras de 10 tubérculos cada, e tratados com 30 ppm de uma solução de ácido giberélico para a quebra da dormência, e após mantida no escuro em condições de ambiente em Santa Maria, RS.

Uma das amostras foi plantada na Fundação de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul (Fepagro), em Júlio de Castilhos, RS, no cultivo de primavera de 2008 (03/09/2008), aos 55 dias após o tratamento para a quebra da dormência. A outra amostra foi plantada na Estação Experimental de São Joaquim da EPAGRI, em São Joaquim, SC, no cultivo de verão de 2009 (08/12/2008), aos 155 dias após o tratamento para a quebra de dormência. Foram avaliados 120 clones de terceira geração, oriundos de 36 famílias de cruzamentos, juntamente com seis cultivares testemunhas (Ágata, Asterix, Atlantic, Macaca, Panda e SMIJ461-1). A adubação de plantio foi realizada com 2.000 kg/ha de adubo NPK 5-20-10 no sulco. Na amontoa foram aplicados mais 100 kg/ha de N em cobertura. Os tratos culturais e fitossanitários foram baseados no sistema convencional de cultivo da batata e padronizados para os dois ambientes.

Após a colheita e classificação, a avaliação da aparência dos tubérculos foi realizada com base em notas de 1 (pior aparência) a 5 (melhor aparência) e 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 10 (cor escura) dos chips. A massa seca foi calculada após a secagem em estufa até massa constante e os açúcares redutores determinados pelo método do 2,4 dinitrofenol (Long e Chism, 2004), com as adaptações propostas por Freitas et al. (2006). Os dois locais de cultivo foram considerados como repetições na análise estatística com a utilização do Programa NTIA (Embrapa, 1997).

Resultados e discussões

Os intervalos de valores mínimos e máximos e o desvio padrão para cada uma das variáveis mostram que no conjunto das 36 famílias de



tubérculos estudadas existia grande variabilidade genética (Tabela 1), necessária para a seleção de clones superiores.

As médias do número de hastes por cova, de tubérculos por cova, da produtividade por cova e da massa fresca média dos tubérculos por cova foram mais elevadas no cultivo de verão em São Joaquim, comparado com os resultados médios obtidos na primavera em Júlio de Castilhos (Tabela 1). Essa superioridade nos valores médios pode ser atribuída à idade fisiológica da batata semente no momento do plantio, associado às temperaturas e fotoperíodos mais favoráveis no cultivo de verão (Beukema e van der Zaag, 1990). O tempo decorrido da colheita até o plantio em São Joaquim foi suficiente para os tubérculos atingirem o estágio fisiológico de plena brotação, mais adequados ao plantio. Plantios sucessivos de outono e primavera em condições subtropicais com dois cultivos anuais, usando o mesmo material de propagação, são caracterizados pelo menor número de brotos por tubérculo no plantio, que produzem menor número de hastes por cova, atraso na emergência e, conseqüentemente, menor produtividade total (Wurr, 1975; Allen, 1978; Moorby, 1978).

Os valores médios da aparência dos tubérculos, cor de chips e o teor de massa seca situaram-se próximos entre os ambientes, indicando um menor efeito do ambiente sobre estas características (Tabela 1). A aparência dos tubérculos é determinada por vários caracteres (Bisognin et al., 2008), como o formato, deformações, tamanho e número de tubérculos por cova, sendo que a expressão destas características muito influenciada por fatores meteorológicos (Bisognin et al., 2008). O estresse hídrico e de temperatura durante o cultivo aumentam a frequência de tubérculos impróprios para processamento, o que pode variar entre as épocas de plantio (Curwen, 1993). O teor de massa seca no cultivo de verão situou-se abaixo do valor observado no cultivo de primavera, resultado este não esperado, considerando as melhores condições meteorológicas do cultivo de verão (Midmore, 1987; Beukema e van der Zaag, 1990).



Tabela 1 - Intervalo de valores mínimo e máximo, média e desvio padrão de variáveis analisadas entre os ambientes e a correlação na terceira geração clonal de seleção.

Variáveis	Cultivo de primavera 2008 Júlio de Castilhos, RS			Cultivo de verão 2009 São Joaquim, SC			Coeficiente de correlação entre ambientes
	Intervalos de valores	Média	Desvio padrão	Intervalos de valores	Média	Desvio padrão	
Nº de hastes por cova	1,0-4,4	2,0	0,8	1,4-8,0	4,4	1,3	0,632**
Nº de tubérculos por cova	0,7-11,0	5,1	2,0	4,5-27,4	12,7	3,4	0,553**
Aparência dos tubérculos (notas 1-5)	2,0-5,0	3,9	0,5	1,0-5,0	3,5	1,2	0,071**
Produtividade tubérculos por cova (g)	53,3-591,0	245,4	104,2	494,4-2140,0	923,9	229,3	0,720**
Massa fresca média por tubérculo (g)	19,1-88,8	50,2	14,0	38,8-183,4	76,0	22,1	0,397**
Notas de cor de chips (notas 2-10)	3,0-9,0	6,5	1,1	4,0-9,0	6,5	1,1	0,220**
Teor de massa seca (%)	16,4-24,7	22,5	1,7	16,1-25,2	21,6	2,3	0,487**
Teor de açúcares redutores (mg/g MS)	2,2-63,2	14,7	10,3	6,0-53,5	24,1	10,0	0,227**

* 5% de probabilidade de erro; ** 1% de probabilidade de erro.

O teor de açúcares redutores também ficou acima do esperado no cultivo de verão, em função das condições meteorológicas mais favoráveis para a cultura da batata, pois valores baixos são indicativos de cor de chips mais clara com boa aceitação comercial (Kumar et al., 2004). Este fato associado com a colheita realizada após o completo desenvolvimento das plantas deveria resultar em menor teor de açúcares redutores, o que não foi observado. Uma das prováveis causas desse resultado é a diminuição da temperatura do ar observada no final do ciclo das plantas, no início do outono, que coincidiu com a fase de crescimento final dos tubérculos, a posterior colheita e o armazenamento em temperaturas mais



baixas, que acumulam açúcares redutores (Sowokinos, 2001; Kumar et al., 2004).

Os coeficientes de correlação entre os ambientes foram significativos para a maioria das características avaliadas, exceto para a aparência dos tubérculos (Tabela 1), embora alguns coeficientes tem médias e baixas magnitudes (Gopal, 1977). Valores significativos de coeficientes de correlação indicam que a seleção pode ser realizada em qualquer um dos ambientes (Johansen et al., 1967).

Conclusão

Existe variabilidade genética para a seleção de clones superiores de batata para processamento industrial. O efeito ambiental foi determinante sobre as principais características que conferem produtividade e qualidade da batata para processamento.

Referências

ALLEN, E. J. Plant density. In: HARRIS, P. M. (Ed). **The potato crop: the scientific basis for improvement**. London: Chapman & Hall, 1978. p. 278-326.

ANDREU, M. A. Associação entre características agrônômicas da batata nos plantios de primavera e outono no Rio Grande do Sul. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 925-929, 2005.

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.

CURWEN, D. Water management. In: ROWE, R.C. (Ed.) **Potato health management**. Sant Paul: APS Press, 1993. p. 67-75.

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.



GOPAL, J. Progeny selection for agronomic characters in early generations of a potato breeding programme. **Theoretical Applied Genetics**, v. 95, p. 307-311, 1997.

HOWARD, H. W. The production of new varieties. In: HARRIS, P. M. (Ed). **The potato crop: the scientific basis for improvement**. London: Chapman & Hall, 1978. p.607-646.

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**, Acesso em: 25 jan. 2009. Disponível em: <<http://food.oregonstate.edu/research/test/reducing.html>>.

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.

MIDMORE, D. J. **Fisiologia de la planta de papa bajo condiciones de clima calido**. Lima: CIP, 1987. 14 p. (Documento de Tecnología Especializada, 24).

MOORBY, J. The physiology of growth and tuber yield. In: HARRIS, P. M. (Ed). **The potato crop: the scientific basis for improvement**. London: Chapman & Hall, 1978. p. 153-194.

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.

PEREIRA, A. S. Melhoramento genético. In: PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. O **cultivo da batata na Região Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa, 2003. p.105-124.

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.



SOWOKINOS, J. R. Biochemical and molecular control of cold-induced sweetening in potatoes. **American Journal of Potato Research**, v. 78, p. 221-236, 2001.

WURR, D. C. E. Relationships between sprouting characters and stem development in two maincrop varieties. **Potato Research**, Wageningen, v. 18, p. 83-91. 1975.

ZORZELLA, C. A. et al. Caracterização física, química e sensorial de genótipos de batata processados na forma de chips. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 1, p. 15-24, 2003.



QUALIDADE DE TUBÉRCULO DE CLONES DE BATATA EM TRÊS AMBIENTES DE CULTIVO

GNOCATO, F. S.¹; BISOGNIN, D. A.²; SOUZA, Z. da S.³; COMIRAN, M.⁴; FISHER, H.⁴

¹ Engenheiro Agrônomo, Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil. fgnocato@gmail.com

² Engenheiro Agrônomo, Professor do Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil. dilsonb@smail.ufsm.br

³ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador da EPAGRI – São Joaquim, SC, Brasil.

⁴ Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Qualidade de processamento industrial dos tubérculos de batata depende da cultivar, mas varia com as condições de ambiente. Considerando que a batata pode ser cultivada em condições de primavera, verão e outono na região Sul do Brasil, este trabalho teve como objetivo caracterizar as variações nos teores de massa seca, amido e amilose nos tubérculos de clones avançados de batata em resposta aos ambientes de cultivo. Os experimentos foram conduzidos na Epagri de São Joaquim, SC, no cultivo de verão, e na Fepagro de Julio de Castilhos, RS, nos cultivos de primavera e outono. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com duas repetições. A interação genótipo x ambiente foi significativa para todos os parâmetros avaliados. Os melhores ambientes para a expressão da massa seca e amido foram o verão e a primavera. No outono foram observados os maiores teores de amilose, onde os 18 clones formaram três grupos. Os clones avançados diferem para os teores de massa seca, amido e amilose e a seleção pode ser realizada nos três cultivos.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L. Massa seca. Amido. Amilose.

Introdução

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é um tubérculo amiláceo de alto valor nutricional, utilizado pelo homem como matéria prima na produção de amido purificado, por apresentar particularidades diferenciadas dos demais



amidos comerciais. A composição do amido é controlada geneticamente, estando envolvidas diversas enzimas na síntese das frações amilose e amilopectina (Geigenberger, 2003; Tetlow et al., 2004). A constituição dos carboidratos não estruturais e o teor de massa seca são os principais parâmetros de qualidade de tubérculo (Noda et al, 2004; Vendruscolo e Zorzella, 2002; Grizzoto, 2005).

O ambiente de cultivo influencia a expressão dos teores de massa seca, de amido e a sua composição (Lu et al., 2011), sendo que o melhoramento genético deve abranger a amplitude dessas variações (Bisognin, 2006; Andreu, 2005). A batata é cultivada na região sul do Brasil em três épocas distintas ao longo do ano: primavera e outono, em regiões de altitude inferior a 600m, e verão em regiões de altitude superior (Heldwein et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os teores de massa seca, amido e amilose em tubérculos de clones avançados de batata nas três condições de cultivo do Sul do Brasil.

Metodologia

O material vegetal foi obtido do Programa de Genética e Melhoramento de Batata da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) além das cultivares Asterix e Atlantic utilizadas como testemunhas (Tabela 1).

Em Julio de Castilhos foram conduzidos os experimentos de primavera e de outono com plantio em 30 de agosto e colheita em 20 de dezembro; plantio 28 de fevereiro e colheita em 13 de junho. O experimento de verão foi conduzido em São Joaquim com plantio em 8 de novembro de 2007 e colheita dia 5 de março de 2008. O manejo e os tratos culturais seguiram as recomendações do sistema de produção tecnificado (Bisognin, 1996; Epagri, 2002). Para cada plantio, os tubérculos semente foram tratados para a quebra da dormência (Benedetti et al., 2005) e armazenados em local climatizado com a temperatura favorável ao



desenvolvimento dos brotos até o plantio. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com 2 repetições de dez covas por parcela, no espaçamento de 0,75 m entre fileiras e 0,30 m na fileira.

Tabela 1 - Genealogia dos clones avançados avaliados nos experimentos.

Clone	Genealogia	Clone	Genealogia
SJ 01263-1	Atlantic x (3CRI1149xGranola)	SJ 03475-31	Agria x FL 1625
SJ 01263-6	Atlantic x (3CRI1149xGranola)	SJ 03425-26	(Atlantic x <u>Tollocan</u>) x SJ 96575
SJ 01212-1	Atlantic x Granola	SJ 02382-28	FL 1625 x Atlantic
SJ 01275-3	Bintjefru x FL 1625	SJ 02377-33	Catucha x FL 1625
SJ 99159-8	Atlantic x Baraka	SJ 02317-3	(Atlantic x <u>Tollocan</u>) x SJ 96575
SJ 00211-3	Aracy Ruiva x FL 1625	SJ 02339-1	Atlantic x FL 1625
SJ 04514-2	Panda x Baraka	SJ 02349-1	Bintjefru x Catucha
SJ 04503-6	Panda x Atlantic	Asterix	*
SJ 04503-9	Panda x Atlantic	Atlantic	*

* Cultivares utilizadas como testemunhas

Após a colheita os tubérculos foram armazenados por 15 dias em câmara climatizada a 20^oC e umidade relativa acima de 80% para a suberização da casca e estabilização da sua composição bioquímica. A determinação do teor de massa seca foi realizada a partir de uma amostra de tubérculos representativa da parcela da qual foram retiradas sub-amostras da parte transversal e central dos tubérculos, picadas e colocadas a secar em estufa a 60 °C, até massa constante. Da amostra desidratada foram realizadas as determinações posteriores. O teor de amido foi determinado a partir da digestão ácida seguida de quantificação colorimétrica dos açúcares redutores com reagente 2-4 dinitrofenol (Freitas et al., 2006). O conteúdo de amilose foi determinado colorimetricamente pela quantificação em espectrofotômetro da absorbância do complexo



iodo-amido (Gilbert; Spragg, 1964). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os dados foram submetidos à análise da variância individual e conjunta. As médias foram submetidas ao teste de Skott Knott considerando 5% de probabilidade de erro. As análises foram realizadas com o auxilio do Software Genes versão 7.0.

Resultados e discussões

A análise de variância individual foi significativa ($p < 0,05$) para todas as variáveis em todos os ambientes, mostrando existir variabilidade genética no grupo de clones avaliados. A interação genótipo X ambiente foi significativa para todas as variáveis ($p < 0,01$). Os clones avaliados diferem quanto aos teores de massa seca em todos os ambientes, amido na primavera e no verão e amilose na primavera e no outono (Tabela 2, 3 4).

A maior média da massa seca foi obtida no verão (23,54%) e para esse parâmetro foram selecionados os clones SJ 99159-8, SJ 00211-3, SJ 04503-6, SJ 02382-28 e Atlantic, cuja diferença foi não significativa ($p < 0,05$) e superior aos demais em todos os ambientes. Os teores de massa seca dos clones selecionados foram superiores no verão classificando-os como responsivos ao ambiente, uma vez que o verão apresenta as melhores condições para o crescimento e desenvolvimento da batata (Souza, 2010).

A maior média do teor de amido foi obtida também no verão (83,48%) e foi possível selecionar oito clones superiores em todos os ambientes: SJ 01263-6, SJ 01275-3, SJ 99159-8, SJ 04514-2, SJ 02377-33, SJ 02349-1, Asterix e Atlantic. Não houve diferença entre os clones no cultivo de outono, tornando este ambiente inadequado para seleção desse caracter. No cultivo de outono foram observadas as menores diferenças entre clones, o que pode ser explicado pelas menores médias dos clones em relação aos cultivos de primavera e verão. Esse resultado está de



Tabela 2 - Teor de massa seca de 16 clones avançados de batata e duas testemunhas em três ambientes de cultivo.

Clone	Massa seca						
	Primavera		Verão		Outono		Média
SJ 01263-1	20.25	b*	23.15	b	19.80	b	21.07
SJ 01263-6	19.40	b	22.45	c	19.75	b	20.53
SJ 01212-1	19.25	b	22.95	b	20.60	b	20.93
SJ 01275-3	21.70	a	23.45	b	22.10	a	22.42
SJ 99159-8	21.45	a	24.05	a	21.35	a	22.28
SJ 00211-3	22.45	a	24.40	a	22.25	a	23.03
SJ 04514-2	20.50	b	24.25	a	23.15	a	22.63
SJ 04503-6	22.50	a	24.80	a	21.40	a	22.90
SJ 04503-9	18.70	b	22.90	b	21.70	a	21.10
SJ 03475-31	17.10	b	21.50	c	19.85	b	19.48
SJ 03425-26	19.55	b	24.05	a	22.85	a	22.15
SJ 02382-28	22.05	a	24.00	a	21.85	a	22.63
SJ 02377-33	22.90	a	25.55	a	22.60	a	23.68
SJ 02317-3	19.40	b	23.75	a	23.20	a	22.12
SJ 02339-1	18.20	b	22.20	c	21.35	a	20.58
SJ 02349-1	19.85	b	23.20	b	20.20	b	21.08
Asterix	19.80	b	22.85	b	20.25	b	20.97
Atlantic	21.05	a	24.15	a	22.50	a	22.57
Média	20.34		23.54		21.49		21.33

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



Tabela 3 - Teor de amido de 16 clones avançados de batata e duas testemunhas em três ambientes de cultivo.

Clone	Amido						
	Primavera		Verão	Outono		Média	
SJ 01263-1	70.58	c	80.41	b	75.13	a	75.37
SJ 01263-6	84.92	a	90.05	a	86.35	a	87.10
SJ 01212-1	84.92	a	75.56	c	71.63	a	77.37
SJ 01275-3	86.32	a	87.94	a	86.04	a	86.77
SJ 99159-8	85.00	a	84.97	a	80.06	a	83.34
SJ 00211-3	83.40	a	82.36	b	76.65	a	80.80
SJ 04514-2	87.05	a	85.20	a	77.53	a	83.26
SJ 04503-6	81.07	a	78.85	b	74.95	a	78.29
SJ 04503-9	78.52	b	86.79	a	83.95	a	83.09
SJ 03475-31	81.38	a	81.06	b	82.75	a	81.73
SJ 03425-26	84.76	a	74.47	c	79.96	a	79.73
SJ 02382-28	89.17	a	82.29	b	80.04	a	83.83
SJ 02377-33	84.60	a	88.81	a	79.59	a	84.33
SJ 02317-3	80.51	a	80.75	b	81.05	a	80.77
SJ 02339-1	74.21	c	85.03	a	73.02	a	77.42
SJ 02349-1	82.96	a	84.00	a	78.75	a	81.90
Asterix	85.01	a	87.93	a	82.69	a	85.21
Atlantic	89.05	a	86.21	a	86.54	a	87.26
Média	82.97		83.48		79.81		80.53

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



Tabela 4 - Teor de amilose de 16 clones avançados de batata e duas testemunhas em três ambientes de cultivo.

Clone	Amilose						Média
	Primavera		Verão	Outono			
SJ 01263-1	13.06	a	10.07	a	11.59	c	11.57
SJ 01263-6	9.13	c	10.01	a	11.16	c	10.10
SJ 01212-1	11.17	b	13.74	a	14.78	b	13.23
SJ 01275-3	9.38	c	11.39	a	10.42	c	10.39
SJ 99159-8	9.80	c	9.89	a	10.80	c	10.16
SJ 00211-3	11.20	b	12.55	a	10.76	c	11.50
SJ 04514-2	10.81	b	9.81	a	12.28	c	10.96
SJ 04503-6	10.00	c	10.21	a	12.95	c	11.05
SJ 04503-9	11.64	b	10.17	a	11.60	c	11.13
SJ 03475-31	10.41	c	9.91	a	12.78	c	11.03
SJ 03425-26	10.39	c	11.21	a	12.26	c	11.29
SJ 02382-28	9.76	c	7.94	a	10.54	c	9.41
SJ 02377-33	11.61	b	10.41	a	12.06	c	11.36
SJ 02317-3	11.45	b	9.58	a	13.55	b	11.52
SJ 02339-1	12.41	a	9.56	a	16.39	a	12.78
SJ 02349-1	9.75	c	7.29	a	10.83	c	9.29
Asterix	10.76	b	9.99	a	11.66	c	10.80
Atlantic	9.00	c	8.63	a	10.93	c	9.52
Média	10.65		10.13		12.07		10.50

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

acordo com Freitas et al. (2006) que encontrou os menores teores de amido na massa seca no outono. O outono apresenta condições menos favoráveis ao desenvolvimento, principalmente na fase de tuberização,



onde radiação e temperatura tornam-se limitantes (Heldwein et al., 2009). Pelos resultados obtidos, pode-se atribuir aos clones selecionados um ciclo de desenvolvimento médio a tardio, com alto potencial de acúmulo de massa seca e amido em condições de primavera e verão (ambientes favoráveis), e poucas diferenças genéticas nas condições de outono.

O conteúdo de amilose foi maior na média do outono (12,07%), contrastando com os resultados obtidos por Müller et al. (2009), que encontrou média de 27,05% no outono e essa foi inferior a encontrada na primavera (31,63%). Essas diferenças entre os resultados podem ser atribuídas aos clones utilizados e à variabilidade anual das condições de cultivo. O cultivo de verão não proporcionou diferenças entre os clones, não sendo um bom indicativo para selecionar clones para composição do amido. O componente da interação genótipo x ambientes foi alta e complexa, onde clones respondem diferentemente entre os ambientes. No outono o clone SJ 02339-1 apresentou a melhor média (16,39%) diferindo dos demais. Os clones SJ 01212-1 e SJ 00211-3 apresentaram os maiores teores entre os clones no verão e na primavera os clones selecionados foram SJ 01263-1 SJ 02339-1. Interações complexas para teor de amilose também foram observadas em feijão (Ovando-Martínez et al., 2011). A baixa quantidade de informações impossibilitam a seleção para amilose, apesar de existir variabilidade para o carácter.

Conclusão

Os três ambientes de cultivo são informativos e complementares para a diferenciação dos clones de batata quanto à qualidade de tubérculo. A expressão dos caracteres massa seca e amido é maximizada nos cultivo de verão e primavera, enquanto que a diferenciação entre clones com base na amilose foi possível apenas na primavera e no outono.

Referências

ANDREU, M. A. Associação entre características agronômicas da batata nos plantios de primavera e outono no Rio Grande do Sul. **Ciência agrotecnológica**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 925-929, set./out. 2005.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



BENEDETTI, M. et al. Quebra de dormência de minitubérculos de batata. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 31-38, 2005.

BISOGNIN, D. A. Pesquisas científica e tecnológica desenvolvidas em batata na UFSM. In: IX REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA E EXTENSÃO DA CULTURA DA BATATA DA REGIÃO SUL, 2006, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2006. p. 109-130.

BISOGNIN, D. A. **Recomendações técnicas para o cultivo da batata no Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Santa Maria: Centro de Ciência Rurais. 1996. 63 p.

EPAGRI. **Sistemas de produção para batata-consumo e batata-semente em Santa Catarina**. 3. ed. rev. atual. Florianópolis: EPAGRI, 2002. 123 p. (Epagri, Sistema de Produção, 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, jan/fev 2006.

GEIGENBERGER, P. Regulation of sucrose to starch conversion in growing potato tubers. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 382, p. 457-465. Jan 2003.

GILBERT, G.A.; SPRAGG, S.P. Iodometric determination of amylose. In: WHISTLER, R.L. (Ed.). **Methods in carbohydrate chemistry starch**, v. 4, p.168-169, New York: Academic, 1964,

GRIZOTTO, R. K. Processamento e rendimento industrial da batata chips e palha. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PROCESSAMENTO DE BATATAS. **Anais...**, Pouso Alegre/MG, 2005.

HELDWEIN, A. B.; STRECK, N. A.; BISOGNIN, D. A. Batata. In: MONTEIRO, J.E.B.A. (Org.) **Agrometeorologia dos cultivos – O fator meteorológico na produtividade dos principais cultivos anuais e perenes no Brasil**. 1. ed. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2009. p. 91-109.

LU, Z.-H. et al. Correlation of physicochemical and nutritional properties of dry matter and starch in potatoes grown in different locations. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1246-1253, jun 2011.

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, ago 2009.

NODA, T. et al. The effect of harvest dates on the starch properties of various cultivars. **Food Chemistry**, v.86, n.1, p.119-125, 2004.



OVANDO-MARTÍNEZ M.; et al. Starch characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in different localities. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 54–64, fev 2011.

SOUZA, Z. da S. **Melhoramento da batata para processamento industrial em condição subtropical e temperada do sul do Brasil**. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

TETLOW, I. J; et al. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 406, p. 2131–2145, oct 2004

VENDRUSCOLO, J. L. S; ZORZELLA C. A. **Processamento de batata (*Solanum tuberosum* L.): Fritura**. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, 2002. 15 p. (Documentos, 104).



SITUAÇÃO ATUAL NO CONTROLE DA HERBÍVORIA E PERSPECTIVAS NO MELHORAMENTO DA ERVA-MATE (*Ilex paraguarienses* – St.Hill.)

DALAZEN, D.F.¹; STEFENON, V.M.²; ÁVILA, R.²; POLETTTO, I³.

¹ Graduando, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil. * danifzen@hotmail.com

² Professor, Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil.

³ Professor, Curso de Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal do Pampa, RS, Brasil.

Resumo

A espécie *Ilex paraguarienses* (St- Hil) possui sua maior produção no Sul do Brasil. No entanto, é reconhecido no meio técnico-científico que a espécie tem um baixo nível de melhoramento genético. O controle de pragas na erva-mate, a exemplo de outras culturas no Brasil, vem sendo realizado sem qualquer conhecimento, e a perda por herbívoros nos ervais se torna preocupante. O objetivo deste trabalho foi analisar efeitos da herbívoros em áreas de monocultura e áreas de agroflorestas, tornando possível a implantação de ervais com uma seleção culminante do controle fisiológico e genético das sementes para produção de mudas. Foram coletadas amostras foliares de indivíduos nos dois sistemas de cultivos e contabilizadas o numero total de folhas coletadas e, dentre essas o numero de folhas íntegras e folhas com sinais de perdas decorrentes da herbívoros. Como resultado, apenas 19% das folhas apresentou-se sem nenhuma interrupção na sua área foliar por motivo da herbívoros, e 81% das folhas coletadas deparou-se com alguma perda na área foliar. Uma das primeiras atitudes a serem tomadas para o melhoramento da espécie, é sem dúvida introduzir um sistema de seleção de sementes com altas qualidades genéticas e fisiológicas, para a implantação de futuros ervais.

Palavras-chave: Controle. Cultivo. Herbívoros. Produção. Qualidade.



Introdução

A espécie *Ilex paraguarienses* (St- Hil) conhecida como erva-mate, é uma espécie perene, de porte arbóreo, de grande longevidade (Carvalho, 2003) e apresenta uma ampla distribuição nos países do Mercosul, com sua maior produção no Sul do Brasil. O Estado mais produtor de erva-mate é o Rio Grande do Sul que possui 38741 hectares plantados (IBGE, 2009; Tabela 1.), gerando renda á pequenos e médios produtores e movimentando principalmente o setor ervateiro do Estado.

Tabela 1 - Média da produção de erva-mate nos Estados com maior produção. IBGE, Produção Agrícola Municipal 2008, RJ: IBGE 2009.

Estado	Folha verde (t)	Área plantada (ha)	Área colhida (ha)	Rendimento médio (kg/ha)
SC	41.890	11.858	9.243	4.532
PR	132.556	35.973	31.695	4.182
RS	256.352	38.741	29.993	8.547
MS	3.929	424	286	13.737
TOTAL	434.727	86.996	71.217	7.749,5

A erva-mate forma um dos sistemas agroflorestais mais característicos da região Sul do Brasil. A atividade agrícola predominantemente de agricultura familiar e o hábito alimentar do chimarrão desempenham um importante papel econômico, social e cultural na região sul do País (Montoya et.al., 1999).

Atualmente, através de pesquisas avançadas muito se descobre sobre os componentes químicos encontrados na espécie e os benefícios que possui a erva-mate, explorando seu potencial não somente nos setores ervateiros. O hábito do chimarrão há muito tempo passou as fronteiras do Rio Grande do Sul e, atualmente, vem sendo exportada para aproximadamente 32 países, principalmente do Mercosul. Porém, a erva-



mate esta mudando de uma finalidade de manutenção da tradição, para a finalidade de bem-estar. O mundo caminha para uma tendência de valorização dos produtos orgânicos, no qual a erva-mate se enquadra. No entanto, é reconhecido no meio técnico-científico que a espécie tem um baixo nível de melhoramento genético.

Em meio à alta tendência tecnológica de equipamentos sofisticados para os produtores rurais de outras culturas, o cultivo da erva-mate que dispensa o uso de implementos agrícolas, é sem dúvida promissora na geração de empregos e renda para pequenos e médios agricultores. O incentivo ao aumento de plantios de ervais é propício para maximizar a rentabilidade em termos de produção e, ao mesmo tempo, preservar e/ou recuperar os recursos naturais.

Durante muitos anos, a exploração da erva-mate se restringia à ervais nativos, mas, recentemente passou a ser cultivada também em monocultura, sistema que favorece o desenvolvimento de pragas (Penteado, 1995). O controle de pragas na erva-mate, a exemplo de outras culturas no Brasil, vem sendo realizado sem qualquer conhecimento.

Lede e Machado (1989) citaram a ocorrência de 86 espécies de insetos alimentando-se de diferentes partes da erva-mate, contudo, poucos herbívoros podem ser considerados verdadeiras pragas, causando danos econômicos significativos. Segundo Borges et. al. (2003), as espécies comumente citadas como pragas de *I. paraguariensis* são: *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera, Cerambycidae), popularmente conhecido como broca-da-erva-mate ou corintiano; *Gyropsylla spegazziniana* (Lizer y Trelles, 1919) (Hemiptera, Psyllidae), ampola-da-erva-mate; *Thelosia camina* (Schaus, 1920) (Lepidoptera, Eupterotidae), a lagarta-da-ervamate; *Hylesia* spp. (Lepidoptera, Saturniidae) que compreende diversas espécies conhecidas como lagartas-do-cartucho, sendo registradas as espécies *Hylesia sorana* (Schaus, 1927) e *Hylesia fulviventrís* (Berg, 1883) *Ceroplastes grandis* (Hempel, 1900) (Hemiptera, Coccidae) conhecida como cochonilha-de-cera (Pedrosa e Macedo, 1993; Penteado, 1995; Ledé et al. 2000).



Perante este contexto torna-se visível e essencial a implantação de pesquisas e variedades melhoradas geneticamente em plantios comerciais, atendendo a demanda do mercado e principalmente as exigências dos consumidores. Todavia, o objetivo deste trabalho foi analisar efeitos da herbívoros em áreas de monocultura e áreas de agroflorestas, tornando possível a implantação de ervais com um culminante controle fisiológico e genético das sementes.

Metodologia

O procedimento se deu em três ervais de monocultura à pleno sol, e três ervais em sistemas de agroflorestas com um sombreamento parcial dos ervais, onde não há espaçamento regular entre as plantas, e a idade dos indivíduos é desconhecida. As coletas foram realizadas nos municípios de Arvorezinha – RS e Ilópolis – RS.

Foram amostrados em cada erval 10 indivíduos, onde aleatoriamente um ramo inferior e um ramo central de cada indivíduo foram desfolhados e depositados em sacos plásticos de 13 cm x 23 cm identificados. Após a coleta do material vegetal foram contadas o número total de folhas coletadas de cada indivíduo e, em meio a essas, o número de folhas com sinais de herbívoros. Posteriormente foi calculada a porcentagem de folhas danificadas e folhas íntegras de cada área amostrada e comparados os resultados em ervais de monocultura e ervais com sistema agroflorestal.

Resultados e discussões

Diante as análises de contagem foliares, foram verificadas que o número de folhas totais coletadas somaram um total de 2596 folhas, onde 502 folhas consideravam-se íntegras e, 2094 folhas apresentaram sinais de perda na área foliar por herbívoros, ou seja, conforme o Figura 1. apenas 19% das folhas apresentaram-se sem nenhuma interrupção na sua área foliar por motivo da herbívoros, e 81% das folhas coletadas



depararam-se com alguma perda na área foliar, na sua maioria perdas significativas.

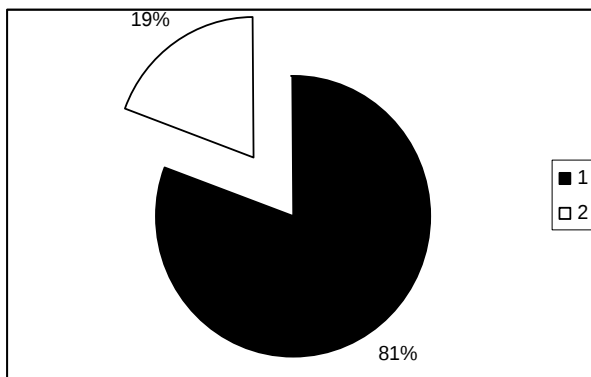


Figura 1 – Porcentagem de folhas de *Ilex paraguarienses* coletadas com sinais de danos por herbívoros (1), e folhas íntegras, sem perda de área foliar (2).

Perante esses números, estima-se que a quantidade de massa foliar perdida por herbívoros na produção ervateira atinja um número muito significativo, sendo analisado na próxima etapa do trabalho.

As folhas de erva-mate, por serem consumidas in natura, dificultam o controle de pragas, principalmente por produtos químicos, por gerar resíduos nas folhas, fazendo com que esse controle seja manual.

Talvez, um dos principais problemas seja a falta de controle nos plantios de mudas de erva-mate, pois essas conforme relato de produtores é feita sem nenhum controle de originalidade de sementes, estimando que as qualidades genéticas e fisiológicas das sementes sejam muito baixas. Sendo isso, para futuros plantios de ervais deveriam começar a ser tomadas algumas medidas simples de controle de produção de mudas, onde se encaixa principalmente a seleção de origem das sementes. Através de conhecimentos sobre a espécie, indivíduos e a área a ser



introduzida o erval, poderão ser selecionados sementes para mudas de indivíduos que apresentem uma tolerância maior ao ataque das pragas.

Conclusão

Através de incentivo á pesquisas e a divulgação dos resultados para a população produtora de erva-mate, poderão ser tomadas aos poucos as devidas atitudes para o melhoramento na qualidade e o aumento de produtividade dos ervais. Sem duvida uma das primeiras atitudes a serem tomadas para o melhoramento da espécie, seja introduzir um sistema de cultivo dos ervais, onde sejam selecionadas sementes para mudas de ervais comerciais com uma qualidade genética e fisiológica alta, oferecendo uma alta qualidade e rentabilidade para a economia ervateira. Só assim, atendendo as exigências dos consumidores por qualidade, a produção poderá ter aumentos significativos na produção ervateira e os recursos naturais da erva-mate poderão ser mantidos sem grandes preocupações.

Referências

CARVALHO, P. R. **Espécies arbóreas Brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo-PR: Embrapa Florestas, V.1, 2003, 1039 p.

IEDE, E. T. & D. C. MACHADO. 1989. **Pragas da Erva Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e seu controle**. Colombo, EMBRAPA/CNPQ, Boletim de Pesquisa Florestal 18/19: 51-60.

MONTOYA, L. et. al. **O saber local e o SAF- erva-mate com a progênie bi-parental Cambona 4 como estratégia do desenvolvimento sustentável na agricultura familiar**. 2009.

PENTEADO, S.R.C. **Principais pragas da erva-mate e medidas alternativas para o seu controle**. In: WINGE, H. et al. Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul. Porto Alegre: UFRGS, 1995. p.109-120.



VARIABILIDADE INTRACLONAL NA CULTIVAR ATLANTIC DE BATATA

DEPRÁ, M.S.^{1*}; SOMAVILLA, I.²; REINIGER, L.R.S.³; SANTIAGO, G.⁴;
NOAL, G.⁵

¹ Engenheiro Agrônomo, Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * msdepra@yahoo.com.br.

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

³ Engenheiro Agrônomo, Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Biólogo, Doutora em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

Resumo

A cultura de ápices caulinares é uma técnica da cultura de tecidos que possibilita a limpeza clonal, e após os explantes são subcultivados por micropagação, para posterior obtenção de mudas pré-básicas livres de vírus. Essas técnicas são consideradas mantenedoras da fidelidade genética das cultivares, mas há muito se sabe que é possível ocorrer variação somaclonal. Os objetivos deste estudo foi avaliar o comportamento *in vitro* de diferentes rametes da cultivar Atlantic no cultivo inicial e ao longo de oito subcultivos. Inicialmente foram utilizados 40 explantes, sendo 20 ápices caulinares e 20 gemas axilares, provenientes da brotação de tubérculos indexados para viroses. Os explantes foram cultivados inicialmente por 90 dias e a cada 30 dias foram realizados oito subcultivos. Durante a realização dos subcultivos foram observadas características morfológicas dos rametes, a saber: o número total de brotos e o número total de gemas formados. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), arranjo bifatorial composto por diferentes rametes e os cultivo/subcultivos. As variáveis avaliadas apresentaram efeito significativo dos fatores principais ramete e cultivo/subcultivo. Os rametes de Atlantic



apresentam comportamento *in vitro* diferenciado. Ocorre, também, diferença significativa entre os subcultivos da Atlanticic.

Palavras chave: Cultura de tecidos. *Solanum tuberosum*. Variação somaclonal.

Introdução

A batata (*Solanum tuberosum* L.) era consumida pelos povos da região andina, onde teve origem, há aproximadamente sete mil anos, quando teve inicio sua domesticação (FAO, 2008). A batata se tornou um alimento popular após ser levada da Europa para a América do Norte, em 1620 Lopes e Buso (1999).

No Brasil, a produção começou de forma mais intensa na década de 1920 no cinturão verde de São Paulo e se concentra nas regiões sul e sudeste Lopes e Buso (1999). A área plantada no país em 2009 foi estimada em 141 mil hectares e a produção chegou a 3,4 milhões de toneladas (Ibge, 2010).

Em 2007, a Ásia e a Europa concentravam 80% da produção mundial de batata, com maior consumo *per capita* entre os europeus e o menor na África e América Latina, onde tem aumentado. A produção mundial de batata é, atualmente, de 325,3 milhões de toneladas em uma área superior a 19,3 milhões de hectares, com uma produtividade média de 16,8 toneladas/hectare (Fao, 2008).

A produção de batata enfrenta muitos problemas com relação à sanidade. Os vírus são muito importantes nessa cultura, pois quando ocorrem em lavouras produtoras de batata-semente comprometem o seu posterior cultivo. Isso acarretará em aumento dos custos de produção e redução na qualidade dos tubérculos destinados à comercialização.

A eliminação das partículas virais das cultivares é, normalmente, efetuada por uma técnica da cultura de tecidos denominada cultura de ápices caulinares. Após a regeneração dos ápices caulinares, a qual ocorre em um período variável para cada clone, em geral de 90 a 120 dias, são efetuados vários subcultivos, em geral a cada 30 dias, com o objetivo



de multiplicar os explantes que, posteriormente, resultarão em mudas pré-básicas.

A adoção da cultura de tecidos pela indústria de batatas foi uma inovação importante para a renovação do material propagativo, diminuindo a contaminação dos tubérculos-semente com patógenos e, principalmente, vírus. Com menor ocorrência de doenças nas lavouras é possível obter maior rendimento na produtividade de tubérculos (Fao, 2008).

Essas técnicas da cultura de tecidos preservam, na maioria dos casos, a identidade do genótipo regenerado, mantendo a estabilidade genética. No entanto, sabe-se que a cultura de tecidos pode induzir variabilidade genética no material multiplicado *in vitro*. As variações induzidas por cultura de tecidos em plantas regenerantes são chamadas de variação somaclonal. Os objetivos deste estudo foi avaliar o comportamento *in vitro* de diferentes rametes da cultivar Atlantic no cultivo inicial e ao longo de oito subcultivos.

Metodologia

Vinte ápices caulinares e igual número de gemas axilares foram isolados de brotações de tubérculos da cultivar Atlantic cujas plantas matrizes foram indexadas para as principais viroses. O material foi proveniente da EMBRAPA – Canoinhas, SC. Os tubérculos foram plantados, em 04 de setembro de 2008, em vasos nº 15 (1,3 L de capacidade e 15 cm de altura), com substrato Plantmax[®]. Aproximadamente 30 dias após o plantio dos tubérculos, as hastes foram coletadas, desfolhadas e conduzidas ao Laboratório, onde foram separadas em gemas individuais e submetidas à assepsia por imersão em etanol a 70% (v/v) durante 10 segundos, seguido por imersão em hipoclorito de sódio a 2% (v/v) durante 15 minutos, na qual adicionaram-se duas gotas de detergente comercial para cada 100 ml de solução. Após, em câmara de fluxo laminar foram realizados três enxágües consecutivos em água destilada e autoclavada. Em seguida, com o auxílio de microscópio estereoscópico, foram extraídos 20 ápices caulinares e 20 gemas axilares de, aproximadamente, 0,3 cm, os quais foram colocados,



individualmente, em frascos com 10 ml de capacidade, contendo 2 ml de meio base MS (Murashigue; Skoog, 1962) sem reguladores de crescimento e com 3,0% de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 0,6% de ágar, em pH 5,7.

O período inicial de cultivo foi de 90 dias, sendo que, a cada 30 dias, os explantes foram transferidos (subcultivados) para meio fresco, de igual composição, porém suplementado com os fitorreguladores 6-Benzilaminopurina – BAP (1 mg L⁻¹); Ácido α -Naftaleno Acético - ANA (0,01 mg L⁻¹); e Ácido Giberélico - GA₃ (0,1 mg L⁻¹). A partir do cultivo inicial, foram efetuados oito subcultivos, separando-se, em cada um, em frascos diferentes, os ápices caulinares e os explantes derivados de organogênese indireta (calo) que originaram novos rametes.

Ao final do primeiro cultivo e em cada subcultivo subsequente foram avaliados o número total de brotos formados e o número de total de gemas axilares formadas. Decorridos 90 dias do cultivo inicial, a maioria dos ápices caulinares e das gemas axilares foram perdidas em decorrência de contaminações microbianas, oxidação fenólica e/ou albinismo. Contudo, ao longo dos subcultivos foram formados novos explantes por organogênese indireta. Esses novos explantes derivados de calo receberam a mesma numeração do ramete de onde se originaram seguida pela letra D (por exemplo: 15D).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), arranjo bifatorial A x D, em que os níveis do fator “A” referem-se aos diferentes rametes e os níveis do fator “D”, ao cultivo e aos oito subcultivos efetuados. Os níveis do fator “A” foram variáveis ao longo dos subcultivos, sendo quatro no primeiro cultivo; 18 no primeiro subcultivo; 17 no segundo; 10 no terceiro; oito no quarto; sete no quinto e sexto subcultivos e seis rametes no sétimo e oitavo subcultivos. O número de repetições foi igualmente variável: o primeiro cultivo iniciou-se com duas repetições de cada ramete constituídas pelo ápice caulinar e por uma gema axilar de uma planta proveniente da brotação de um tubérculo da cultivar Atlantic (Tabela 1).



Tabela 1 - Número de repetições para cada ramete em cada cultivo/subcultivos.

Ramete	Cultivo	Subcultivo							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1D	-	5	2	3*	-	-	-	-	-
2D	-	6	3	-	-	-	-	-	-
3D	-	5	3	3	12	21	20	20	20
4D	-	4	3	-	-	-	-	-	-
5D	-	7	21	27	21	24	21	20	24
6A	2	5	-	-	-	-	-	-	-
6D	-	-	5	-	-	-	-	-	-
7D	-	6	15	14	8	7	2	-	-
8D	-	4	2	-	-	-	-	-	-
9A	2	3	-	-	-	-	-	-	-
9D	-	-	1	-	-	-	-	-	-
10D	-	4	2	2	-	-	-	-	-
11A	2	4	-	-	-	-	-	-	-
12D	-	4	-	-	-	-	-	-	-
13D	-	5	14	24	20	22	20	21	24
14A	2	3	3	6	25	24	22	24	22
14D	-	2	11	13	22	22	20	22	20
15D	-	6	8	8	-	-	-	-	-
16A	2	1	1	-	-	-	-	-	-
16D	-	2	5	6	12	20	20	24	20
17D	-	5	3	-	-	-	-	-	-

* Rametes que não apresentam repetição no subcultivo seguinte forem perdidos.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro com o auxílio do Software SISVAR (Ferreira 2000).



Resultados e discussões

Decorridos os 90 dias do cultivo inicial, apenas cinco rametes (6A, 9A, 11A, 14A e 16A) sobreviveram. Destes, apenas 14A permaneceu até o final da avaliação; os demais sobreviveram apenas até o primeiro (6A, 9A e 11A) ou segundo (16A) subcultivo. Contudo, a maioria deles formou novos rametes por organogênese indireta, mas a maioria desses propágulos não resistiu até o final do experimento. Essas perdas foram ocasionadas por contaminações microbianas, albinismo ou oxidações fenólicas.

A formação total de brotos (Tabela 2) diferiu significativamente entre os rametes. Aqueles rametes que tiveram um número maior de subcultivos ou que sobreviveram até o final (oito subcultivos) apresentaram as maiores médias de brotação, conforme era de se esperar. Apenas dois rametes (15D e 16A) tiveram médias superiores a um e ambos chegaram ao último subcultivo.

Em relação aos cultivos e subcultivos (Tabela 3), o primeiro cultivo e o primeiro e segundo subcultivos não diferiram significativamente entre si, apresentando as menores médias. Estes diferiram apenas dos demais subcultivos, que apresentaram maior formação total de brotos, de acordo com as expectativas.

Os resultados observados demonstram que os rametes não perderam a capacidade de formar brotos ao longo dos oito subcultivos. A suplementação com BAP não diminuiu a formação de brotos.

No que diz respeito ao número total de gemas formadas (Tabela 2), também foi possível observar as menores médias naqueles rametes que tiveram poucos subcultivos e as mais altas, nos rametes que persistiram por mais tempo na cultura de tecidos. A menor média foi de 0,17 no ramete 1D e a maior média, de 5,81 em 5D.



Tabela 2 – Efeito dos diferentes rametes sobre diferentes características na cultivar Atlantic de batata. UFSM, Santa Maria, 2010.

Ramete	Número total de brotos formados	Número total de gemas
1D*	0,08b	0,17b
2D	0,09b	0,18b
3D	0,83a	3,40a
4D	0,22b	0,33b
5D	1,02a	5,81a
6A	0,14b	0,29b
6D	0,14b	0,29b
7D	0,84a	4,41a
8D	0,12b	0,25b
9A	0,20b	0,40b
9D	0,25b	0,50b
10D	0,10b	0,20b
11A	0,17b	0,33b
12D	0,17b	0,33b
13D	0,77a	3,40a
14A	1,06a	5,53a
14D	0,88a	4,07a
15D	0,46a	2,00b
16A	0,96a	4,00a
16D	0,97a	4,29a
17D	0,10b	0,20b
Média	0,96	4,00
CV(%)	52,11	56,55

* Ramete originado por organogênese indireta.

** Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.



As médias de gemas formadas no primeiro cultivo e primeiro subcultivo foram 1,50 e 1,79 (Tabela 3), respectivamente, e não diferiram entre si, mas diferiram dos demais subcultivos. O segundo subcultivo apresentou média de 3,09 e diferiu significativamente dos demais. O quarto e o sexto subcultivos não diferiram significativamente entre si, mas diferiram dos demais subcultivos. Os subcultivos com maiores médias foram o terceiro, o quinto, o sétimo e oitavo subcultivos, que não diferiram significativamente entre si. Esses resultados divergem das expectativas, pois nos últimos subcultivos deveria ter sido formado o maior número de gemas. Inobstante, pode-se observar que os dois últimos subcultivos pertencem ao grupo dos que se destacaram na formação de gemas.

Tabela 3 – Efeito dos diferentes subcultivos sobre diferentes características na cultivar Atlantic de batata. UFSM, Santa Maria, 2010.

Cultivo/ subcultivo	Número total de brotos formados	Número total de gemas
1º cultivo	0,50b*	1,50d
1º subcultivo	0,31b	1,79d
2º subcultivo	0,57b	3,09c
3º subcultivo	0,78a	4,49a
4º subcultivo	0,88a	3,94b
5º subcultivo	0,95a	4,84a
6º subcultivo	0,97a	3,59b
7º subcultivo	0,99a	5,31a
8º subcultivo	1,00a	4,60a
Média	0,96	4,00
CV(%)	52,11	56,55

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Diferenças significativas entre os diferentes rametes de um mesmo ortete (clone), no caso a cultivar Atlantic, não eram esperadas, a expectativa era de que haveria diferenças apenas entre os diferentes cultivo/subcultivos à medida que as culturas progrediam no seu



desenvolvimento *in vitro*. Duas hipóteses podem explicar esse comportamento *in vitro* observado. Primeiro, as características morfológicas avaliadas na cultura de tecidos não são alvo de análise pelos programas de melhoramento. Sendo assim, a variabilidade fenotípica observada no presente trabalho não foi observada pelo obtentor da cultivar que, em função disso, a considerou homogênea. Outra possibilidade, que não descarta a anterior, é a de ocorrência de variação somaclonal nos diferentes rametes, o que explicaria as diferenças de comportamento *in vitro* relatadas no presente trabalho.

Conclusão

Através desse estudo foi possível verificar que os diferentes rametes da cultivar Atlantic de batata comportam-se de maneira diferenciada na cultura de tecidos. Há diferenças significativas entre os subcultivos da cultivar Atlantic de batata, para as variáveis observadas.

Referências

FAO. AÑO INTERNACIONAL DE LA PAPA 2008. **Nueva luz sobre un tesoro enterrado**. Disponível em: <<http://www.potato2008.org/pdf/IYPbook-es.pdf>>. Acesso em 10 de agosto de 2010.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/defaulttab.shtm>>. Acesso em 10 de agosto 2010.

LOPES, C. A.; BUSO, J. A. (Org.) **A cultura da batata**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; EMBRAPA-CNPB, 1999. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/item/11964>>. Acesso em 10 de agosto de 2010.

MURASHIGE, T.; NAKANO, R. Morphogenetic behavior of tobacco tissue cultures and implications of plant senescence. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 52, n.8, p. 819-827, 1965.



SELEÇÃO DE MATERIAIS GENÉTICOS DE *Eucalyptus* sp. COM CRESCIMENTO SUPERIOR NA REGIÃO SUDOESTE DO PARANÁ

RIBEIRO, R.R.^{1*}; SPELTZ, F.R.²; MEZZALIRA, C.C.²; FRIGOTTO, T.²; OKADA, E.M.²; BICHEL, A.²; WENDT, S.N.³; GORENSTEIN, M.R.⁴; BRUN, E.J.⁴

¹ Graduando, Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Dois vizinhos, PR, Brasil. Bolsista de Extensão da UTFPR. *E-mail: raquel_cvv@hotmail.com

² Graduandos, Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Dois Vizinhos, PR, Brasil.

³ Engenheira Agrônoma, Doutora, Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Dois Vizinhos, PR, Brasil.

⁴ Engenheiros Florestais, Doutores, Curso de Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Dois vizinhos, PR, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi selecionar materiais genéticos de *Eucalyptus* sp. (incluindo espécies, clones e híbridos) adaptados à região Sudoeste do Paraná, visando atender a crescente demanda de madeira do mercado e diminuir a pressão sobre as florestas naturais remanescentes. Com essa finalidade, foi implantado o Projeto TUME (Teste de Uso Múltiplo de *Eucalyptus*) na Unidade de Ensino e Pesquisa em Silvicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos. Foram analisados 16 materiais genéticos, plantados em parcelas demonstrativas contendo 160 plantas cada, em espaçamento de 3 x 2 m. A primeira avaliação, realizada aos 30 dias de idade, analisou-se a porcentagem de sobrevivência. A segunda avaliação, realizada aos 15 meses, descrita nesse trabalho, considerou a altura da planta, o diâmetro do colo e duas medidas de diâmetro da copa. Os materiais genéticos que apresentaram os melhores resultados para todos os parâmetros analisados neste estudo foram o Clone C-219 e *E. urophylla* clone floração. Entretanto, recomenda-se continuar a condução do experimento a fim de avaliar as características silviculturais em idades mais avançadas, permitindo um embasamento técnico-



científico nas recomendações dos materiais adaptados à região Sudoeste do Paraná.

Palavras-chave: Eucalipto. Adaptação. Reflorestamento. Silvicultura. TUME.

Introdução

A cultura do eucalipto apresenta grande importância econômica, ambiental e social para o Brasil. Atualmente, são plantados cerca de quatro milhões e duzentos mil hectares para suprir a demanda de madeira para celulose e carvão, principalmente, mas também para serraria painéis, postes, mourões, entre outras (ABRAF, 2009). Além de constituir importante fonte de renda ao país, contribui para a conservação ambiental e de espécies nativas, pois minimiza exploração predatória. O setor florestal participa com de 3,5% no PIB brasileiro, equivalente a US\$ 37,3 bilhões. São gerados 4,33 milhões de empregos ligados às florestas plantadas e 2,58 milhões de empregos ligados a florestas nativas (SBS, 2007).

Na região Sudoeste do Paraná, o crescente desenvolvimento agroindustrial traz consigo uma crescente demanda por energia. Segundo dados fornecidos pela EMATER, com base em observações empíricas de campo, estima-se que cerca de 70% da madeira consumida ainda seja proveniente de florestas nativas, a maioria de cortes ilegais. Dessa forma, pesquisas devem ser realizadas para buscar novas fontes de madeira para energia, minimizando a pressão de uso sobre as florestas nativas.

As espécies do gênero *Eucalyptus* sp. tem sido plantadas em reflorestamentos para produção de madeira com diversos fins, em função do seu rápido crescimento, adaptabilidade e qualidade da madeira (Andrade, 1991). Esse gênero apresenta grande plasticidade, crescendo, satisfatoriamente, em uma grande diversidade de condições edafoclimáticas. No entanto, apresentam diferenças quanto às respostas aos estímulos ambientais de cada nicho ecológico (Quiqui et al., 2001).

Com ênfase em analisar a adaptabilidade de diferentes materiais (espécies, híbridos e clones) do gênero *Eucalyptus* sp. na região Sudoeste



do Paraná, foi instalado o Projeto TUME (Teste de Uso Múltiplo de *Eucalyptus*), em área demonstrativa na Unidade de Ensino e Pesquisa em Silvicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho e a potencialidade de diferentes materiais genéticos de *Eucalyptus* sp., plantados na região Sudoeste do Paraná.

Metodologia

O experimento foi instalado na Unidade de Ensino e Pesquisa em Silvicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Paraná, em dezembro de 2009.

O clima característico da região é o Cfa, subtropical com chuvas bem distribuídas durante o ano e verões quentes. A região registra temperatura média anual de 19°C e precipitação pluviométrica média de 2.025 mm (IAPAR, 2008). O solo, classificado como Nitossolo Vermelho (Bianchini et al., 2009), apresenta topografia ondulada e era utilizado anteriormente no plantio de culturas anuais.

Os 16 materiais genéticos de *Eucalyptus* (entre espécies, clones ou híbridos), avaliados neste trabalho, são provenientes de mudas clonais adquiridas da Estação Experimental de Ciências Florestais de Itatinga, São Paulo, pertencente à Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, sendo compostas por: *Eucalyptus urophylla*, *E. camaldulensis*, *E. pellita*, clone GFMO27, clone I224, *E. urophylla* clone floração, clone C219, *E. exserta*, *E. propinqua*, híbrido *E. saligna* x *botryoides*, híbrido *E. pellita* x *tereticornis*, híbrido *E. grandis* x *camadulensis*, clone H13, *E. citriodora*, *E. robusta* e *E. grandis* x *urophylla*.

O preparo do solo da área experimental foi realizado através da aplicação de herbicida em área total e preparo na linha de plantio com uso de subsolador de cinco hastes a uma profundidade de aproximadamente 30 cm. O plantio foi realizado manualmente, cada material genético em uma parcela de dez linhas, com 16 plantas, em espaçamento de 3 metros



entre linhas e 2 metros entre plantas, com 160 plantas por material genético, totalizando 2.560 plantas. O estudo foi instalado com delineamento inteiramente casualizado, constituindo-se cada espécie um tratamento e cada planta uma amostra.

Após dois meses, foi realizado o coroamento manual no entorno das mudas, visando controlar a competição de ervas daninhas. Nas linhas de plantio, a roçada foi realizada com o uso de roçadeira tratorizada, por duas ocasiões, durante o ano. Depois de seis meses foi realizada a primeira adubação, com 300 gramas de adubo NPK em fórmula equivalente a 09-26-12 formulada a partir de mistura de adubos disponíveis. Na aplicação manual desse adubo foi realizado novamente o coroamento das mudas, incorporando o adubo e controlando ervas daninhas.

A primeira avaliação realizada foi quanto à porcentagem de sobrevivência das mudas a campo, a qual ocorreu um mês após o plantio (Ribeiro et al., 2010). Nesta segunda avaliação, foram considerados os seguintes parâmetros: altura (m), diâmetro de colo (cm) e duas medidas de diâmetro de copa (m), sendo realizada aos 15 meses de idade.

Após a avaliação, os dados foram digitados em planilha eletrônica e submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias com o software Assistat v. 7.6 Beta.

Resultados e discussões

Para essa segunda avaliação foi excluído o híbrido *E. grandis* x *camaldulensis*, por não ter sobrevivido em quantidade suficiente para avaliação. Segundo Ribeiro et al. (2010) cinco materiais genéticos apresentaram índices de sobrevivência inferiores a 50%, entre eles o híbrido citado. Os altos valores de mortalidade de mudas foram decorrentes, principalmente, do estresse das mudas com transporte do viveiro até o local de plantio, além disso, do déficit na irrigação nos primeiros dias de plantio, ataque de formigas e mato-competição. Entretanto, cabe destacar, que foi possível observar quais os materiais possuem maior capacidade de suportar estresses desse tipo, uma vez que



todas as mudas passaram pelo mesmo processo de transporte, plantio, irrigação e cuidados diversos.

Na Tabela 1 são apresentados os diferentes materiais genéticos e os resultados de altura da planta (m), diâmetro do colo (cm) e diâmetros de copa (m), obtidos na segunda avaliação do experimento. O Clone C-219 apresentou os melhores resultados em todos os parâmetros analisados: altura, diâmetro do colo e nas duas medidas de diâmetros de copa, com valores 5,03 m, 6,43 cm, 3,43 m e 3,23 m, respectivamente. Cabe destacar, que esse clone teve a menor porcentagem de sobrevivência (16%) na avaliação realizada um mês após o plantio das mudas (Ribeiro et al., 2010). Entretanto, podemos constatar que as mudas que sobreviveram apresentaram elevada capacidade de recuperação e desenvolvimento, podendo ser um material promissor para a região se tomados os devidos cuidados visando minimizar os estresses causados na implantação do experimento.

A espécie *E. urophylla* clone floração também apresentou bom desempenho em todos os parâmetros observados: altura (3,83 m), diâmetro do colo (5,64 cm) e diâmetros de copa (Dc 1 e Dc 2, com 3,43 e 3,23 m, respectivamente), não diferindo estatisticamente do Clone C-219, em relação a altura e diâmetro do colo. Na primeira avaliação realizada, a taxa de sobrevivência desse material apresentou um índice de 59% (Ribeiro et al., 2010). Podemos destacar também o desempenho da espécie *E. camaldulensis* e do híbrido *E. grandis* x *urophylla*, pois além de apresentarem bons resultados nos parâmetros analisados neste estudo, também obtiveram maiores porcentagens de sobrevivência, sendo 67,9 e 66,3%, respectivamente (Ribeiro et al., 2010).

Diversos autores relatam que a espécie *E. camaldulensis* apresenta altas taxas de sobrevivência, mostrando-se tolerante às diferentes condições ambientais (Quiqui et al., 2001; Andrade, 1991; Higa et al., 1997). De acordo com Ferreira et al. (1987) e Doran (1980) essa espécie é mais resistente à seca, situação que ocorreu no início da instalação do experimento. Com relação à variável altura da planta, um estudo de espécies realizado na zona da mata pernambucana, constatou



que o *E. camaldulensis* apresentou um dos melhores desempenhos na região, quando comparados com outros materiais testados, após 12 meses do plantio.

Tabela 1 – Altura da planta (Ht), diâmetro do colo (Dc) e diâmetros de copa (Dc 1 e Dc 2) de diferentes materiais genéticos de *Eucalyptus*, aos 15 meses de idade, plantados na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, 2011.

Material genético	Ht (m)	Dc (cm)	Dc 1 (m)	Dc 2 (m)
<i>E. urophylla</i>	2,22 b*	3,67 b	1,75	1,73
<i>E. exserta</i>	1,75 c	1,86 c	1,04	0,99
Clone H-13	1,60 c	2,89 bc	1,35	1,35
<i>E. camaldulensis</i>	2,75 b	3,83 b	1,81	1,78
<i>E. propinqua</i>	1,70 c	3,56 b	1,50	1,48
<i>E. citriodora</i>	1,12 d	1,90 c	0,86	0,84
<i>E. pellita</i>	1,59 c	2,90 bc	1,24	1,25
<i>E. saligna</i> x <i>botryoides</i>	2,00 bc	3,47 b	1,70	1,69
<i>E. robusta</i>	1,91 bc	3,63 b	1,77	1,78
Clone GFMO- 27	2,18 b	2,82 bc	1,91	1,91
<i>E. pellita</i> x <i>terecticornis</i>	2,21 b	3,86 b	1,78	1,83
<i>E. grandis</i> x <i>urophylla</i>	2,55 b	4,76 ab	2,15	2,15
Clone I-224	2,44 b	4,18 ab	1,86	1,87
<i>E. urophylla</i> clone floração	3,83 a	5,64 a	2,72	2,78
Clone C-219	5,03 a	6,43 a	3,43	3,23

* médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A espécie *E. citriodora* apresentou os piores resultados para a maioria dos parâmetros analisados (altura e diâmetros de copa). Essa espécie é susceptível à geada, fato que pode ter contribuído para o seu menor desenvolvimento na região sudoeste do Paraná (Quiqui et al., 2001).



Esses resultados permitiram identificar alguns materiais genéticos melhores adaptados e promissores para a região Sudoeste do Paraná. Entretanto, novas avaliações deverão ser realizadas visando averiguar possíveis mudanças no comportamento desses materiais ao longo do seu desenvolvimento.

Conclusão

Os materiais genéticos que obtiveram os melhores desempenhos foram o Clone C-219 e *E. urophylla* clone floração, apresentando boas perspectivas para o plantio na região. Recomenda-se continuar a condução do experimento a fim de avaliar as características silviculturais em idades mais avançadas, para dar suporte à tomada de decisão quanto a escolha de espécies para cultivo na região Sudoeste do Paraná.

Referências

ABRAF. **Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas**. Anuário Estatístico da ABRAF 2009, ano base 2008. Brasília, 2009. 120 p.

ANDRADE, H. B. **Avaliação de espécies e procedências de *Eucalyptus L'Hérutier* (Myrtaceae) nas Regiões Norte e Noroeste do Estado de Minas Gerais**. 1991. Dissertação (Mestrado)–Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.

BIANCHINI, C.; LIMA, L. P. de.; CONCEIÇÃO, P. C.; PAULUS, D. Produção de abobrinha de tronco com uso de plantas de cobertura. In: III SEMINÁRIO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA–AGRONOMIA, 2009, Dois Vizinhos, **Anais eletrônicos...** Dois Vizinhos. Disponível em: <http://web.dv.utfpr.edu.br/seer/index.php/SSPA/article/view/143/26>. Acesso em 03 de maio de 2011.

DORAN, J. C. Recent seed collections of *Eucalyptus* in Australia and Indonesia and availability of seed for provenance research. In: SIMPÓSIO DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE ESSÊNCIAS FLORESTAIS DE RÁPIDO CRESCIMENTO, 31, 1980, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro, p. 443-449, 1980.

FERREIRA, J. E. M.; KROGH, H. J. O.; MENCK, A. L. M; ODA, S. Teste de procedência de eucaliptos para a região subúmida do estado do Maranhão. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 15, p. 41-48, 1987.



IAPAR. **Instituto Agronômico do Paraná**. Sistema de Monitoramento Agroclimático do Paraná, 2008. Disponível em: <http://www.iapar.br>. Acesso em: 03 de maio de 2011.

HIGA, R. C. V.; HIGA, A. R.; TREVISAN, R.; SOUZA, M. V. Comportamento de vinte espécies de *Eucalyptus* em área de ocorrência de geadas na região Sul do Brasil. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTUS, v. 1. Colombo : EMBRAPA, 1997. p. 106-110.

QUIQUI, E. M. D.; MARTINS, S. S.; SHIMIZU, J. Y. Avaliação de espécies e procedências de *Eucalyptus* para o Noroeste do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 1173-1177, 2001.

RIBEIRO, R. R.; BRUN, E. J.; GORENSTEIN, M. R.; BOLZAN, R. C.; SOUZA, D. R. Sobrevivência de

diferentes espécies de *Eucalyptus* sp. aos 6 meses de idade, na região Sudoeste do Paraná. In: II SEMINÁRIO DE ATUALIZAÇÃO FLORESTAL E XI SEMANA DE ESTUDOS FLORESTAIS, v. 1, 2010, Irati: Departamento de Engenharia Florestal - Unicentro, **Anais...** Irati, p. 29, 2010.

SBS. **Sociedade Brasileira de Silvicultura**. Fatos e Números do Brasil Florestal. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2007. 109 p.



PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

EFEITO DO TIPO DE ESTACA E DOSE DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE *Ligustrum sinense* (Lour.)

BACKES, F.A.A.L.^{1*}; SANTOS, D.N.²; NEUHAUS, M.³; BACKES, R.L.⁴;
GIRARDI, L.B.³; BELLÉ, R.A.¹; BRANDÃO, B.S.²

¹ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor do Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. * fernanda@backes.com.br.

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

³ Engenheiro Agrônomo, Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador do Cepaf – Epagri, Chapecó, SC, Brasil.

Resumo

A propagação de plantas ornamentais através da estaquia tem sido um dos métodos mais utilizados para a obtenção de mudas para uso em paisagismo devido principalmente a rapidez e simplicidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de doses de AIB no enraizamento de diferentes tipos de estacas de *Ligustrum sinense*. Foram utilizadas estacas caulinares classificadas quanto ao diâmetro em apicais, medianas e basais. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x3), três tipos de estaca (apical, mediana e basal) e três doses de AIB (0, 1000 e 2000 mg.L⁻¹), com 10 repetições e 10 estacas por unidade experimental. Observou-se que não houve interação entre tipos de estacas e doses de AIB para os parâmetros avaliados, com exceção para o número de raízes por estaca. Conclui-se que o enraizamento das estacas de ligustrinho não foi influenciado pela presença de ácido indol butírico, devendo-se dar preferência as estacas do tipo basais e medianas na propagação de ligustrinho.



Palavras-chave: Arbusto ornamental. Propagação vegetativa. Ácido indolbutírico.

Introdução

O ligustrinho (*Ligustrum sinense* Lour.), pertencente à família Oleaceae, é um arbusto ou arvoreta muito ramificado, originário da China e Coréia, com folhas simples cartáceas e folhagem ornamental (Lorenzi e Souza, 2008). No paisagismo, o arbusto tem sido utilizado para a formação de cercas vivas quando periodicamente podado, assim como em topiaria ou até mesmo como planta isolada e com crescimento livre (Lorenzi e Souza, 2008). O melhor crescimento da planta é observado quando em ambiente a pleno sol ou meia sombra e em solos bem drenados. Além disso, a espécie apresenta características de resistência a salinidade e tolerância a geadas (Rockledge Gardens, 2011).

Segundo Rocha et al. (2004), a estaquia é o método de propagação vegetativa mais utilizado na produção de mudas arbustivas, por apresentar maior simplicidade, rapidez e baixo custo. Para Villa et al. (2003), os fatores internos, como o balanço hormonal e o potencial genético influenciam na formação do sistema radicular, sendo que o equilíbrio entre os diversos hormônios tem forte influência na emissão de raízes em estacas. Já Nascimento (2004) destaca que os fatores externos, água, temperatura e substrato são os que merecem atenção especial, pois atuam diretamente no enraizamento.

De acordo com Wendling et al. (2005), as estacas podem ser classificadas em foliar, radicular e caulinar, sendo a do tipo caulinar mais utilizada na propagação de plantas por estaquia. Salientam ainda que, dependendo da região da planta onde são retiradas, as estacas caulinares podem ser herbáceas, lenhosas ou semilenhosas. Cuidado especial deve ser dado no preparo das estacas caulinares, salientando-se que em épocas de intenso crescimento das brotações, o ponteiro dos ramos (estacas apicais) em geral é fino e tenro e deve ser eliminado, pois poderão ocorrer perdas de estacas por mortalidade no momento do enraizamento, resultante do seu escurecimento. Da mesma forma, a



porção basal deve ser retirada da formação das estacas quando se apresentar muito lignificada (Wendling et al., 2005).

O uso de hormônios para o enraizamento é um método eficiente, principalmente para espécies de difícil obtenção de raízes, pois aumenta a porcentagem de estacas enraizadas, a velocidade de formação, o número e a qualidade das raízes formadas além de se obter um enraizamento mais homogêneo. Dentre os hormônios mais usados para a obtenção de raízes está o ácido indolbutírico (Wendling et al., 2005; Farré, 2011). Fachinello et al. (1995) relatam que o ácido indolacético (AIA) é a principal auxina natural dos vegetais, sintetizado nas gemas apicais e nas folhas novas, sendo translocado para a base da planta por um mecanismo de transporte polar. Outras auxinas sintéticas como o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA), podem ser utilizados como promotores de enraizamento, mostrando-se até mesmo, mais eficientes do que a auxina natural (Souza, 2008). De Bona et al. (2002), avaliando a influência do número de folhas sobre o enraizamento de *Ligustrum sinense*, recomendam para a propagação por estaquia semilenhosa a utilização de estacas sem folhas coletadas no final do inverno. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência de doses de AIB no enraizamento de diferentes tipos de estacas de *Ligustrum sinense*.

Metodologia

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação no período de 06 de setembro a 22 de dezembro de 2010, no Setor de Floricultura, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foram utilizadas estacas caulinares de *Ligustrum sinense*, retiradas de matrizes adultas sadias, do Setor de Floricultura, sendo classificadas quanto ao diâmetro em: apicais ($\leq 3\text{mm}$), medianas (3,1 a $\leq 6\text{mm}$) e basais (6,1 a $\leq 9\text{mm}$).

As estacas foram coletadas no dia 6 de setembro de 2010, e preparadas com um corte transversal abaixo da gema, na parte superior, e em forma de bisel na base e padronizadas com tamanho entre 8 a 10cm.



Em todas as estacas foram mantidas as folhas. Imediatamente após o corte, as estacas foram tratadas com solução de ácido indolbutírico (AIB), via pó, nas concentrações de 0, 1000 e 2000 mg.L⁻¹. O tratamento testemunha constituiu-se de imersão da base das estacas em água destilada. As estacas, após os tratamentos, foram colocadas em estufim, dentro da casa-de-vegetação, em mesa de enraizamento contendo casca de arroz carbonizada, mantendo-se nebulização intermitente. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x3), três tipos de estaca (apical, mediana e basal) e três doses de AIB (0, 1000 e 2000 mg.L⁻¹), com 10 repetições e 10 estacas por unidade experimental. A avaliação do experimento ocorreu no dia 22 de dezembro de 2010, sendo avaliadas as seguintes características fitotécnicas: estacas enraizadas (%), número de raízes, comprimento de raízes (cm) e estacas mortas (%). Os resultados foram analisados por meio de análise de variância. As médias foram comparadas, utilizando-se o teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Sisvar (Ferreira, 2000).

Resultados e discussões

Os valores médios de porcentagem de estacas enraizadas, porcentagem de estacas brotadas, número de brotos por estaca e porcentagem de estacas mortas são apresentados na Tabela 1. Observa-se que as estacas do tipo basal e mediana não diferiram significativamente entre si e apresentaram valores superiores para porcentagem de estacas enraizadas e porcentagem de estacas brotadas em relação a estaca apical. De Bona et al. (2002) avaliando estacas semilenhosas de *Ligustrum sinense* coletadas no final do inverno, verificaram uma alta porcentagem de enraizamento e brotação, acima de 85% e 90%, respectivamente. Lone et al. (2010) avaliando o enraizamento de estacas de azaléia coletadas no outono observaram, em média, uma porcentagem de 96% de estacas enraizadas.

Quanto ao número de brotos observa-se que a estaca basal apresentou valor superior em relação aos demais tipos de estacas, não



sendo observada diferença significativa entre as estacas basais e medianas (Tabela 1). De Bona et al. (2002) avaliando o enraizamento de estacas semilenhosas de *Ligustrum sinense* obtiveram valores inferiores aos registrados neste experimento para o tratamento de estacas basais.

A porcentagem de estacas mortas foi significativamente superior nas estacas retiradas da região apical (48,89%), conforme se observa na Tabela 1. Este resultado é reflexo da menor porcentagem de estacas enraizadas (32,22%) e da menor porcentagem de estacas brotadas (47,78%), em relação aos demais tratamentos.

Tabela 1 – Valores médios de porcentagem de estacas enraizadas (PEE), porcentagem de estacas brotadas (PEB), número de brotos (NB) e porcentagem de estacas mortas (PEM) avaliados em ligustrinho em função do tipo de estaca. Santa Maria, RS, 2010.

Tipos de estaca	PEE (%)	PEB (%)	NB	PEM (%)
Apical	32,22 b*	47,78 b	4,66 b	48,89 a
Basal	74,00 a	84,00 a	8,54 a	14,00 b
Mediana	65,00 a	83,33 a	6,11 b	10,83 b
C.V. (%)	15,03	11,14	26,28	38,14

* Médias da mesma coluna seguidas de uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A variável número de raízes foi a única em que se detectou interação entre tipos de estacas e doses de hormônio (Tabela 2). Na ausência de AIB não houve diferença de número de raízes entre os diferentes tipos de estacas. Quando se aplicou AIB as estacas basais responderam positivamente com maior número de raízes formadas (Tabela 2). As estacas basais produziram maior número de raízes com a dose 1000 mg L⁻¹. Nas estacas medianas e apicais não foi verificado efeito quanto a presença ou ausência do hormônio de enraizamento em relação ao número de raízes por estaca (Tabela 2).



Tabela 2 – Valores médios de número de raízes para as combinações de tipos de estacas de ligustrinho e doses de AIB. Santa Maria, 2010

Tipos de Estacas	Doses de AIB (mg.L ⁻¹)		
	0	1000	2000
Basal	8,63 B a*	18,99 A a	11,36 B a
Mediana	7,94 A a	6,86 A b	7,35 A b
Apical	5,00 A a	9,06 A b	5,62 A b
C.V. (%)	34,94		

* Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Conclusão

Nas condições em que foi conduzido o experimento o enraizamento das estacas de ligustrinho não foi influenciado pela presença de ácido indol butírico para todos os parâmetros avaliados com exceção do número de raízes por estaca. Deve-se dar preferência as estacas do tipo basais e medianas na propagação de ligustrinho.

Referências

DE BONA, C. M. et al. Propagação de *Ligustrum sinense* por estaquia semilenhosa. **Scientia Agraria**, v.3, n.1-2, p. 25-28, 2002.

FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2 ed. Pelotas: Universitária, 1995. 178p.

FARRÉ, F.X.M. **Multiplicación por ornamentales por esqueje de tallos**. Disponível em: <<http://www.hortion.com/pdimagenes/62/897/62897pdf>>. Acesso em: 01 de março de 2011.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de



Biometria, 45, 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

LONE, A.B. et al. Enraizamento de estacas de azaléia (*Rhododendron simsii* Planch.) no outono em AIB e diferentes substratos. **Ciência Rural**, v.40, n.8, p.1720-1725, 2010.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 4 ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 1088 p.

NASCIMENTO, T. M. **Estaquia foliar como método de propagação de sanseviérias (*Sansevieria trifasciata* e *Sansevieria* sp.)**, 2004. 91f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) Instituto Agronômico Campinas, Campinas, 2004.

ROCHA, S. C. et al. Propagação vegetativa de espirradeira pela técnica da estaquia. **Scientia Agraria**, v.5, n.1-2, p. 73-77, 2004.

ROCKLEDGE GARDENS. **Ligustrum**. Info. *Ligustrum* spp. 2007 Disponível em: <<http://www.rockledgegardens.com/pdf/ligustrum.pdf>>. Acesso em: 22 de março de 2011.

SOUZA, C. S. S. **Estudo de ambientes de enraizamento, tempo de imersão em AIB, estratificação a frio e enxertia de mesa na figueira**. 2008. 101f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2008.

VILLA, F. et al. Propagação de amoreira-preta utilizando estacas lenhosas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.4, p.829-834, 2003.

WENDLING, I.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W. **Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais**. v.3. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. 223p.



PROPAGAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) POR ESTAQUIA, COM E SEM TRATAMENTO DE FITORREGULADOR

ZERBIELLI, L.^{1*}; NIENOW, A.A.²; BONAFÉ, M.³

¹ Engenheiro Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro), Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brasil. * 94394@upf.br.

² Engenheiro Agrônomo, Doutor, professor do Curso de Agronomia e do PPGAgro/FAMV/UPF, Passo Fundo, RS, Brasil. alexandre@upf.br

³ Acadêmico do Curso de Agronomia da FAMV/UPF, Passo Fundo, RS, Brasil. Bolsista Pibic Fapergs.

Resumo

A propagação vegetativa por estaquia apresenta-se como alternativa para corrigir problemas oriundos da produção de mudas de erva-mate por sementes. O objetivo deste trabalho foi verificar a variabilidade no potencial de enraizamento de genótipos de erva-mate e o efeito do ácido indolbutírico (AIB). Em um erval em Ilópolis, RS, foram selecionados quatro genótipos por suas boas características e comparado o efeito do uso de 8.000 mg L⁻¹ de AIB (15 seg) com estacas não tratadas. O delineamento foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 4 x 2 (4 Genótipos x 2 doses de AIB), com 3 repetições e 12 estacas por parcela. A estaquia foi realizada em novembro, em estufa como nebulização intermitente, em bandejas alveoladas (72 células) contendo casca de arroz carbonizada + vermiculita média (1:1, v:v). Após 70 dias foi verificado que o genótipo 1, independente do uso do AIB, apresentou a maior porcentagem de estacas vivas (86,1%), de retenção de folhas (59%) e de brotação (68%). Quando aplicado AIB, proporcionou a maior taxa de enraizamento (77,8%). Concluiu-se, assim, que o potencial de enraizamento varia entre genótipos de erva-mate. O genótipo 1 destacou-se por apresentar elevado potencial de enraizamento, quando tratado com 8.000 mg L⁻¹ de AIB.

Palavras-chave: Propagação vegetativa. Produção de mudas. Estacas. Enraizamento.



Introdução

Nativa do bioma Mata Atlântica e típica das Florestas Ombrófilas Mistas, especialmente nas matas de pinheiros, a erva-mate foi gradativamente reduzindo sua população original a partir do século passado, com a exploração extrativista da araucária, com a qual convivia; pela expansão da agricultura e da pecuária; pela inadequada forma de manejo, especialmente a colheita com material inadequado (facão); e pela própria idade avançada das plantas (senescência).

Na década de 1980, se dá o aumento do consumo da erva-mate, e a necessidade da implantação de novos ervais para atender a demanda de matéria-prima. Atualmente, o seu cultivo é uma atividade agrícola importante, por fatores econômicos, sociais e ambientais, especialmente em regiões de pequenas e médias propriedades. O aumento do consumo da erva-mate nas últimas décadas tem exigido a implantação de novos ervais. Comercialmente, a produção de mudas ocorre a partir de sementes. Este fato, por si só, justificaria a desuniformidade dos ervais implantados, por não garantir a manutenção das características da planta matriz. Porém, outro aspecto agrava o problema, que é o fato das plantas serem dióicas (plantas femininas e masculinas), exigindo a fecundação cruzada e gerando maior variabilidade genética.

Conforme Sturion (1988), dentre as dificuldades verificadas na propagação por sementes estão a baixa porcentagem de germinação, a baixa qualidade genética e fisiológica das sementes, o tempo prolongado para obtenção da muda e a desuniformidade das mudas produzidas. Da Croce e Floss (1999) ratificam e acrescentam, relatando que os plantios são realizados, muitas vezes, a partir de mudas oriundas de sementes de baixa qualidade, colhidas em ervais nativos e sem critério de seleção das plantas matrizes, o que tem resultado em ervais de baixo rendimento.

O emprego de técnicas de multiplicação vegetativa apresenta-se como alternativa para a propagação de plantas selecionadas (Zaniolo e Zanette, 2001). Dentre as técnicas podemos apontar a enxertia, a



micropropagação e a estaquia. As duas primeiras, sob o ponto de vista comercial, teriam como restrição o possível elevado custo da muda. A estaquia tem sido razoavelmente estudada, porém com obtenção de baixas e variáveis taxas de enraizamento. Viabilizando o processo de estaquia, seria possível obter, em menor espaço de tempo, plantas mais vigorosas e idênticas à planta matriz.

O objetivo deste trabalho foi verificar a variabilidade no potencial de enraizamento de estacas de genótipos de erva-mate e comparar o efeito do uso do ácido indolbutírico (AIB) aplicado às estacas na indução do enraizamento.

Metodologia

O trabalho foi conduzido no Setor de Horticultura da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), em Passo Fundo - RS, em uma estufa de polietileno com 70 % de sombreamento, medindo 210 m², com 2,5 m de altura do pé direito, em estrutura de alumínio galvanizado. O sistema de irrigação era do tipo nebulização intermitente (molhamento por 10 segundos em intervalos de 10 minutos).

Quatro genótipos foram selecionados como matrizes, pelo bom aspecto e enfolhamento, em um erval no município de Ilópolis, RS. Estacas semilenhosas, de brotações do ano, foram padronizadas com 10 cm, deixando um par de folhas reduzidas pela metade. Após, foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (0,5%) e lavadas em água corrente. A estaquia foi realizada no início de novembro (07/11), tratando as estacas com 8.000 mg L⁻¹ de AIB (imersão de 3 cm da base por 15 segundos), comparadas com estacas não tratadas. O enterrio foi a 4 cm, em bandejas alveoladas (72 células) contendo casca de arroz carbonizada + vermiculita média (1:1, v:v). Após 70 dias foram avaliadas a porcentagem de estacas vivas, de queda de folhas, de estacas brotadas e enraizadas, o número médio de raízes por estaca e o comprimento da maior raiz.



Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, no esquema fatorial 4 x 2 (4 Genótipos x 2 doses de AIB), com 3 repetições e 12 estacas por parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. O experimento foi monitorado semanalmente e as avaliações de porcentagem de estacas vivas, queda de folhas, brotação e enraizamento foram realizadas 70 dias após o plantio das estacas.

Resultados e discussões

A maior porcentagem de estacas vivas (86,1%) foi obtida no genótipo 1, enquanto nos demais genótipos variou de 30,6% a 44,4%. O uso do fitorregulador AIB não influenciou a sobrevivência em nenhum dos genótipos (Tabela 1). A menor queda de folhas ocorreu nas estacas do genótipo 1 (41%), tendo ocorrido de forma acentuada nos demais genótipos, que não diferiram entre si (79,9% a 86,1%). Não houve efeito significativo do AIB sobre esta variável. O genótipo 1 também apresentou maior porcentagem de estacas brotadas (68%), não diferindo os demais genótipos entre si (Tabela 2). Sobre esta variável, mais uma vez não houve efeito do AIB.

A mortalidade das estacas demonstrou forte relação com a queda de folhas, possivelmente pela redução na disponibilidade de fotoassimilados, antes produzidos pelas mesmas. Conforme Graça et al. (1988), um dos principais fatores que tem dificultado o desenvolvimento da técnica de estaquia em erva-mate é a alta mortalidade das estacas, caracterizada pelo enegrecimento das estacas seguido de apodrecimento, podendo estar associado à umidade e temperaturas altas na casa de vegetação, condições ideais para o desenvolvimento de fungos.



Tabela 1 - Porcentagem de estacas vivas e de queda de folhas de quatro genótipos de erva-mate, com e sem tratamento com 8.000 mg L⁻¹ de AIB, aos 70 dias após a estaquia realizada em novembro. FAMV/UPF, Passo Fundo, RS.

Genótipo	Estacas vivas (%)			Queda de folhas (%)		
	Sem AIB	Com AIB	Média	Sem AIB	Com AIB	Média
1	86,1	86,1	86,1 A*	43,1	38,9	41,0 B
2	33,3	29,1	31,2 B	83,3	85,4	84,4 A
3	33,4	27,8	30,6 B	82,0	90,3	86,1 A
4	50,0	38,9	44,4 B	68,1	91,7	79,9 A
Média	50,7 a	45,5 a		69,1 a	76,6 a	
CV. (%)	23,3			12,8		

* Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O maior percentual de estacas enraizadas (77,8%) foi proporcionado pelo genótipo 1, com o uso de AIB. Sem o tratamento com o fitorregulador, o enraizamento foi muito baixo neste mesmo genótipo (19,4%), e nulo nos demais (Tabela 2). Nos demais genótipos, o uso do AIB não estimulou o enraizamento (2,8% a 8,3%), não diferindo estatisticamente das estacas testemunhas. Efeitos positivos do AIB no enraizamento também foram verificados por Graça et al. (1988) e Quadros (2009). O último autor verificou efeito negativo da queda de folhas no enraizamento da erva-mate. Nienow et al. (2010), estudando o enraizamento de estacas da quaresmeira *Tibouchina sellowiana*, também verificaram que a capacidade de sobrevivência e de enraizamento está intimamente relacionada com a manutenção das folhas durante o processo. Fochesato et al. (2006), na estaquia do louro (*Laurus nobilis* L.), mantendo 0, 2 ou 4 folhas, obtiveram 100% das estacas mortas na



ausência de folhas, enquanto com 2 e 4 folhas a mortalidade foi de 16,7% e 11,5%, respectivamente. Os autores atribuíram ao esgotamento das reservas, por ocasião da brotação, e à ausência de hormônios produzidos nas folhas, a total mortalidade das estacas sem folhas.

Tabela 2 - Porcentagem de estacas brotadas e enraizadas de quatro genótipos de erva-mate, com e sem tratamento com 8.000 mg L⁻¹ de AIB, aos 70 dias após a estaquia realizada em novembro. FAMV/UPF, Passo Fundo, RS.

Genótipos	Estacas brotadas (%)			Estacas enraizadas (%)		
	Sem AIB	Com AIB	Média	Sem AIB	Com AIB	Média
1	72,2	63,9	68,0 A*	19,4 b A	77,8 a A	48,6
2	16,7	12,5	14,6 B	0,0 a A	2,8 a B	1,4
3	22,2	19,4	20,9 B	0,0 a A	8,3 a B	4,2
4	19,4	0,0	9,7 B	0,0 a A	5,6 a B	2,8
Média	32,6 a	24,0 a		4,8	23,6	
CV (%)			37,3			55,4

* Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Portanto, ficou demonstrado o elevado potencial de enraizamento do genótipo 1, que apresentou maior capacidade de retenção de folhas, bem como a eficiência do tratamento com 8.000 mg L⁻¹ de AIB, evidenciando que este genótipo apresenta deficiência na produção natural de auxinas para promover bom enraizamento. A presença das folhas, além de produzir fotoassimilados para manter os processos metabólicos da estaca, e auxiliar no enraizamento, possivelmente pode ter auxiliado no fornecimento de cofatores e auxinas.



Os resultados também realçam a variabilidade genética existente entre plantas em um erval, inclusive na capacidade de enraizamento de estacas, uma vez que as mudas são produzidas a partir de sementes. Logo, percebe-se a necessidade de implementar essa técnica com mais estudos, procurando atenuar os efeitos de fatores externos que comprometam o sucesso da mesma, visando definir um protocolo viável de produção de mudas de erva-mate através da estaquia.

Conclusão

O potencial de enraizamento varia entre genótipos de erva-mate. O genótipo 1 destacou-se por apresentar elevado potencial de enraizamento, quando tratado com 8.000 mg L⁻¹ de AIB.

Referências

DA CROCE, D. M.; FLOSS, P. A. **Cultura da erva-mate no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 1999. 81 p. (Boletim Técnico, 100).

FOCHESATO, M. L. et al. Propagação de louro (*Laurus nobilis* L.) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

GRAÇA, M. E. C. et al. **Estaquia de erva-mate**. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1988. 6 p. (Circular Técnica, 18).

NIENOW, A. A. et al. Enraizamento de estacas de quaresmeira em duas épocas e concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 16, n. 1, p. 139-142, 2010.

QUADROS, K. M. **Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire – Aquifoliaceae)**. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

STURION, J. A. **Produção de mudas e implantação de povoamentos com erva-mate**. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1988. 10 p. (Circular Técnica, 17).

ZANIOLO, S. R.; ZANETTE, F. Micropropagação de erva-mate a partir de segmentos nodais. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 2, n. 1-2, p. 39-44, 2001.



ESTAQUIA DE CULTIVARES DE MIRTILEIRO EM DIFERENTES SUBSTRATOS

BONAFÉ, M.^{1*}; ZANELLA, A.¹; ZERBIELLI, L.²; NIENOW, A.A.³

¹ Acadêmicos do curso de Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brasil. Bolsistas Pibic-Fapergs e UPF. * m_bonafe@hotmail.com

² Engenheiro Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Passo Fundo, RS, Brasil.

³ Engenheiro Agrônomo, Doutor, professor do Curso de Agronomia e do PPGAgro/FAMV/UPF, Passo Fundo, RS, Brasil. alexandre@upf.br

Resumo

O mirtilo é uma frutífera com grandes perspectivas no sul do Brasil, mas com problemas de produção de mudas, o que dificulta a sua expansão. Este trabalho teve como objetivo contribuir para o estabelecimento de um protocolo de produção de mudas, avaliando as possíveis influências de quatro substratos casca de arroz carbonizada, casca de arroz carbonizada + vermiculita (1:1 v/v), e os substratos comerciais Mecplant e Plantmax no enraizamento de estacas de três cultivares de mirtilo (Climax, Georgiagem e Alice Blue). A estaquia foi realizada de agosto a dezembro, em bandejas de isopor alveoladas, com a base das estacas tratadas com 1.000 mg L⁻¹ de AIB. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com os tratamentos arranjados em parcelas subdivididas, com quatro repetições e dez estacas por sub-parcela. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Ao final do experimento houve maior enraizamento, das estacas de mirtilo, com o uso do substrato Plantmax. As cultivares Alice Blue e Georgiagem apresentaram melhor potencial de enraizamento confronto a cultivar Climax.

Palavras-chave: Propagacao vegetativa. Enraizamento. Estacas. AIB. Substrato.



Introdução

O mirtilheiro (*blueberry* ou *arándano*) pertence à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*. É uma fruta de clima temperado que apresenta grande importância comercial, especialmente nos Estados Unidos e em alguns países da Europa (Pagot e Hoffmann, 2003). Seus frutos são bagas de cor azul-escura, de formato achatado, com aproximadamente 1 cm de diâmetro e 1,5 g de massa, com sabor doce-ácido a ácido (Westwood, 1982).

O interesse por esta cultura tem sido crescente, e vem se tornando uma boa alternativa para os produtores de algumas regiões do Sul e Sudeste do Brasil, por ser uma fruta muito apreciada não somente pelo sabor exótico, como também pelos poderes medicinais e alto valor econômico (Antunes e Madail, 2005). No Sul do Brasil, esta espécie vem sendo pesquisada e produzida como uma nova alternativa na área de fruticultura, pois apresenta alta rentabilidade, baixa utilização de insumos e, até o momento, facilidade de produção limpa, resguardando o ambiente e a segurança alimentar (Santos e Raseira, 2002).

Entre os fatores que limitam a expansão da cultura está a dificuldade de propagação, que reduz a disponibilidade e a qualidade de mudas para comercialização (Hoffmann, 1994; Trevisan et al., 2008), tanto micropropagadas como obtidas por enraizamento de estacas, criando um efeito de alta demanda e oferta reduzida de mudas (Monteiro, 2004). Uma alternativa para diminuir as frustrações no processo de estaquia, segundo Hoffmann et al. (2005) advem da escolha do substrato adequado, pois conforme Shelton e Moore, apud Hoffmann et al. (1995), o substrato é um fator de grande importância na propagação de mirtilheiro, podendo ser considerado um dos fatores de maior influência no enraizamento do mesmo, afetando também a qualidade do sistema radicular da muda.

Couvillon (1988) afirma que um meio adequado para o enraizamento é aquele que retém um teor de água suficiente para evitar o murchamento da estaca e, uma vez saturado, tenha uma porosidade



suficiente para garantir a aeração na base da mesma. No sistema atual de produção ocorre a repicagem das mudas antes de irem para o campo. A possibilidade do uso de um substrato que dispense a repicagem, colocado em um recipiente adequado e recebendo nutrientes, resultaria em melhores características para o crescimento e diminuindo o estresse causado pela repicagem (Schäfer, et al., 2006).

A qualidade das mudas de mirtilo e o tempo para a obtenção são importantes fatores para que possamos baixar o custo, melhorar o desenvolvimento do pomar e, em consequência, a quantidade e a qualidade da produção. Considerando que estacas de mirtilo têm dificuldades de enraizamento e a pesquisa é recente no Brasil necessita-se de mais dados técnicos para aumentar a área plantada (Campos et al., 2005). Destaca-se, assim, a importância de se pesquisar quais as possíveis influências dos substratos no enraizamento, bem como avaliar se há diferenças nas respostas de alguns cultivares de mirtilheiro.

O presente trabalho teve como objeto contribuir para a definição de um protocolo de produção de mudas de mirtilo por estaquia, verificando o efeito de diferentes substratos em três cultivares de mirtilheiro.

Metodologia

O trabalho foi desenvolvido no Setor de Horticultura da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), em Passo Fundo - RS, entre agosto e dezembro, em uma estufa de polietileno com 70 % de sombreamento, medindo 210 m², com 2,5 m de altura do pé direito, em estrutura de alumínio galvanizado. O sistema de irrigação, do tipo nebulização intermitente, era acionado em intervalos de 10 minutos, com duração de molhamento de 10 segundos.

Foram utilizadas estacas de três cultivares de mirtilheiro (Climax, Georgiagem e Alice Blue) em quatro substratos: casca de arroz carbonizada, casca de arroz carbonizada + vermiculita (1:1 v/v), e os substratos comerciais Mecplant e Plantmax. As estacas utilizadas foram



retiradas de um pomar cultivado em ambiente protegido no Setor de Horticultura da FAMV/UPF, uniformizadas para o comprimento de 10 cm, eliminando as folhas e fazendo um corte em bisel na base, para melhor enraizamento. Por ocasião da estaquia, as mesmas foram tratadas por dez segundos com solução de ácido indolbutírico (AIB) a 1.000 mg L^{-1} .

O delineamento foi em blocos casualizados, com os tratamentos arranjados no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições e dez estacas por subparcela, considerando como parcelas principais os substratos e, como subparcelas, os cultivares, totalizando 480 estacas. A estaquia foi realizada em 07 de agosto, em bandejas de isopor alveoladas, enterrando 3 cm a base das estacas. Após 120 dias foram coletadas as seguintes variáveis: porcentagem de estacas vivas, enraizadas e com calo; comprimento médio da maior raiz e massa fresca de raízes. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as diferenças entre médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Resultados e discussões

Após 120 dias, as estacas das cultivares de Alice Blue e Georgeagem apresentaram, respectivamente, as maiores porcentagens médias de sobrevivência (88,1% e 96,9%), de estacas enraizadas (51,9% e 54,4%) e comprimento da maior raiz (52,9 mm e 55,3 mm), não diferindo entre si (Tabela 1). A cultivar Climax apresentou baixa capacidade de enraizamento (6,2%) e crescimento radicular (15,9 mm), vários autores confirmam a baixa capacidade de enraizamento da mesma, Wagner Junior et al. (2004) obteve 56% de enraizamento, Hoffmann et al. (1995) a taxa de 40 % e Trevisan et al. (2008) apenas 19,8 % de estacas enraizadas.

Um aspecto que pode interferir no desenvolvimento das raízes é a brotação. Nas cultivares Alice Blue e Georgiagem, a brotação teve início mais precocemente e com bastante uniformidade. Já na cultivar Climax, o início da brotação foi mais tardio e desuniforme. Segundo Botelho et al. (2005), existe uma competição por reservas entre o desenvolvimento aéreo e o radicular, podendo a excessiva brotação influenciar mais



negativamente o desenvolvimento de raízes. Embora, inicialmente, possa ter ocorrido competição por reservas, a hipótese é de que, numa segunda fase, com as folhas mais expandidas, a brotação tenha possibilitado a produção de auxinas e fotoassimilados, pois segundo Hoffman et al. (1995) a permanência de folhas é benéfica para o enraizamento de estacas de mirtilo, contribuindo para o desenvolvimento das mesmas,

Tabela 1 - Efeito de substratos e cultivares de mirtilheiro sobre a porcentagem de estacas vivas, enraizadas, com calo e comprimento médio da maior raiz. FAMV, Passo Fundo, RS.

Cultivares	Estacas vivas (%)	Estacas enraizadas (%)	Estacas com calo (%)	Comprimento da maior raiz (mm)
Climax	65,6 b*	6,2 b	8,1 b	15,9 b
Alice Blue	88,1 a	51,9 a	23,7 a	55,3 a
Georgiagem	96,9 a	54,4 a	26,9 a	52,9 a
Substratos				
Casca arroz (CAC)	88,3 ^{ns}	33,3 b	33,3 a	39,1 b
CAC + vermiculita	81,7	30,0 b	19,2 b	31,1 b
Plantmax	85,0	55,0 a	4,2 c	59,9 a
Mecplant	79,2	31,7 b	21,7 ab	35,4 b
Média	83,5	37,5	19,6	41,4

* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. ^{ns} - não significativo pelo teste F.

A porcentagem de estacas com apenas calo foi maior também nas cultivares Alice Blue e Georgeagem (23,7% a 26,9%), sugerindo que, caso a estaquia fosse mantida por tempo mais prolongado, a porcentagem de enraizamento poderia, talvez, aumentar. Ristow et al. (2010) não observaram que as raízes fossem provenientes de calo, ainda que



houvesse formação de calos e de raízes na mesma microestaca. Fachinello et al. (2005) afirmam que a formação de calo e de raízes são fenômenos independentes, ainda que na maioria dos casos sejam influenciados pelos mesmos fatores. Conforme Trevisan et al. (2004), a viabilidade da propagação através da estaquia depende da qualidade do sistema radicular formado, e dentre os fatores que afetam a formação de raízes, o substrato desempenha um papel muito importante, especialmente em espécies de difícil enraizamento.

O tipo de substrato não interferiu na sobrevivência das estacas, independentemente da cultivar (Tabela 1). Para a porcentagem de estacas enraizadas e comprimento da maior raiz, o substrato Plantmax foi o mais eficiente, não diferindo os demais substratos entre si. Schuch et al. (2007) obtiveram maiores porcentagens também com esse substrato. Os tratamentos com menor enraizamento apresentaram maior porcentagem com calo.

Para massa fresca de raízes houve interação entre os substratos e as cultivares (Tabela 2). O substrato Plantmax foi o melhor para as cultivares Alice Blue e Georgiagem, enquanto que, para Climax, não houve diferença entre os quatro substratos, apresentando, comparativamente com as demais cultivares, massa de raízes mais baixa, especialmente no uso de substratos comerciais.

Conclusão

As cultivares Alice Blue e Georgeagem apresentam maior capacidade de enraizamento que Climax. Os substratos não influenciam a sobrevivência das estacas, mas o substrato comercial Plantmax proporciona melhor enraizamento.



Tabela 2 - Efeito de substratos e cultivares de mirtilheiro sobre a massa fresca de raízes. FAMV, Passo Fundo, RS.

Substratos	Cultivares			
	Climax	Alice Blue	Georgiagem	Média
Casca arroz (CAC)	0,020 a A*	0,092 b B	0,183 b A	0,097
CAC + vermiculita	0,005 a A	0,089 b A	0,057 b A	0,050
Plantmax	0,031 a B	0,575 a A	0,496 a A	0,367
Mecplant	0,001 a B	0,269 b A	0,138 b AB	0,136
Média	0,014	0,256	0,218	

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

Referências

ANTUNES, L. E. C; MADAIL, J. C. M. Mirtilo: que negócio é esse? **Jornal da Fruta**, Lages, n. 159, p.8, 2005.

BOTELHO, R. V. et al. Estaquia do porta-enxerto de videira '43-43' (*V. vinifera* x *V. rotundifolia*) resistente à *Eurhizococcus brasiliensis*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 480-483, dez, 2005.

CAMPOS, A. D. et al. **Enraizamento de estacas de mirtilo provenientes de ramos lenhosos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. 6 p. (Documentos, 133).

COUVILLON, G.A. Rooting responses to different treatments. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 227, p. 187-196, 1988.

FACHINELLO, J. C. et al. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 69-109.

HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J. C., FACHINELLO, J. C. Infra-estrutura para propagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J. C., HOFFMANN, A.,



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Informações Tecnológicas, 2005. p.13-43

HOFFMANN, A.; FACHINELLO, J. C.; SANTOS, A. M. Enraizamento de estacas de duas cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 7-11, jan-abr, 1995.

MONTEIRO, C. La expansion de la producción de arándanos en Uruguay y su relación con el Hemisferio sur. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., 2004, Pelotas. **Palestras e Resumos...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 233-241. (Documentos, 124).

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria, RS. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.9-17. (Documentos, 37).

RISTOW, N. C.; ANTUNES, L. E. C.; CARPENEDO, S. **Enraizamento de microestacas de mirtilheiro em diferentes substratos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 8 p. (Documentos, 249).

SANTOS, A. M.; RASEIRA, M. C. B. **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2002. 30 p.

SCHÄFER, G. et al. Desenvolvimento vegetativo inicial de porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1723-1729, nov-dez, 2006.

SCHUCH, M. W. et al. AIB e substrato na produção de mudas de mirtilo cv. "Climax" através de microestaquia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1446-1449, set-out, 2007.

TREVISAN, R., ANTUNES, L. E. C; GONÇALVES, D. G. Propagação de plantas frutíferas nativas . In: RASEIRA, M. do C. B. et al. **Espécies frutíferas nativas do sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 47-70. (Documentos, 129).

TREVISAN, R. et al. Enraizamento de estacas herbáceas de mirtilo: influência da lesão na base e do ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 402-406, mar-abr, 2008.

WAGNER JÚNIOR, A. et al. Efeito da lesão basal e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de quatro cultivares de mirtilo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 2, p. 251-253, abr-jun, 2004.

WESTWOOD, M. N. **Fruticultura de zonas templadas**. Barcelona: Mundi-Prensa, 1982. 461 p.



ENRAIZAMENTO DE DIFERENTES TIPOS DE ESTACAS DA ESPÉCIE MEDICINAL NATIVA *Psychotria birotula* Smith & Downs

FRESCURA, V.D.^{1,*}; DALLA NORA, G.²; TEDESCO, S.B.³; PARANHOS, J.T.³; NICOLOSO, F.T.³.

¹ Bióloga, Mestranda, Programa de Pós Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. vividfrescura@yahoo.com.br

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

³ Docente, Orientadora, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Docente, Co-orientadores, Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Este trabalho objetivou contribuir com informações fitotécnicas para o cultivo da espécie medicinal *Psychotria birotula* Smith & Downs, estudando a melhor estratégia para o enraizamento de estacas, bem como auxiliar na formação de coleções ativas, *ex-situ*, para fins científicos e bancos de germoplasma. O experimento foi conduzido em sala de crescimento, com estacas obtidas da região apical e basal dos ramos de plantas em fase vegetativa de *P. birotula*, provenientes da região de Dom Pedro de Alcântara-RS. Foi utilizado o meio de cultura líquido MS, e as observações aconteceram durante 90 dias, a cada 30 dias. A análise estatística constou de análise de variância dos dados e comparação das médias pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As estacas retiradas da porção apical mostraram maior eficácia no enraizamento, sendo que de todas as estacas com enraizamento e sobrevivência, 80% foram provenientes de estacas apicais. Conclui-se com os resultados do presente estudo que para a propagação da espécie medicinal *P. birotula* através do método de enraizamento por estaquia são mais apropriadas as estacas da região apical dos ramos.

Palavras-chave: Estacas. Região apical. Região basal. *Psychotria birotula*.



Introdução

A espécie medicinal *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae), é um arbusto de até 1,5 m de altura, com ramificações desde 0,30 m do solo. Apresenta caules roliços, glabros, os mais novos levemente compridos e muito quebradiços. Folhas pecioladas com nervuras, principal e secundária, nítidas em ambas as faces. A espécie ocorre abundantemente na mata Pluvial costeira, no município de Torres, no Rio Grande do Sul, sendo uma novidade taxonômica para a região (Dillenburg e Porto, 1985).

Atualmente, no Brasil, ocorrem cerca de 130 gêneros e 1.500 espécies da família Rubiaceae, correspondendo a uma das principais famílias de nossa flora e destacando-se como um importante elemento em quase todas as formações naturais (Souza e Lorenzi, 2005). O gênero *Psychotria* é o maior gênero de Rubiaceae, pertencente à subfamília Rubioideae e tribo Psycotrieae. Este gênero engloba cerca de 1650 espécies no mundo todo, a maioria de hábito arbustivo, embora árvores, ervas, lianas e epífitas também sejam conhecidas (NepoKroeff et al., 1999).

No Rio Grande do sul foi constatada a presença de dez espécies do gênero *Psychotria*: *Psychotria carthagenensis* Jacq., *Psychotria birotula* Smith & Downs, *Psychotria myrianta* Mull. Arg., *Psychotria nitidula* Cham. et Schlecht, *Psychotria brachyceras* Mull. Arg., *Psychotria tenerior* (Cham.) Mull. Arg., *Psychotria kleinni* Smith & Downs, *Psychotria suterella* Mull. Arg., *Psychotria brachypoda* (Mull. Arg.) Britton (*Psychotria Umbellata*) e *Psychotria leiocarpa* Cham. et Schlecht (Dillenburg e Porto, 1985).

Algumas espécies de *Psychotria* são importantes na medicina tradicional. Os usos internos mais frequentes referem-se a afecções do aparelho reprodutor feminino, auxiliar no pré e pós-parto, nas doenças brônquicas e nos distúrbios gastrointestinais. Há também a utilização externa, como em aplicações cutâneas, tumores, úlceras, distúrbios oculares, como cataplasmas e banhos no tratamento de febre, dores de



cabeça e de ouvido (Perry, 1980; Lajis et al., 1993). De acordo com Bona et al. (2002), a propagação por estacas é um método eficaz e possibilita a preservação de características agronômicas desejáveis e uniformes.

Em estudo realizado por Brand et al. (2009) foram isolados da *P. birotula* os alcalóides do tipo pirrolodino indólico, meso-chimonantina e chimonantina, com utilização farmacológica.

Ao tratar-se de plantas medicinais nativas, torna-se necessário a prioridade para o desenvolvimento de trabalhos que envolvam a conservação *ex-situ*, estabelecendo estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais nativas, bem como auxiliar na formação de coleções ativas, *ex-situ*, para fins científicos e novos bancos de germoplasma (Souza et al., 2006). Baseando-se nesse contexto, o presente trabalho objetivou estudar a multiplicação de indivíduos da espécie nativa *P. birotula* a partir de estacas de diferentes porções dos ramos na fenofase vegetativa, comparando o desempenho do enraizamento de estacas apicais e basais.

Metodologia

A coleta do material botânico constou da obtenção de ramos de indivíduos de *P. birotula* crescendo na mata, no município de Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, no dia 17 de setembro de 2010, período entre inverno e primavera. As plantas matrizes permaneceram no local de ocorrência, com o objetivo de evitar a escassez do recurso genético. O material botânico foi acondicionado em sacos plásticos contendo água e transportado até o município de Santa Maria, RS. Permanecendo em água destilada até o momento do preparo das estacas.

A estaquia foi conduzida no Laboratório de Cultura de Tecidos vegetais, Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, em sala de crescimento com temperatura de aproximadamente 28°C e fotoperíodo de 16 horas. Sendo utilizado o meio de cultura líquido MS (Murashige e Skoog, 1962).



Para a propagação por estaquia do material botânico coletado, foram selecionadas estacas apicais e basais, a fim de estabelecer o melhor tipo de estaca para a propagação da espécie, e a desinfestação foi realizada com solução de hipoclorito 2% durante 10 minutos. As estacas apresentavam cerca de 16 cm, cada uma com 2 folhas, pois, segundo Martins et al. (2000) é de fundamental importância a presença de folhas ou pelo menos gemas para o enraizamento. Estas estacas foram colocadas nos frascos de maneira que mais de 50% do material ficasse exposto à atmosfera. Foram utilizados frascos com 10 cm de altura e 10 cm de diâmetro, forrados com papel pardo para evitar a interferência da luz no enraizamento das estacas.

As observações foram realizadas a cada 30 dias, durante um período de 90 dias, e o meio de cultura foi substituído a cada 30 dias, para evitar o déficit de nutrientes. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. No total, foram utilizadas 28 estacas divididas em 7 frascos, cada frasco com 4 estacas, tanto para estacas basais quanto para estacas apicais. Testando-se então, dois diferentes tipos de estacas com relação à posição do ramo.

A análise estatística constou de análise de variância dos dados e comparação das médias pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e discussões

Na Tabela 1 está apresentada a avaliação realizada a cada 30 dias, até completar 90 dias de observações. Constatou-se que o número de estacas enraizadas foi baixo para o total de estacas utilizadas tanto para estacas basais quanto para estacas apicais, não atingindo aos 90 dias 15% de estacas enraizadas para estacas apicais e menos de 5% para as basais. A Tabela 1 ainda mostra a taxa de mortalidade nos dois tipos de estacas utilizados, sendo de 96,43% para basais e 85,72% para apicais.



Tabela 1 - Número de estacas enraizadas aos 30, 60 e 90 dias de observação, taxa de enraizamento e mortalidade aos 90 dias de observação.

	Enraizamento				Mortalidade
	30 dias*	60 dias*	90 dias*	90 dias (%)	90 dias (%)
Estacas apicais (28 estacas)	0	2	4	14,28a**	85,72a
Estacas basais (28 estacas)	0	0	1	3,57b	96,43b

* número de estacas enraizadas; % porcentagem de enraizamento/mortalidade.

** Médias seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em estudo realizado por Biasi e De Bona (2000), com outras condições experimentais, utilizando estacas apicais, medianas e basais da espécie medicinal *Baccharis trimera* (Less.) DC., observou-se uma alta porcentagem de enraizamento para estacas apicais e medianas, embora, Bona (2002) tenha observado alto índice de enraizamento para estacas oriundas de porções basais. Mais tarde, Souza et al. (2006), realizaram um estudo com diferentes acessos da mesma planta medicinal, *B. trimera*, investigando a estaquia por porções apical, mediana e basal, com condições experimentais diferentes, e concluíram que foi possível obter um maior número de estacas enraizadas, a partir das estacas advindas de porções basais e medianas dos ramos. Além disso, os resultados variaram entre os acessos estudados pelos autores.

Nas condições experimentais utilizadas neste estudo, obteve-se maior proporção de estacas enraizadas, para as estacas das porções apicais dos ramos, com de enraizamento de estacas baixas, abaixo de 20%. A temperatura, fotoperíodo, meio de cultura e fenofase de coleta do material para o preparo das estacas, podem ter interferido no processo de estaquia, podendo haver confirmação com a realização de outros estudos.



Conclusão

Conclui-se com este estudo, que para propagação da espécie medicinal nativa *P. birotula* através do método de enraizamento por estaquia, são mais apropriadas as estacas oriundas da região apical dos ramos. Podendo ser obtidos melhores resultados, testando-se diferentes meios de cultura, fotoperíodos, temperaturas e diferentes épocas de coleta do material botânico, pois, diferentes condições experimentais afetam o desenvolvimento das estacas.

Referências

BIASI, L.A.; DE BONA, C.M. Propagação de carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle) por meio de Estaquia. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.2, n.2, p. 37-43, abr. 2000.

BONA, C.M. **Estaquia, calagem e sombreamento da carqueja**. 2002. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

BONA, C.M. et al. **Carqueja**: cultive esta idéia. Curitiba : SEAB-PR/UFPR, 2002. 18p.

BOTH, F. L. **Avaliação do perfil psicofarmacológico de psicolatina isolada de *Psychotria umbellata* (Rubiaceae)**. 2005. 178f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

BRAND, G. et al. Alcalóides pirrolidino-indólicos de *Psychotria birotula*. In : XVII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 17., 2009, Rio Grande. **Anais...** 2009. Disponível em: 1 CD ROOM

DILLENBURG, C. R.; PORTO, M. L. Tribo *Psychotrie*. **Boletim do Instituto de Biociências da UFRGS**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1985. 76p.

LAGIS, N. H.; MAHMUD, Z.; TOIA, R.F. The alkaloids of *Psychotria rostrata*. **Planta Medica**, v.59, n.2, p.383-384, 1993.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas Medicinai**s. Viçosa : UFV, 2000. 220p.

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



Simposio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



NEPOKROEFF, M., BREMER, B., SYTSMA, K.J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, v.24, n.1, p.5-27, 1999.

PERRY, L.M. **Rubiaceae** – dans Medicinal Plants of East and Southeast Asia. MIT Press, p. 347-360, 1980.

SOUZA, L.A.; SACRAMENTO, L.V.S.; MING, L.C. Propagação por estaquia de três acessos de *Baccharis trimera* em fenofase reprodutiva. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.4, p.189-192, dez. 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005, 640p.



AVALIAÇÃO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *BRUGMANSIA SUAVEOLENS* BER. & PRESL. SP SOB DIFERENTES TRATAMENTOS

MONTANUCCI, C. A. R¹; SERENISKI, R. M.^{2*}; ZADINELO, I. V.²;
VENDRUSCOLO, E. C. G.³; ROMANI, I.⁴; FONSECA, M. S.³; MISSIO, R.
F.³; ECHER, M. M.⁵

¹ Mestranda, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Nível mestrado, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil.

² Graduando, Curso de Tecnologia em Biotecnologia, Setor *Campus* Palotina, Universidade Federal do Paraná, Palotina, PR, Brasil. * ra_kelzinha15@hotmail.com

³ Doutor(a), professor(a), Universidade Federal do Paraná, Setor *Campus* Palotina, Palotina, PR, Brasil.

⁴ Doutorando em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

⁵ Doutora, professora, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Nível mestrado, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil.

Resumo

A *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. é uma planta ornamental, de interesse biotecnológico, e considerada tóxica, da família das *Solanaceae*, conhecida popularmente como trombeteira. O conhecimento da “performance” de germinação constitui o primeiro passo para a adoção de técnicas biotecnológicas em qualquer espécie. Este trabalho objetivou a avaliação do comportamento germinativo das sementes *in vitro* sob diferentes condições de pré-tratamento: acondicionamento à 4°C e 50°C, ácido sulfúrico a 50 %, embebição em água e ácido giberélico em meio de cultura. A germinação acumulada foi avaliada após 14, 21, 28, 35 e 42 dias. Das sementes pré-tratadas, foram retirados os tegumentos que foram cultivados *in vitro*. O período estimado para o início do processo germinativo sem a presença do tegumento foi de quatorze dias. O meio MS com metade da concentração de micro e macronutrientes foi por si só indutor de germinação. Em relação ao efeito dos pré-tratamentos pode-se observar que



baixas temperaturas e 50°C não propiciaram diferenças estatísticas entre os tratamentos. A presença do ácido giberélico promoveu a inibição do desenvolvimento dos embriões *in vitro*. A exposição ao ácido sulfúrico a 50% e a embebição das sementes em água por períodos maiores do que 24 horas reduziram a taxa de germinação.

Palavras-chave: *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl.. Germinação. Cultivo *in vitro*. Embriões.

Introdução

A *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. é uma planta ornamental, de interesse biotecnológico, e considerado tóxica, da família das Solanaceae, conhecida popularmente como trombeteira, babado, copo de leite, zabumba branca, copo-de-leite, saia-branca, sete-saias, entre outras. É um arbusto semi-lenhoso, de 2-3 m de altura, com folhas grandes, alongadas e finas (Correa, 1984).

Espécies do gênero *Brugmansia* apresentam os alcalóides atropina e escopolamina. Ambos são ésteres orgânicos formados pela combinação de um ácido aromático, o ácido trópico, e das bases complexas tropina e escopina, utilizados na produção de medicamentos (Gilman et al., 1980). A indústria de medicamentos tem grande interesse pelas plantas medicinais e na pesquisa da biotecnologia para a obtenção de compostos ou moléculas de interesse industrial (Chan et al., 1997).

A semente é o principal meio para a reprodução da maioria das espécies lenhosas e suas características morfológicas externas, por não variarem com as condições ambientais são importantes para auxiliar a identificação da família, gênero e espécie, além de seu conhecimento poder auxiliar os estudos de germinação e armazenamento e os métodos de cultivo (Groth, 1985; Amorim et al., 1997). O conhecimento da “performance” de germinação e viabilidade de sementes se constituem no primeiro passo para a adoção de técnicas biotecnológicas como a cultura de tecidos *in vitro* e a transformação genética para a produção de metabólitos secundários em escala comercial (Verpoorte, 2000).



Levando-se em consideracao a necessidade de estabelecer um protocolo de cultivo *in vitro* de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl., este trabalho teve como objetivo a avaliacao do comportamento germinativo de suas sementes *in vitro* sob diferentes condicoes.

Metodologia

As sementes de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. tiveram seus tegumentos retirados mecanicamente. Apes foram submetidas aos pre-tratamentos descritos na tabela 1. Subsequente aos pre-tratamentos as sementes foram submetidas ao tratamento asséptico em fluxo laminar. As mesmas foram submersas por 10 minutos em álcool 70% e apes em hipoclorito de sódio 20% com 2 gotas de TWEEN 80 por 20 minutos. Subsequente foram lavadas tres vezes em água destilada/autoclavada, foram secas em papel filtro e com auxilio de uma pinça grande, foram inoculadas em vidros contendo meio MS pela $\frac{1}{2}$, geleificado com 8 g.L^{-1} de Ágar. O delineamento foi inteiramente casualizado com 17 tratamentos, cada um com 4 repeticoes e cada repeticao com 5 sementes.

Os vidros permaneceram por uma semana no escuro e apes foram transferidos para sala de cultivo onde á fotoperíodo de 16 horas luz e temperatura controlada a $23^\circ \text{C} \pm 2$. As avaliacoes acontecerão a cada 7 dias por 6 semanas. As avaliacoes foram quanto ao tempo para a emissao de raiz, parte aérea, germinacao total e germinacao anormal.

O delineamento experimental usado para a avaliacao da germinacao foi o inteiramente casualizado com quatro (4) repeticoes, onde a unidade experimental consistiu de cinco sementes. Em todos os pre-tratamentos avaliados, foram usadas ao todo 20 sementes de *B. suaveolens* Ber. & Presl.. Os resultados obtidos para as variaveis avaliadas foram transformados em Arcoseno $\sqrt{x}$ para fins de análise de variancia e para a comparacao entre tratamentos foi realizado o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade por meio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).



Tabela 1 - Tratamentos aplicados a sementes de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl.

Grupo	Tratamento	Efetores
I	T1	Controle
	T2	4° C por 24 horas
	T3	4° C por 48 horas
	T4	4° C por 72 horas
II	T1	Controle
	T5	50° C por 5 minutos
	T6	50° C por 10 minutos
	T7	50° C por 15 minutos
III	T1	Controle
	T8	Ácido Sulfúrico 50% por 5 minutos
	T9	Ácido Sulfúrico 50% por 10 minutos
	T10	Ácido Sulfúrico 50% por 15 minutos
IV	T1	Controle
	T11	Ácido Giberélico (20 mg L ⁻¹)
	T12	Ácido Giberélico (30 mg L ⁻¹)
	T13	Ácido Giberélico (40 mg L ⁻¹)
	T14	Ácido Giberélico (50 mg L ⁻¹)
V	T1	Controle
	T15	Embebição em água por 24 h.
	T16	Embebição em água por 48 h
	T17	Embebição em água por 72 h.



Resultados e discussões

Não foram encontradas referências até o momento, de estudo realizado para avaliar quais os fatores ambientais externos às sementes e que possuem maior influência sobre a taxa de germinação e à viabilidade do embrião nesta espécie. Em experimento preliminar realizado demonstraram que sementes tegumentadas não germinaram em condições *in vitro* num período de até 42 dias e que o período mínimo estimado para o início do processo germinativo sem a presença do tegumento foi de no mínimo 14 dias. Alves (2003) observou que sementes de *B. suaveolens* levaram de 20-40 dias para germinar em ambiente com alta umidade. Tais resultados obtidos demonstram que as sementes desta espécie apresentam-se normalmente quiescentes, onde Sacco (1974) e Bianchetti (1981) descrevem sementes quiescentes quando condições externas desfavorecem à sua germinação, mantendo-se em latência ou repouso seminal.

O controle (T1) composto somente pelo meio MS (Musharige e Skoog, 1962) mostrou que a condição *in vitro* foi por si só indutora da germinação, provavelmente pela presença de água e nutrientes. Porém, a taxa de germinação máxima para o controle em todos os tempos avaliados foi de 75%.

Os dados obtidos demonstram que sementes de *B. suaveolens* Ber. & Presl tiveram sua germinação aumentada à medida que o tempo acumulado para a germinação foi maior, sendo assim, as melhores respostas de sementes germinadas foram com 42 dias de cultivo, porém aos 28 dias de cultivo o controle mostrou-se com alto potencial de germinação (70%). Em todas as épocas de avaliação, não houve diferenças estatísticas entre os pré-tratamentos aplicados, embora as porcentagem de germinação nas diferentes épocas de exposição às baixas temperaturas variaram numericamente entre os dias de germinação.

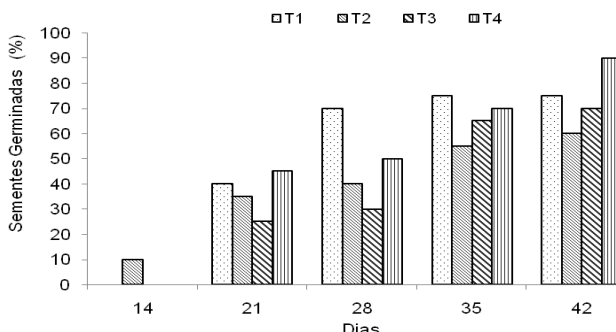


Figura 1 - Porcentagem de sementes germinadas de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl submetidas aos seguintes tratamentos: T1- Controle: (MS); T2 - Sementes submetidas a 4 °C por 24 horas; T3 - Sementes submetidas a 4 °C por 48 horas; T4 - Sementes submetidas a 4 °C por 72 horas.

Outro grupo de tratamentos avaliados foram os de sementes submetidas a 50° C por diferentes tempos de exposição. Os dados obtidos permitem concluir, que a taxa de germinação foi aumentando juntamente com os dias. As melhores respostas ocorreram a partir de 28 dias, apesar de não diferirem estatisticamente entre si. O tratamento que obteve maior porcentagem de germinação foi o T6 (sementes submetidas a 50° C por 10 minutos), seguido do T7 (sementes submetidas a 50° C por 15 minutos). O T1 (controle, composto por meio MS) por si só promoveu a germinação de sementes de *B. suaveolens* Ber. & Presl. (Figura 2).

Em relação ao efeito da exposição ao ácido sulfúrico na concentração de 50%, os dados obtidos demonstram que sementes de *B. suaveolens* Ber. & Presl tiveram uma tendência de redução na porcentagem de germinação com aplicação do ácido, demonstrando que os embriões provavelmente sofreram injúrias. Apenas o tratamento (T9) com ácido sulfúrico por 10 minutos foi o que apresentou respostas similares ao controle nos dias de germinação de 28; 35 e 42 dias. O tratamento T8 (ácido sulfúrico a 50%



por 5min) apresentou uma diminuição no potencial germinativo de sementes nos mesmos dias de germinação citados (Figura 3).

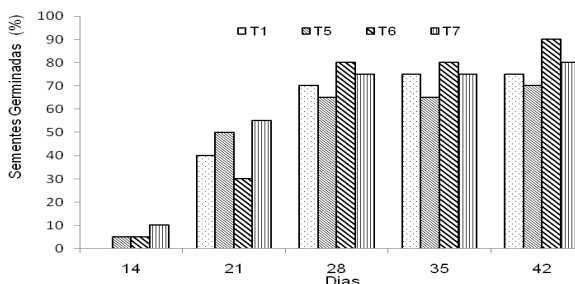


Figura 2 - Porcentagem de sementes germinadas de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. submetidas aos seguintes tratamentos: T1 Controle (MS); T5 - Sementes submetidas a 50 °C por 5 minutos; T6 - Sementes submetidas a 50 °C por 10 minutos; T7 - Sementes submetidas a 50 °C por 15 minutos.

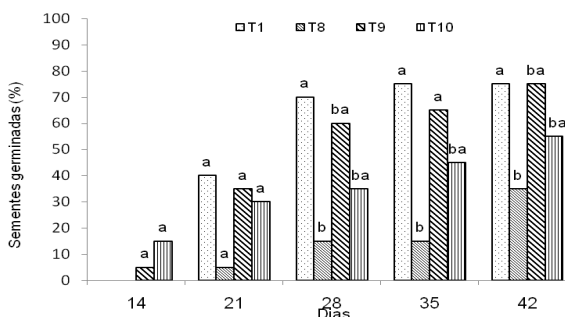


Figura 3 - Porcentagem de sementes germinadas de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl. submetidas aos seguintes tratamentos: T1 – Controle (MS); T8 - Sementes pré-tratadas em Ácido Sulfúrico 50% por 5 minutos; T9 - Sementes pré-tratadas em Ácido Sulfúrico 50% por 10 minutos; T10 - Sementes pré-tratadas em Ácido Sulfúrico 50% por 15 minutos. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente, dentro da época de cada avaliação pelo Teste de Tukey a 5%.



Foi aplicado também, como tratamento para eventual quebra de dormência o ácido giberélico, que é um potente regulador de crescimento, indutor da quebra de dormência. As concentrações avaliadas foram de 20; 30; 40 e 50 mg.L⁻¹. Como resultado obtido, não foi observado germinação dos embriões em nenhuma das concentrações avaliadas (dados não demonstrados). Estes resultados demonstram que possivelmente a alta concentração do ácido giberélico promoveu a inibição do desenvolvimento dos embriões nas sementes cultivadas *in vitro*. No experimento com *B. suaveolens* Ber. & Presl, observou-se que, provavelmente as concentrações usadas foram altas e tiveram um efeito inibidor sobre a germinação nesta espécie.

O último grupo de tratamentos avaliados foi o tempo de embebição das sementes em água sob temperatura ambiente. Os dados obtidos demonstram que o tratamento (T17) de 72 horas de embebição em água promoveu uma rápida germinação, observada aos 14 e 21 dias, porém à medida que os dias de germinação aumentaram, o efeito ficou estabilizado e o controle apresentou uma maior porcentagem. Os tratamentos dentro das diferentes épocas de embebição apresentaram comportamentos distintos (Figura 4).

Os resultados obtidos por este estudo permitirão a adequação de protocolos com a finalidade do estabelecimento da cultura de tecidos *in vitro* e a transformação genética de *B. suaveolens* Ber. & Presl. para a produção de metabólitos secundários em escala comercial.

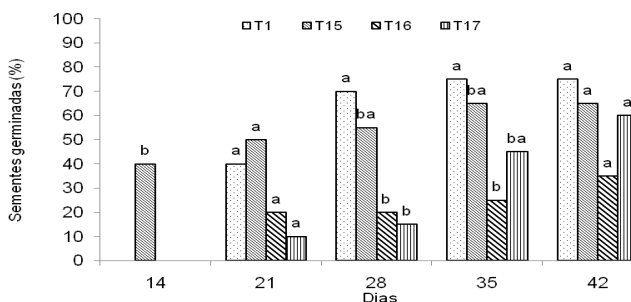


Figura 4 - Porcentagem de sementes germinadas de *Brugmansia suaveolens* Ber. & Presl submetidas aos seguintes tratamentos: T1 – Controle (MS); T15 - Sementes embebidas em água à temperatura ambiente por 24h; T16 - Sementes embebidas em água à temperatura ambiente por 48h; T17 - Sementes embebidas em água à temperatura ambiente por 72 h. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente, dentro da época de cada avaliação pelo Teste de Tukey a 5%.

Conclusão

Foi avaliado o comportamento germinativo de sementes de *B. suaveolens* Ber. & Presl. *in vitro* sob diferentes condições. O período mínimo estimado para o processo germinativo sem a presença do tegumento é de 14 dias e o período de máxima germinação é de 35 dias. O Meio MS com metade da concentração de micro e macronutrientes é por si só indutor de germinação nesta espécie. Os tratamentos de ácido sulfúrico e a embebição de água por mais de 24 horas reduziram a taxa de germinação e as temperaturas aplicadas não tiveram efeito sobre a germinação. As doses de ácido giberélico aplicadas promoveram a inibição da germinação.



Referências

ALVES, M. N. **Alocação de Alcalóides Tropânicos em *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae)**. Campinas, 2003. Tese (Doutorado Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas.

AMORIM, I. L.; DADIVE, A. C.; CHAVES, M. M. F. **Morfologia do fruto e da semente, e germinação da semente de *Trema micrantha* (L.) Blum.** *Cerne*, 3(1): 138-152; 1997.

BIANCHETTI, A.; RAMOS, A. Quebra de dormência de sementes de canafístula *Peltophorum dubium* (Spreng.). Taubert resultados preliminares. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 3, p.87-95; 1981.

CHAN, S.; SAHRAWAT, A.K.; PRAKASH, D.V.S.S.R.; *In Vitro* Culture of *Pimpinella Anisum* L (Anise). **J Plant Biochem. Biotech.** 6:1-5. 1997.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. 6 volumes. Instituto Brasileiro de desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro 1984.

FERREIRA, D. F. SISVAR 4.3 - **Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 8ª. Ed. Editora Guanabara Kogan S.A., Rio de Janeiro, 1980.

GROTH, D. Caracterização morfológica das unidades de dispersão e das plântulas de espécies invasoras das tribos *Anthemidae*, *Astereae* e *cichorieae* (Compositae). **Revista Brasileira de Botânica**, 7(3): 49-94; 1985.

MUSHARIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. 1962, v. 15, p. 473-497.

SACCO, J. C. Conceituação e terminologia relacionada à dormência de sementes. IN: **Curso de iniciação à pesquisa em análise sementes**, 1974, Pelotas. Universidade Federal de Pelotas, 1974. p. 20.

VERPOORTE, R. Secondary metabolism. In: Verpoorte, R. & Alfermann, A.W. Metabolic engineering of plant secondary metabolism. **Kluwer Academic Publishers, London**, p.1-29. 2000.



REGENERAÇÃO DE LOURO-PARDO POR MINIESTAQUIA

KIELSE, P.^{1*}; BISOGNIN, D.A.²; HEBERLE, M.¹; XAVIER, A.³; RAUBER, M.A.⁴; LENCINA, K.H.⁵

¹ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. * E-mail: paulakielse@yahoo.com.br

² Engenheiro Agrônomo, PhD, Departamento de Fitotecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Graduando em Engenharia Agrônômica, Departamento de Agronomia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Graduando em Engenharia Florestal, Departamento de Engenharia Florestal, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

⁵ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Departamento de Engenharia Florestal, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade do uso da miniestaquia para a regeneração de louro-pardo (*Cordia trichotoma* Vell.). A coleta dos brotos foi realizada em minijardim clonal constituído por minicepas formadas a partir de mudas seminal (seis e doze meses de idade) e de estaquia radicular com oito meses. Foram utilizadas três concentrações de solução nutritiva na fertirrigação do sistema. Para o enraizamento, as miniestacas foram tratadas ou não com 1000 mg L⁻¹ de ANA. A porcentagem de brotação, enraizamento e sobrevivência das miniestacas, o número e comprimento das raízes foram avaliados aos 30 dias. Para todos os parâmetros houve influência apenas do fator origem da minicepa. Miniestacas obtidas de minicepas formadas a partir de mudas produzidas por estaquia radicular apresentaram as maiores respostas morfogênicas. Foi possível produzir mudas de louro-pardo utilizando a técnica de miniestaquia.

Palavras-chave: *Cordia Trichotoma* Vell. Propagação vegetativa. Miniestaquia.

Introdução

No Brasil, a produção de mudas de espécies florestais nativas tem apresentado crescente demanda, tanto no uso em programas de reflorestamento e reposição florestal, quanto no suprimento de matéria



prima para o estabelecimento de plantios florestais comerciais. A busca constante por mudas de melhor qualidade e a redução dos custos de produção tem justificado o aumento demanda por pesquisas e desenvolvimento tecnológico. Para o *Eucalyptus* spp existe um amplo conhecimento científico do processo de produção de mudas, possibilitando a implantação de povoamentos com elevada qualidade. Já para espécies florestais nativas, as informações disponíveis sobre o melhoramento e a produção de mudas são escassas, o que tem limitado o seu avanço em termos silviculturais.

O louro-pardo (*Cordia trichotoma* Vell.) é uma das espécies florestais com maior potencial para o plantio com fins econômicos, por apresentar uma combinação de aspectos favoráveis, tais como o rápido crescimento, a boa forma de fuste e a madeira de excelente qualidade (Carvalho, 2003). Tratando-se de uma espécie nativa e de boa adaptação no sul do Brasil e, pelo pouco conhecimento silvicultural disponível, é importante que se iniciem estudos com a finalidade de conhecer sua fisiologia, auto-ecologia e silvicultura. No que se refere a produção de mudas existem poucos relatos sobre o uso da propagação vegetativa para a regeneração de louro-pardo. Em estudo de micropropagação, brotos de louro-pardo tratados com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido indolbutírico (AIB) combinado com $1,5 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado apresentaram 73% de enraizamento in vitro (Mantovani et al., 2001). Já microestacas postas a enraizar ex-vitro não formaram raízes mesmo com a utilização de 1000 mg L^{-1} de AIB (Fick et al., 2007). Em ápices caulinares de louro-pardo inoculados em meio de cultura acrescido de diferentes doses de BAP, a indução de brotos não foi influenciada pela citocinina, e não houve o enraizamento dos explantes em nenhum dos tratamentos com AIB (Heberle, 2010). Na macropropagação, a produção de mudas de louro-pardo tem sido realizada pela técnica de estaquia radicular (Kielse et al., 2010), que pela restrição de material vegetal torna-se inviável quando se pretende a produção massal de mudas.

A miniestaquia é uma técnica recente que vem sendo utilizada com sucesso no processo de propagação clonal de *Eucalyptus* spp., a qual



surgiu a partir do aprimoramento da estaquia, visando contornar as dificuldades de enraizamento adventício de alguns clones (Xavier e Wendling, 1998). A formação de raízes em estacas é um processo complexo, influenciado pela interação de fatores intrínsecos e extrínsecos à planta matriz. Em espécies lenhosas, a aptidão à propagação vegetativa está relacionada, dentre outros fatores, ao grau de juvenilidade dos propágulos, sendo observado um baixo potencial de enraizamento em estacas provenientes de árvores adultas (Hartmann et al., 2002). O fato dos minijardins clonais fornecerem propágulos com maior grau de juvenilidade, característica determinante para a viabilidade técnica da propagação vegetativa, tornou possível a produção massal de mudas de *Eucalyptus* spp., com elevada qualidade genética e fitossanitária. Para as espécies florestais nativas, ainda não foi possível o uso da miniestaquia para a produção massal de mudas, mas alguns estudos apontam ser uma técnica promissora (Xavier et al., 2003; Brondani et al., 2007; Lima et al., 2009; Silva et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a miniestaquia na regeneração de louro-pardo.

Metodologia

Este trabalho foi desenvolvido em outubro de 2010 no Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, pertencente ao Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Para a formação do minijardim clonal foram utilizadas mudas de louro-pardo de origem seminal, com seis meses e doze meses de idade, e mudas formadas pelo enraizamento de estacas radiculares com oito meses (Kielse et al., 2010). O manejo do minijardim foi realizado em bandejas de polietileno (55 x 34 x 15 cm) contendo areia de grossa como substrato, sob sistema fechado de cultivo. Cada bandeja foi composta por uma camada de brita média (4 cm), seguida de uma tela de polietileno (1mm²) e uma camada de areia (12 cm) (Figura 1). As bandejas possuem um tubo transversal de polivinil cloreto (PVC) de 2,5 cm de diâmetro, perfurado a intervalos de 15 cm, para distribuir a solução nutritiva no leito de cultivo.



Os minijardins clonais foram fertirrigados com solução nutritiva elaborada na concentração de 100% (SN₁), e diluídas para 75% (SN₂) e 50% (SN₃) da solução original. A solução completa foi constituída pelas seguintes quantidades de macronutrientes: 6,13 mmol L⁻¹ de Nitrato de potássio; 10,0 mmol L⁻¹ de Nitrato de cálcio (Calcinit); 16,78 mmol L⁻¹ de Sulfato de Magnésio; 1,44 mmol L⁻¹ de Nitrato de amônio; 1,39 mmol L⁻¹ de Monofosfato de potássio; e 1,68 mmol L⁻¹ de Ferro quelatizado 5%. Os micronutrientes foram adicionados à solução nutritiva (7,5 mL) em uma mistura previamente preparada contendo 0,15 mmol L⁻¹ de molibdato de sódio; 0,89 mmol L⁻¹ de ácido bórico; 1,25 mmol L⁻¹ de sulfato de cobre; 1,23 mmol L⁻¹ de sulfato manganês; e 0,28 mmol L⁻¹ de sulfato de zinco. A solução nutritiva foi fornecida uma vez por dia, durante 15 minutos, com o auxílio de um programador digital e uma bomba de baixa vazão (60W), até o completo encharcamento do substrato e formação de uma lâmina superficial de solução, a qual era drenada por dois orifícios, um situado na base e outro na parte superior da bandeja (Figura 1). A condutividade elétrica da solução foi mantida em 1 dS m⁻¹.

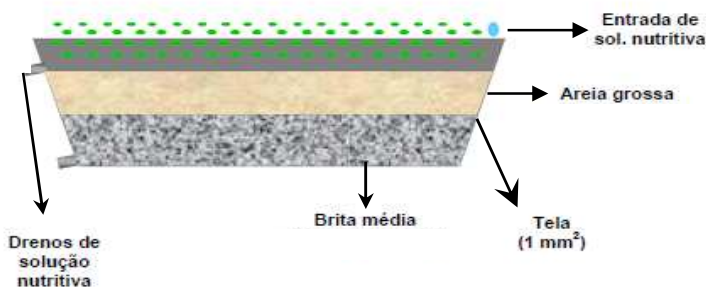


Figura 1 – Desenho esquemático do sistema fechado de cultivo conduzido em bandejas de polietileno (55 x 34 x 15 cm), com fertirrigação por inundação.



Para obtenção das miniestacas, após 10 dias do estabelecimento no sistema, as mudas foram podadas a uma altura de 6 cm de sua base, constituindo as minicepas fornecedoras dos propágulos. O espaçamento entre plantas foi de 10 x 10 cm. Aos 30 dias da poda do ápice foi realizada a primeira coleta (28/09/2010), e aos 60 dias a segunda coleta. O delineamento foi inteiramente casualizado, em fatorial 3 x 3 (concentração da solução nutritiva x origem da minicepa), com quatro repetições (minicepa) por tratamento. A produção de miniestacas por minicepa foi avaliada aos 30 e 60 dias.

Para o enraizamento, miniestacas com 3 cm de tamanho foram tratadas ou não com 1000 mg L⁻¹ de ANA, cultivadas em bandejas contendo substrato comercial a base de pinus, areia grossa e casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v/v), e mantidas em câmara úmida com umidade relativa do ar de aproximadamente 85%. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em fatorial 3 x 2 (origem da minicepa x aplicação de ANA), com três repetições de 10 miniestacas por tratamento. A porcentagem de brotação, enraizamento e sobrevivência das miniestacas, o número e comprimento das raízes (cm) foram avaliados aos 30 dias.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para a análise, os dados de porcentagem foram transformados para arcoseno $\sqrt{x/100}$ e de contagem e comprimento para $\sqrt{x+0,5}$.

Resultados e discussões

Para todos os parâmetros, a análise de variância indicou diferença significativa apenas para o fator minicepa. Para a produção de miniestacas por minicepa foi observado que na primeira coleta as minicepas formadas a partir de mudas com 12 meses de idade forneceram o maior número de miniestacas (Tabela 1). Já na segunda coleta, minicepas formadas pelas mudas produzidas por estaquia radicular tiveram uma maior produção, com 4,91 miniestacas por minicepa. Em estudo de miniestaquia de



Eucalyptus dun nii foi verificada uma queda na produção das minicepas da segunda coleta, justificada por um possível impacto da primeira coleta (Da Rosa, 2006). De encontro com esses resultados, em minicepas de louro-pardo foi observado o aumento na produção de miniestacas, sugerindo que a intensidade da primeira coleta foi adequada e não prejudicou a coleta subsequente.

Tabela 1 – Número de miniestacas de louro-pardo coletadas de minicepas formadas a partir de mudas produzidas por sementes e estaquia radicular, manejadas em sistema fechado e fertirrigado com diferentes concentrações de solução nutritiva, aos 30 dias da poda drástica.

Fonte de variação	Número de miniestacas/minicepa		
	1ª coleta	2ª coleta	Média
Minicepa			
Estaquia radicular	2,08ab	4,91a	3,49
Mudas 12 meses	3,41a	4,75a	4,08
Mudas 6 meses	1,41b	2,25b	1,83
Média	2,29	3,96	
CV (%)	29,03	7,74	

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

A produtividade média das minicepas formadas a partir de mudas com 12 meses de idade e pelas obtidas de mudas produzidas por estaquia radicular (3,49 e 4,08 unidades) (Tabela 1) pode ser considerada satisfatória em sistema de minijardim clonal, além disso, demonstra uma boa capacidade de emissão de brotações epicórmicas nas minicepas. Em sistema de minijardim clonal em tubetes plásticos de 200 cm³, com coletas realizadas a cada 30 dias, foram obtidas para o cedro-rosa (*Cedrela fissilis*



Vell.) 1,3 miniestacas por minicepa (Santos, 2002). Em estudo de miniestaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hill.) foi observada uma produção média de 4,4 miniestacas por minicepa, a cada 39 dias (Wendling et al., 2007).

Para os parâmetros porcentagem de brotação, número de brotos, porcentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento das raízes e sobrevivência das miniestacas foi verificada a influência apenas da minicepa. Para todos os parâmetros, miniestacas obtidas de minicepas formadas a partir de mudas produzidas por estaquia radicular apresentaram as maiores respostas (Tabela 2). Estes resultados podem ser explicados pelo maior grau de juvenilidade do material, possibilitando uma maior capacidade morfogenética das miniestacas. Em clones de *Eucalyptus grandis* foi observado o aumento no número de raízes e um maior vigor radicular quando estes eram submetidos a miniestaquia seriada (Wendling e Xavier, 2005), fato que reforça a influência da juvenilidade das miniestacas.

Quando comparadas as mudas de seis e doze meses, percebe-se uma redução drástica das respostas morfogênicas e sobrevivência de louro-pardo com o aumento da idade. Em estudo de miniestaquia de *Pinus taeda*, ao comparar o enraizamento de miniestacas coletadas de mudas com 60, 90, 120 e 150 dias foi observado um maior enraizamento do material proveniente de mudas mais jovens (Alcantara et al., 2007). Acredita-se que a diminuição na porcentagem de enraizamento com o aumento da idade das mudas, provavelmente, esteja relacionada com o baixo teor de auxina endógena, ou ainda, ausência de co-fatores do enraizamento ou presença de inibidores (Greenwood e Weir, 1994).

Minicepas formadas por mudas produzidas a partir de estaquia radicular mostraram-se mais adequada à propagação vegetativa de louro-pardo por miniestaquia, em detrimento daquelas obtidas por sementes. Em estudo de miniestaquia de louro-pardo (*Cordia trichotoma* Vell.) utilizando minicepas de origem seminal foi observado 97,5% de miniestacas brotadas, mas não houve enraizamento adventício em nenhum dos tratamentos utilizados (Ril et al., 2010). No presente estudo, as respostas



Tabela 2 – Respostas morfogênéticas e sobrevivência de miniestacas de louro-pardo coletadas de minicepas formadas a partir de mudas de origem seminal e assexuada, tratadas ou não com 1000 mg L⁻¹ de ANA, aos 30 dias de avaliação.

Fontes variação	PB (%)	NB	PE (%)	NR	CR (cm)	S (%)
Estaquia radicular	48a*	0,53a	37a	0,73a	2,46a	55a
Mudas 6 meses	30a	0,29a	15a	0,35a	0,91b	33a
Mudas 12 meses	5b	0,05b	2b	0,01b	1,20b	4b
Média	27	0,29	18	0,39	1,52	30
CV (%)	48,64	10,99	75,84	26,69	37,83	52,75

* Valores seguidos de letra diferente diferem-se pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. PB = porcentagem de brotação, NB = número de brotos, PE = porcentagem de enraizamento, NR = número de raízes, CR = comprimento das raízes, Sobrev. = sobrevivência.

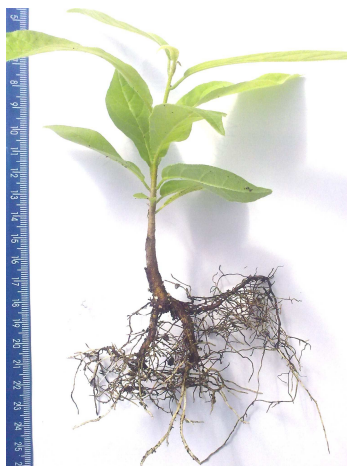


Figura 2 – Muda com seis meses de idade produzida por enraizamento de miniestaca de louro-pardo (*Cordia trichotoma* Vell.).



de brotação e enraizamento das miniestacas foram satisfatórias, sendo possível a obtenção de mudas de louro-pardo (Figura 2). Contudo, é importante a continuidade de estudos que elucidem os processos envolvidos no enraizamento adventício de miniestacas de louro-pardo, visando à maximização do processo de produção de mudas e a futura implementação da técnica.

Conclusão

A miniestaquia pode ser utilizada para a produção de mudas de louro-pardo.

Referências

ALCANTARA, G.B. de; RIBAS, L.L.F.; HIGA, A.R.; RIBAS, K.C.Z.; KOEHLER, H.S. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. Revista *Árvore*, Viçosa, v.31, n.3, p.399-404, 2007.

BRONDANI, G.E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E.L.; ROVEDA, L.F.; ORRUTÉA, A.G. Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaquia de erva-mate. *Scientia Agraria*, Curitiba, v.8, n.3, p.257-267, 2007.

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v.1, 2003. 1039p.

FICK, T.A.; BISOGNIN, D.A.; QUADROS, K.M.; HORBACH, M.A.; REINIGER, L.R.S. Estabelecimento e crescimento in vitro de plântulas de louro-pardo. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v.17, n.4, p.343-349, 2007.

GREENWOOD, M.S.; WEIR, R.J. Genetic variation in rooting ability of loblolly pine cuttings: effects of auxin and family on rooting by hypocotyls cuttings. *Tree Physiology*, Victoria, v.15, n.1, p.41-45, 1994.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. Plant propagation: principles and practices. 7.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p.

HEBERLE, M. Propagação in vitro e ex-vitro de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel). 2010. 76f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

KIELSE, P.; MAMBRIN, R.B.; HEBERLE, M.; BISOGNIN, D.A.; FREIG, F.D.; GNOCATO, F.S. Avanço nas pesquisas com louro-pardo visando à produção de mudas por propagação vegetativa. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS GRADUAÇÃO SUL BRASIL, 2010, Florianópolis. Anais... FLORIANÓPOLIS: I CICPG, 2010.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



LIMA, D.M. de; TANNO, G.N.; PURCINO, M.; BIASI, L.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; ZANETTE, F. Enraizamento de miniestacas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) em diferentes substratos. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, v.33, n.2, p.617-623, mar./abr., 2009.

MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E.T.H.; VESTENA, S. Regeneração in vitro de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 11, n. 2, p. 93-101, 2001.

RIL, F.L.; MANTOVANI, N.C.; FELIPPE, D. Uso do AIB na indução radicial de miniestacas de louro-pardo e bracatinga. In: 25ª **JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA**, 2010, Santa Maria. Anais... Santa Maria: UFSM, 2010.

ROSA, L.S. da. Adubação nitrogenada e substratos na miniestaquia de *Eucalyptus dunnii* Maiden. 2006. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Paraná.

SILVA, R.L. da; OLIVEIRA, M.L. de; MONTE, M.A.; XAVIER, A. Propagação clonal de guanandi (*Calophyllum brasiliense*) por miniestaquia. *Agronomía Costarricense*, Costa Rica, v.34, n.1, p.99-104.

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.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, Viçosa, v.29, n.5, p.681-689, 2005.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.27, n.3, p.351-356, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I. Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus*. *Informativo Técnico SIF*, Viçosa, 1998. 10p. (*Informativo Técnico SIF*, 11).



RESUMO DAS APRESENTAÇÕES

PERSPECTIVAS DO MELHORAMENTO GENÉTICO NO BRASIL

SOUZA Jr., C. L.

¹Professor Titular. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Departamento de Genética-ESALQ/USP, Piracicaba, SP, Brasil. clsouza@esalq.usp.br

Introdução

O crescente aumento na população nacional e internacional e em sua renda impulsiona a crescente demanda por maior quantidade e qualidade de alimentos, fibras e outros produtos de origem agrícola. Devido a sua vocação agrícola, a produção de grãos, fibras, sucos, frutas, fibras etc., o Brasil encontra-se em uma posição nacional e internacional privilegiada, pois, atualmente, cerca de aproximadamente 30% do PIB é derivado do agronegócio. Segundo a FAO, até o ano de 2050 o mundo deverá produzir mais de um bilhão de toneladas de milho e oleaginosas, sendo que até este ano, o aumento da produção mundial deverá ser de 47% para o milho, 80% para as oleaginosas, 75% de açúcar, 23% de arroz, e 69% de carne para atender a crescente demanda. Quatro quesitos deverão ser considerados na produção de alimentos e que impacta diretamente o melhoramento genético vegetal: (i) a demanda por alimentos e demais produtos de origem agrícola continuará a crescer de forma considerável nas próximas décadas; (ii) a capacidade de exploração de novas áreas no país praticamente esgotou-se; (iii) a pressão pela manutenção da qualidade ambiental deverá permear as atividades agrícolas; (iv) os impactos dos efeitos do aquecimento global na agricultura.



Neste contexto, o melhoramento genético vegetal poderá contribuir de forma fundamental, pois para atender os três primeiros quesitos será necessário aumentar contínua e progressivamente a produtividade, enquanto que os efeitos do aquecimento global poderão se mitigados com o desenvolvimento de cultivares tolerantes a estresses abióticos, principalmente déficits hídricos e de temperatura. Os resultados obtidos no passado com o desenvolvimento de cultivares mostra que podemos ser otimistas com relação à sua contribuição para atender a crescente demanda por qualidade e quantidade, sem impactar o meio-ambiente e mitigar os efeitos do aquecimento global.

Considerando como exemplo histórico apenas três espécies produtoras de grãos o arroz, milho e soja, podemos verificar o impacto do melhoramento genético na produção e produtividade agrícola. Tomando como referência os anos agrícolas de 1976/1977 e de 2009/2010, ou seja, 33 anos, pode-se verificar em termos anuais que a área cultivada com arroz diminuiu -3,56%, a produção aumentou 0,90% e a produtividade aumentou 5,49%; para o milho estas taxas foram de 0,30%, 5,78% e 4,98%; e para a soja estas taxas foram de 7,20%, 14,11% e 2,04%. Em termos totais, para o arroz a área cultivada diminuiu de 6,00 para 2,76 milhões de ha, a produção aumentou de 8,99 para 11,66 milhões de toneladas e a produtividade aumentou de 1,50 para 4,22 t ha⁻¹; para o milho a área cultivada aumentou de 11,80 para 12,99 milhões de ha, a produção aumentou de 19,26 para 56,02 milhões de toneladas e a produtividade aumentou de 1,63 para 4,31 t ha⁻¹; para a soja a área cultivada aumentou expressivamente de 6,95 para 23,47 milhões de ha, a produção aumentou de 12,14 para 68,69 milhões de toneladas e a produtividade aumentou de 1,75 para 2,93 t ha⁻¹ (Conab, 2011). Com exceção da soja, em que ocorreu um aumento expressivo na área cultivada, nas outras duas espécies o aumento foi modesto e até diminuiu. É importante ressaltar que estes dados não se referem a dados experimentais, mas de agricultores em nível nacional.

Diversos autores têm mostrado que a contribuição do melhoramento genético para o aumento da produtividade varia de 50% a



70% para diversas espécies (Fehr, 1984). Utilizando-se o patamar inferior, isto é, que 50% do aumento da produtividade foi devido ao melhoramento genético, a contribuição deste para o aumento registrado em termos anuais foi de 2,74% para o arroz, 2,49% para o milho e 1,02% para a soja e, em termos acumulados, estes aumentos correspondem a 90,42% para o arroz, 82,17% para o milho e 33,66% para a soja. Desta forma, pode-se constatar, para estas espécies tomadas como exemplo, que a contribuição do melhoramento foi expressiva. Apesar de estes valores variarem muito entre as espécies cultivadas, pode-se generalizar que o melhoramento genético é uma atividade essencial para assegurar o aumento da produtividade e atender a crescente demanda interna e externa por mais alimentos, assegurar a sustentabilidade da agricultura, reduzir os impactos ambientais e mitigar os efeitos adversos do aquecimento global. É oportuno citar os trabalhos de Vencovsky e Ramalho (2006) e de Fehr (1984), onde para diferentes culturas mostram os aumentos na produtividade e a contribuição do melhoramento genético nestes aumentos.

Desenvolvimento

O melhoramento genético vegetal tem sido definido por alguns autores como a “ciência e arte” de desenvolver cultivares que apresentem performances superiores que aqueles que estão em uso pelos agricultores, os quais devem atender as necessidades de agricultores, processadores e consumidores. O melhoramento genético, desde os primórdios do século passado, tem se fundamentado fortemente em duas disciplinas: Genética e Estatística. A primeira por motivos óbvios, uma vez que só é possível praticar melhoramento com conhecimentos sobre a herança dos caracteres que estarão sob seleção e de suas interrelações; e a segunda, também, por motivos óbvios, pois os estudos de herança dos caracteres dependem do conhecimento de estatística e experimentação e, ademais, a seleção de genótipos superiores depende de delineamentos estatísticos e de suas análises. Naturalmente, o conhecimento de outras disciplinas agrônômicas tem posição fundamental nos programas de melhoramento. Assim, apesar de diversos autores considerarem o melhoramento como



“arte”, esta não se sustenta. O que deve ter sido considerado “arte” por estes autores seria a experiência que estes adquiriram ao longo dos anos com a espécie cultivada que trabalharam. O melhoramento genético sustenta-se em conhecimentos científicos advindos da formação agrônoma e dos conhecimentos de genética e estatística. No decorrer deste período, do início do século passado até o presente, novas conhecimentos científicos foram descobertos e alguns destes foram incorporados ao melhoramento genético vegetal, mas estes se baseiam, também, em Genética e Estatística.

Apenas um exemplo pode mostrar a importância destas disciplinas e que impactaram fortemente o melhoramento de uma das espécies mais cultivadas no mundo, o milho. Por volta do final da década de 1940 e início da década de 1950, após os lançamentos dos primeiros híbridos duplos de milho, os novos híbridos não apresentavam performances superiores aos que os antecederam. Surgiram, então, algumas hipóteses para explicar este fato, como a de que a variabilidade genética havia se esgotado e, portanto, a produtividade havia atingido um plateau; e outra em que o grau de dominância dos genes que controla a produção de grãos era de sobredominância e, portanto, a forma como o desenvolvimento de híbridos era realizado não era a mais adequada. Para testar estas hipóteses, Comstock e Robinson (1948; 1952), propuseram alguns delineamentos genético-estatísticos para obter informações sobre o nível de variabilidade genética e do grau de dominância envolvido na expressão do caráter produção de grãos em milho. Estes delineamentos foram utilizados por diversos pesquisadores os quais verificaram que: (i) a quantidade de variabilidade genética presente em diversas populações de milho era de tal magnitude que não impedia o desenvolvimento de cultivares; (ii) o grau médio de dominância para produção de grãos estava próximo da dominância completa e, portanto, a hipótese da sobredominância foi descartada. Então, qual o problema? Qual o motivo que os novos cultivares não eram superiores aos já desenvolvidos? O problema estava relacionado com a amostragem que era realizada de forma sucessiva nas mesmas populações, isto é, as mesmas populações eram utilizadas e reutilizadas para a obtenção de linhagens para a produção de híbridos.



Reconheceu-se, portanto, que estas populações, da forma como se encontravam, não eram adequadas para se obter híbridos superiores aos existentes e que estas deveriam ser submetidas à seleção de forma a aumentar as frequências dos alelos favoráveis antes de serem utilizadas como fonte de novas linhagens e híbridos, daí, então, surgiu a tecnologia denominada de Seleção Recorrente (Hallauer e Miranda Filho 1988; Hallauer et al. 1988). Existem diversos outros exemplos, mas este mostra como os conhecimentos de genética e estatística são fundamentais para o melhoramento genético vegetal.

Assim, este exemplo, muito conhecido, mostra que o melhoramento vegetal só pode ser realizado de forma eficiente por Engenheiros Agrônomos e Engenheiros Florestais que tenham formação adequada em Genética e Estatística para possibilitá-los a desempenhar suas funções, ou seja, o desenvolvimento de novos cultivares, com sucesso. Como estes são os agentes promovedores desta atividade, as perspectivas de continuarmos tendo sucesso no melhoramento vegetal irá depender da formação destes profissionais, nas quais as Universidades desempenham papel fundamental.

Entretanto, a formação atual e futura de recursos humanos para atuarem como melhoristas deverá sofrer uma transformação adequada, uma vez que a introdução de técnicas biotecnológicas e estatísticas nos programas de melhoramento induz a modificações nos programas de melhoramento. Os programas de melhoramento sempre foram multidisciplinares, principalmente com a participação de fitopatologistas e entomologistas, mas com a introdução de ferramentas biotecnológicas no melhoramento, novos tipos de pesquisadores formarão parte das equipes de melhoramento. É necessário que os melhoristas sejam capazes de compreender e se entender com os demais membros da equipe multidisciplinar para os programas de melhoramento sejam os mais eficientes possíveis. Citando apenas um exemplo, houve e ainda há por parte de melhoristas ceticismo sobre o uso de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar para o melhoramento; entretanto, o seu uso em programas de retrocruzamentos para introdução de genes de efeitos



expressivos, piramidamento de genes e alocação de linhagens em grupos heteróticos distintos, tornou-se rotina em grande parte de programas de melhoramento, principalmente os de instituições privadas. Há quase uma década os programas de melhoramento animal estão utilizando uma técnica denominada de Seleção Genômica Ampla (Meuwissen et al. 2001), baseada nos valores genotípicos dos marcadores moleculares, mas a aplicação desta técnica no melhoramento vegetal é recente e os resultados têm mostrado que esta técnica pode ser utilizada com muita eficiência no melhoramento vegetal (Bernardo e Yu 2007).

Naturalmente, novas técnicas poderão advir e ter relevância nos programas de melhoramento. Assim, a formação dos melhoristas deve ser de tal forma que possibilite que os mesmos possam se auto-reciclar, ou seja, tenham uma sólida formação básica para que possam assimilar e utilizar os novos conhecimentos que poderão surgir. Entretanto, é preciso ressaltar que devido às influências ambientais, e interações genótipos x locais, genótipos x anos, o laboratório do melhorista é e continuará a ser o campo. Portanto, a avaliação de genótipos em experimentos com repetições em diversos locais e anos sempre será indispensável. Há uma enorme preocupação com a formação atual de melhoristas, uma vez que as Universidades e Instituições de Fomento estão priorizando as pesquisas biotecnológicas em detrimento dos programas de melhoramento. Já estamos com déficits de melhoristas no país e este deverá aumentar substancialmente nos próximos anos. Assim, apesar de o melhoramento genético vegetal ser uma atividade essencial para a sustentabilidade do agronegócio brasileiro, este poderá vir a enfrentar dificuldades por falta de profissionais habilitados para o necessário desenvolvimento de cultivares que apresentem maior produtividade, maior resistência/tolerância a fatores bióticos e abióticos, melhor qualidade de produtos etc.

Considerações finais

O melhoramento genético vegetal deverá continuar contribuindo de forma significativa para o aumento da produtividade. Ademais, através deste, problemas ambientais e os efeitos advindos do aquecimento global poderão ser mitigados. Entretanto, o país deve dar atenção especial na



formação dos futuros melhoristas e priorizar ações para o aumento do número destes profissionais para atender a crescente demanda.

Referências

BERNARDO, R.; Yu, J. 2007. Prospects for genome-wide selection for quantitative traits in maize. *Crop Sci.* 47:1082-1090.

CONAB-SÉRIES HISTÓRICAS. Disponível em www.conab.gov.br. Acesso em maio de 2011.

COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. 1948. The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. *Biometrics* 4:254-266.

COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. 1952. Estimation of average dominance of genes.

pp.494-516. In: Gowen, J.W. (Ed.). **Heterosis**. Iowa State College Press, Ames, IA.

FEHR, W.R. 1984. **Genetic Contributions to Yield Gains of Five Major Crop Plants**. CSSA Spec. Publi. 7. ASA, CSSA, and SSSA.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J. B. (1988). **Quantitative Genetics in Maize Breeding**. 2nd edn. Iowa State University Press.

HALLAUER, A.R.; RUSSELL, W.A.; LAMKEY, K.R. 1988. Corn Breeding. In: Sprague, G.F. e Dudley, J.W. (Eds.). **Corn and Corn Improvement**. ASA, CSSA e SSSA.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.

VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M.A.P. (2006). Contribuições do melhoramento genético no Brasil. In: Paterniani, E. (Ed.). **Ciência, Agricultura e Sociedade**.



A AMPLIAÇÃO DOS CULTIVOS CLONAIS E DA DEMANDA POR MUDAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS

WENDLING, I.¹; PINTO JÚNIOR, J. E.²

¹ Engenheiro Florestal, Doutor, pesquisador da Embrapa Florestas, Colombo, PR.
ivar@cnpf.embrapa.br

² Engenheiro Florestal, Doutor, Pesquisador da Embrapa Florestas, Colombo, PR.
zeito@cnpf.embrapa.br

Introdução

Nas últimas décadas, tem-se assistido a um constante aumento no interesse pelos plantios clonais, principalmente decorrente tanto das vantagens do processo quanto da possibilidade em se contornar problemas de doenças, heterogeneidade e produtividade dos plantios florestais. A área dos plantios clonais vem ampliando cada vez mais em todo o território brasileiro, graças à disponibilidade de clones selecionados para as mais diversas regiões e propósitos comerciais, aliado a um custo competitivo. Além disso, têm possibilitado a implantação de projetos de reflorestamento em áreas até então não indicadas, dada a limitação de material genético via seminal para atender a tal propósito.

Diante do crescente interesse pelo uso de clones nos projetos florestais, tanto pelas grandes empresas quanto pelos pequenos produtores, têm-se percebido consideráveis avanços tecnológicos nos processos de seleção, de clonagem de árvores e nas práticas silviculturais adotadas na implantação e condução dos plantios florestais. Em função da importância dos plantios clonais, a denominação “silvicultura clonal” tem sido empregada para designar o conjunto de técnicas silviculturais adotadas num programa de implantação e manejo de uma floresta clonal (Xavier et al., 2010). Desta forma, em termos gerais, a “silvicultura clonal” pode ser caracterizada como a que compreende todo o processo de formação de uma floresta clonal, desde a seleção da árvore superior,



multiplicação vegetativa, avaliação de árvores selecionadas em teste clonal, produção de mudas, até o estabelecimento e manutenção de uma floresta clonal (Xavier et al., 2010).

Desenvolvimento

No Brasil, as plantações clonais de espécies florestais são formadas basicamente com plantas do gênero *Eucalyptus*, as quais têm aumentado consideravelmente nas últimas décadas. Em termos gerais, o plantio de clones é justificado por: 1) uniformidade dos plantios, possibilitando maior controle sobre a qualidade dos produtos; 2) aproveitamento de combinações genéticas raras, tais como híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*; 3) maximização do ganho em produtividade silvicultural e de qualidade tecnológica da madeira em uma única geração de seleção; 4) possibilidade de contornar problemas de doenças, como “cancro” (*Cryphonectia cubensis*); 5) possibilidades de duas, três e quatro rotações economicamente viáveis; 6) custo acessível e competitivo às empresas; 7) experiências já comprovadas na silvicultura convencional; e 8) opções de técnicas de propagação vegetativa em aprimoramento nas diversas áreas da ciência. A silvicultura clonal com *Eucalyptus* no Brasil constitui-se em uma das mais evoluídas do mundo e já se encontra bem estabelecida e os resultados verificados em campo têm levado à sua implementação de forma intensiva em diferentes regiões do mundo.

Um dos grandes motivadores da ampliação dos plantios clonais florestais no Brasil foi a existência de grandes áreas com condições edafoclimáticas adequadas para o seu estabelecimento, aliado ao desenvolvimento tecnológico acelerado nas áreas de silvicultura, melhoramento genético e clonagem. Em termos de desenvolvimento tecnológico, por exemplo, pode-se citar que, na década de 1970 a produtividade média dos plantios de *Eucalyptus* nas empresas verticalizadas variavam de $17 \text{ a } 30 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ (Ferreira, 1992), enquanto que atualmente produtividade média de $44 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ tem sido obtida



por essas empresas florestais, com potencial de atingirem até $70 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ (Bracelpa, 2011).

Em termos de áreas plantadas, ainda não se possuem estatísticas específicas com relação ao montante de florestas clonais de eucalipto no Brasil. As últimas estimativas considerando o plantio total de eucalipto e pinus demonstram um plantio anual ao redor de 290,7 mil ha (média dos últimos 4 anos), ao invés dos necessários 630 mil anuais preconizados pela Sociedade Brasileira de Silvicultura (Anuário Estatístico da Abraf, 2010), sendo que destes, estima-se um total de 70% esteja relacionado a plantios com clones. Os primeiros plantios clonais se concentraram nas regiões Sul e Sudeste e, atualmente, cada vez mais tem ocorrido uma significativa expansão para todo Brasil, principalmente para as regiões Centro-oeste e Nordeste. Estas últimas têm um grande potencial de crescimento, em vista, principalmente, das condições climáticas mais favoráveis a altas produtividades, além da necessidade urgente de substituição da matriz energética ainda muito baseada em espécies nativas.

Em termos de mundo, visto as limitações de área e condições edafoclimáticas menos favoráveis, está ocorrendo a transferência do centro de gravidade do negócio florestal relacionado a florestas plantadas do Norte (América Central / Norte e Europa) para o Sul (América do Sul, África e Ásia) (Global Forest Resources Assessment, 2005). Assim sendo, estas últimas são as grandes regiões contempladas e a serem contempladas com o aumento dos plantios florestais, sendo definidas como novos eixos de produção e consumo, o que tem sido benéfico e gerado impactos, oportunidades e desafios ao Brasil. Aliado a isso, tem-se a situação atual, onde somente em torno de 7% de todas as florestas brasileiras são destinadas a produção, em comparação com 14% para toda América do Sul, 39% para Ásia, 52% para Europa, 19% para América Central e 14% para as Américas Central e do Norte (Global Forest Resources Assessment, 2010). Isto reforça o grande potencial de aumento de área de florestas plantadas que tem no Brasil.



Em termos de Brasil, percebe-se uma nova geografia de producao florestal, passando pela interiorizacao da industria, insercao do pequeno e medio produtor na cadeia produtiva florestal, bem como, a aceitacao do componente florestal na propriedade rural em vista, principalmente, dos sistemas de ILPF (Integracao Lavoura Pecuaria e Floresta). Cenarios tendenciais e normativos indicam um aumento da area plantada de florestas e, consequentemente de florestas clonais, pelo crescente aumento da demanda por produtos de origem florestal, bem como, pela menor disponibilidade de florestas naturais para exploracao visando a producao de carvao e outros produtos florestais, aliado a maior cobranca da legislacao ambiental em vigor. Estima-se que, na regio do Cerrado de MG, um dos Estados que lideram a producao de carvao vegetal no Pais e que comporta cerca de 70 siderurgicas movidas a carvao vegetal, pelo menos 50% do carvao que as abastece seja provenientes de matas nativas (Calais, 2009; Focus/Visao Brasil, 2010).

No Brasil tem-se atualmente 6,78 milhoes de ha de florestas plantadas, sendo o eucalipto responsavel por cerca de 66,58 % desse total (Anuario Estatistico da Abraf, 2010), o que demonstra um grande potencial de crescimento, uma vez que isto representa em torno de 1,8 % da area agricultavel do Pais (Ipam, 2009). De acordo com a Sociedade Brasileira de Recuperacao de Areas Degradadas, existem cerca de 200 milhoes de hectares degradados no Pais, decorrentes da mineraacao, construcao de estradas, hidroeltricas e represas, areas industriais e outras atividades (Sobrade, 2011). O Ministerio do Meio Ambiente vem divulgando uma estimativa atual de mais de 80 milhoes de hectares de areas degradadas com o extrativismo vegetal e atividades da agropecuaria, dentre outras (Mercado do Cacau, 2011). Somente em termos de areas de pastagens degradadas, segundo Bolfe (2010), existem estimativas entre 20 a 40 milhoes de hectares. Tudo isso demonstra o grande potencial de uso dessas terras marginalizadas pelo setor de florestas plantadas.

As florestas plantadas no Brasil hoje se concentram basicamente em especies de eucalipto e pinus e, quando se aborda plantios clonais, e fato a concentracao quase que total em eucalipto. Para dar suporte a



ampliação dos plantios clonais de eucalipto, vislumbra-se a necessidade de avanços tecnológicos relacionados, principalmente, ao desenvolvimento e disponibilização de clones para usos múltiplos e acessíveis para pequenos e médios produtores. Além disso, os protocolos de clonagem de espécies e, ou híbridos não tradicionais também precisam ser desenvolvidos e, ou melhorados. Para a implementação dos plantios clonais de pinus no Brasil, vislumbra-se a necessidade de desenvolvimento de métodos de resgate de árvores adultas selecionadas, o desenvolvimento e disponibilização de novas espécies e híbridos (principalmente para condições tropicais), além de protocolos eficientes de clonagem *in vitro* e *ex vitro*.

As tendências indicam o aumento das pressões no sentido de busca de novas espécies para a silvicultura brasileira e, neste contexto, materiais genéticos de espécies alternativas (nativas e introduzidas) deverão ser disponibilizados em curto espaço de tempo. Os plantios clonais de seringueira tenderão a aumentar pela maior valorização da borracha no mercado mundial, bem como, em vista da valorização da madeira serrada da espécie e da necessidade atual de renovação de muitos seringais. Em espécies como teca e erva-mate, os plantios clonais tendem a aumentar em vista, principalmente, dos protocolos de clonagem já se encontrarem disponíveis atualmente, aliado as novas percepções de vantagens associadas ao processo clonal. Outras espécies florestais, como guanandi, araucária, grevilea, paricá e liquidâmbar, por exemplo, ainda encontram-se em fase de desenvolvimento dos protocolos de clonagem e disponibilização de materiais genéticos adaptados a condições brasileiras e, dentro de poucos anos, serão opções para ampliação do número de espécies utilizadas na silvicultura clonal brasileira.

Considerações finais

De tudo que foi abordado, é evidência clara a existencia de cenários positivos para ampliação dos plantios clonais no Brasil e, conseqüentemente, do aumento pela demanda de mudas de clones superiores. Por outro lado, é claro o aumento das pressões no sentido de desenvolvimento e disponibilização de novos materiais genéticos e



espécies florestais alternativas para a silvicultura clonal brasileira. Para tanto, inúmeros desafios científicos, tecnológicos e de transferência de tecnologia precisam ser abordados e superados, incluindo-se a necessidade premente de parceiros efetivos para avaliação de novas espécies e sistemas clonais.

Referências

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DA ABRAF: ano base 2008 Brasília, DF: ABRAF, 2009. 127 p.

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DA ABRAF: ano base 2009. Brasília, DF: ABRAF, 2010. 136 p.

BOLFE, E. L. Monitoramento geoespacial de áreas degradadas. Terceira Semana de Geomática. Santa Maria. 2010. Disponível em: <http://200.132.36.199/3smgeo/videos/14/Bolfe.pdf>. Acesso em 26 de abril de 2011.

BRACELPA – Associação Brasileira de Celulose e Papel. Dados do setor, março de 2011. São Paulo. Disponível em: <http://www.bracelpa.org.br/bra/estatisticas/pdf/booklet/booklet.pdf>. Acesso em 26 de abril de 2011.

CALAIS, D. Florestas energéticas no Brasil: demanda e disponibilidade. Belo Horizonte. Associação Mineira de Silvicultura, 2009. 23 p. Disponível em: http://www.silviminas.com.br/Publicacao/Arquivos/publicacao_585.pdf. Acesso em 27 de abril de 2011.

FERREIRA, M. Melhoramento e a silvicultura intensiva clonal. Piracicaba. IPEF, n.45, p. 22-30, jan./dez.1992.

FOCUS/VISÃO BRASIL – Florestas plantadas: conciliando a produção com a conservação, 2010. Disponível em: http://www.visaobrasil.org/wp-content/uploads/2010/09/focus_julho2010_florestas.pdf. Acesso em 27 de abril de 2011.

Global Forest Resources Assessment 2005. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/A0400E/A0400E00.pdf>. Acesso em 26 de abril de 2011.

Global Forest Resources Assessment 2010. Disponível em: <http://www.fao.org/forestry/fra/fra2010/en/>. Acesso em 26 de abril de 2011.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



IPAM - Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia. Disponível em: <http://www.climaefloresta.org.br/noticias/Brasil-tem-ate-43-de-area-agricultavel/299>. Acesso em 26 de abril de 2011.

MERCADO DO CACAU. Governo cede para aprovar Código. 2011. Disponível em: http://www.mercadodocacau.com.br/2010/noticia/Governo_cede_para_aprovar_C%C3%B3digo_. Acesso em: 27 de abril de 2011.

Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas – SOBRADE. Curitiba. 2011. Disponível em: http://www.sobrade.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=15&Itemid=38. Acesso em 27 de abril de 2011.



O MELHORAMENTO FLORESTAL E A PROPAGAÇÃO VEGETATIVA NOS NOVOS CENÁRIOS

HIGA, A.R.¹; HIGA, R.C.V.²; IKEDA, A.C.³

¹ Eng. Ftal., Ph.D. Professor da UFPR, Curitiba, PR. antonio.higa@gmail.com

² Eng. Agr., Dr. Pesquisadora da Embrapa, Colombo, PR. rhiga@cnpf.embrapa.br

³ Biol., doutoranda UFPR, Curitiba, PR. angela.ikeda@gmail.com

Novos cenários para as plantações florestais no Brasil

A área com plantações florestais com finalidades comerciais no país em 2009 era de 6,3 milhões de ha, dos quais as espécies e híbridos do gênero *Eucalyptus* representavam mais de 70% (Abraf, 2010). Estas plantações de eucaliptos eram, na maioria, baseadas em mudas clonadas, via miniestaquia, de poucos clones selecionados em testes clonais estabelecidos em grandes empresas florestais.

O uso da clonagem massal trouxe um aumento significativo tanto na produtividade volumétrica como no IMACel (unidade de medida do incremento médio anual de celulose por hectare) nestes últimos cinquentena. Esses resultados, frutos de investimentos em pesquisas, principalmente pelas empresas privadas vinculadas às indústrias de celulose e papel, em parceria com as universidades e instituições de pesquisas, têm sido tão significativos que, atualmente, até os pequenos produtores rurais, têm mostrado interesse crescente no plantio de florestas clonais.

Por um lado este interesse é salutar pois, quando a pequena propriedade rural está localizada na mesma região edafoclimática onde o clone foi selecionado e, o produtor adota técnicas silviculturais semelhantes às usadas pela empresa, a produtividade é semelhante. No entanto, é importante salientar que o plantio de clones em locais onde eles



não foram testados e selecionados, não significa, necessariamente, maior produtividade ou rentabilidade ao produtor.

Esta situação tornar-se-á mais desafiadora, se considerarmos as metas do Governo Federal de “aumentar a área com plantações florestais com finalidades produtivas para 11 milhões de ha até 2020, incluindo dois milhões de ha com espécies nativas (Sfb, 2010). Além disso, o Governo Federal prevê que a expansão das áreas com plantações florestais deverá ocorrer em áreas de pastagens degradadas. Nestes tipos de áreas, os clones inter-específicos de eucaliptos têm apresentado melhor produtividade em função da possibilidade de combinar qualidades adaptativas de diferentes espécies.

Semelhantemente aos eucaliptos, os resultados recentes de testes clonais estão indicando a tendência da silvicultura clonal substituir, também, as plantações com finalidades comerciais originadas de sementes de *Pinus taeda* e *Acacia mearnsii*, outras duas espécies mais plantadas no Brasil.

No caso da meta governamental de estabelecer duzentos mil ha anuais com plantações com finalidades produtivas com espécies nativas nos próximos dez anos (Sbf, 2010), teremos uma situação onde a demanda anual de aproximadamente 400 milhões de mudas de algumas espécies só poderá ser atendida através do uso da clonagem massal, pois não há matrizes marcadas em quantidades suficientes para atender esta demanda de mudas. Deve ser salientado que a demanda de mudas de espécies nativas não inclui as mudas que serão usadas para restauração de Reserva Legal e APPs – Áreas de Preservação Permanente. Nesses dois casos, a estimativa de demanda de mudas dependerá das possíveis mudanças no atual Código Florestal, que estão sendo discutidas atualmente pelo Congresso Nacional. De acordo com um estudo liderado pelo Banco Mundial em parceria com várias instituições brasileiras (Gouvello et al., 2010), caso não haja mudanças, serão necessários recuperar aproximadamente 44 milhões de ha de Reserva Legal no país. Esta área é equivalente a seis vezes a área existente com plantações florestais.



Com base no exposto acima pode-se concluir que a produção de mudas florestais poderá ser um fator limitante para atender as metas estabelecidas pelo Governo Federal, não só para a restauração das Reservas legais e APP's- Áreas de Preservação Ambiental, como também, para o estabelecimento de plantações de algumas espécies florestais nativas para finalidades produtivas.

Outros aspectos a serem considerados no planejamento de um programa de melhoramento genético de espécies florestais são os diferentes cenários resultantes das mudanças climáticas globais, que podem ocorrer até 2100, propostos pelo IPCC (Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas) em 2007. O cenário mais pessimista (A2) estima um aumento de temperatura entre 2°C e 5,4°C até 2100, e cenário um pouco mais otimista (B2) prevê um aumento de temperatura entre 1,4°C e 3,8°C em 2100.

De acordo com Deconto (2008), o comportamento fisiológico das plantas é prejudicado por altas temperaturas. A fotossíntese, que pode ser beneficiada com a maior quantidade de gás carbônico disponível na atmosfera, tende a decrescer gradualmente, na maioria dos vegetais, a partir de temperaturas menores que 22°C e maiores que 40°C. Acima de 40°C, os estômatos (estrutura na superfície das folhas onde ocorre a troca de gases com a atmosfera) se fecham, interrompendo a fotossíntese. Por causa disso, ondas de calor que geram temperaturas do ar acima de 34°C durante três ou quatro dias consecutivos acabam sendo altamente danosas às culturas agrícolas. Se esses índices térmicos ocorrem na fase de florescimento das plantas, as flores morrem.

Além disso, o mesmo autor cita que o aumento da temperatura promove um crescimento da evapotranspiração (perda de água por evaporação do solo e transpiração das plantas) e, conseqüentemente, um aumento na deficiência hídrica, o que vai provocar um aumento de áreas com alto risco climático. Com exceção dos locais que hoje sofrem com geadas, em especial a região Sul do país e alguns pontos a sudeste e a sudoeste do Brasil – e que por isso terão vantagens com o aquecimento



global.— todas as demais terão uma diminuição de áreas de baixo risco para a maior parte das culturas.

O desmatamento é a principal causa do aquecimento global no Brasil. Deconto (2008) destaca o aproveitamento de cerca de 100 milhões de hectares de pastos degradados existentes hoje no país, como uma das soluções a médio e longo prazo para atender a demanda de terras para expansão agrícola e de plantações florestais e evitar o desmatamento. Em paralelo, é possível adotar sistemas que sejam capazes de sequestrar carbono da atmosfera. Algumas sugestões consideradas bastante viáveis, citadas por Deconto (2008), são integrar em uma mesma área pecuária e lavoura, usar sistemas agroflorestais ou agrossilvopastoris, adotar cada vez mais o sistema de plantio direto e reduzir o uso de fertilizantes à base de nitrogênio. Em termos de adaptação ao problema, o autor comenta que pesquisas visando obter plantas mais aptas às condições climáticas desfavoráveis estão sendo desenvolvidas usando técnicas de melhoramento genético, incluído geração de novos transgênicos.

Este trabalho discute alguns aspectos relacionados ao uso da propagação vegetativa no melhoramento florestal, nos novos cenários da silvicultura de plantações florestais no Brasil.

Contribuição do melhoramento florestal e da propagação vegetativa no atendimento das metas estabelecidas pelo governo federal

Há cinco anos atrás, Assis (2006) destacava que a produtividade das plantações de eucaliptos que, na década de 1960, não passava dos 15 m³/ha/ano tinha, no mínimo, triplicado, no mesmo clima e qualidade dos solos. O autor destacava duas tecnologias que contribuíram de forma decisiva para atingir esses avanços: a produção de híbridos interespecíficos e a clonagem. Estas tecnologias são frutos do esforço, da competência e da criatividade dos pesquisadores e cientistas brasileiros, em todos os segmentos técnicos da produção de florestas. O mesmo autor destacava, ainda, que 84,5% dos plantios clonais de eucaliptos eram constituídos de híbridos e a tendência é de que a silvicultura clonal predominaria nos próximos anos.



Esta previsão está sendo confirmada para os eucaliptos e, conforme já salientado anteriormente, observa-se, atualmente, a mesma tendência com outras espécies como o *Pinus taeda* e *Acacia mearnsii*.

A silvicultura clonal é, também, uma estratégia de curto prazo para produção de madeira de eucaliptos para produção de madeira para serraria e laminação. Isso porque, de acordo com Assis (2009), as características tecnológicas da madeira de híbridos interespecíficos de eucaliptos apresentam herança tipicamente aditiva, onde as médias dos híbridos são intermediárias em relação aos valores das espécies progenitoras. A faixa de variação observada nos valores assumidos pelas características tecnológicas dos indivíduos híbridos permite que sejam selecionadas árvores com valores próximos e superiores à média da espécie de menor valor, ou próximos e inferiores à média da espécie de maior valor. Isto torna possível projetar tecnologicamente a madeira de árvores candidatas a serem selecionadas em programas de melhoramento para finalidades industriais.

Assis (2009) salienta, ainda, que outra vantagem decorrente do uso de híbridos é a manifestação de heterose, ou vigor híbrido, verificada para características de volume na maioria dos cruzamentos interespecíficos, possibilitando o aparecimento de indivíduos com maior capacidade de crescimento. Quando se busca aumentar os valores dos diâmetros, por exemplo, os indivíduos altamente heteróticos são de grande utilidade, uma vez que sua superioridade dificilmente pode ser obtida em árvores dentro de cada espécie pura. O autor cita que, a clonagem pode contribuir duplamente no contexto da utilização da madeira de *Eucalyptus* para a obtenção de produtos sólidos. Por um lado possibilita a produção em massa de madeira com características previamente selecionadas e, por outro, assegura maior rendimento do processo de produção, em todas as suas etapas, por permitir que se avalie o comportamento industrial dos clones e que lhes sejam aplicados procedimentos técnicos específicos. Adicionalmente pode-se ter ganhos expressivos na qualidade dos produtos, em virtude da maior homogeneidade e direcionamento das



propriedades da matéria prima, fator altamente desejável na atividade industrial.

Desafios da silvicultura clonal: base genética restrita das florestas clonais, instabilidade fenotípica e efeitos epigenéticos

A silvicultura clonal comercial, conforme desenvolvida atualmente no Brasil, enfrenta três desafios, que são intimamente relacionados. A maioria das florestas clonais de eucaliptos, o que significaria mais de quatro milhões de ha de plantações é baseada em poucos clones. Base genética restrita pode significar altos riscos em relação às variações ambientais como surto de pragas, doenças e anormalidades climáticas, como as previstas nos vários cenários das mudanças climáticas globais.

Plantações clonais apresentam, também, instabilidades fenotípicas, cujas causas não são ainda bem conhecidas. Até recentemente, a variabilidade entre indivíduos de um mesmo clone (rametes) era justificada pelo efeito “Efeito C” ou efeito clonagem, segundo Xavier e Comério (1996). Segundo Higashi et al. (2000), o “Efeito C” é causado pelo ambiente e por fatores relacionados ao vigor do propágulo ou a qualidade do sistema radicular. Xavier (2002) recomendou que a seleção de clones de alta produtividade e de qualidade da madeira deve ser associada à material genético estável fenotipicamente. Ferreira et al. (2006) acreditam que a estabilidade fenotípica das plantas clonais são dependentes da interação com ambiente explicitado pela fertilidade do solo, déficit hídrico, fotoperiodismo, umidade do solo e regime de chuvas no local.

Mais recentemente, os estudos das variações somaclonais em plantas têm sido relacionadas com fatores epigenéticos. Segundo Barata e Guimarães (sem data), enquanto a biologia sistêmica lida com o genoma como um todo, a epigenética, busca apreender as interações entre genes e ambiente. As autoras salientam que o conhecimento genético caminha no sentido de apontar uma complexidade que vai muito além dessa correspondência direta entre genes e características. Genes podem dar origem a produtos diferentes; diversos fragmentos do DNA podem ser responsáveis pela produção de um mesmo composto; os mesmos genes



se comportam diferentemente em células de tecidos distintos e podem ser ativados ou desativados; e outras estruturas, além do DNA, desempenham papéis fundamentais na regulação de reações de síntese de proteínas, como os RNAs – que são modificados ao longo da vida e não são transmitidos hereditariamente. As alterações epigenéticas geram um “epigenoma”, que pode ser específico para um indivíduo, um tecido ou até mesmo uma doença. Efeitos epigenéticos estão sendo cada vez mais estudados, pois acredita-se que representem uma força evolutiva importante. Os mecanismos não estão de todo esclarecidos, mas já foi comprovado que os efeitos de alguns hábitos dos indivíduos durante a vida – não os hábitos em si - podem ser transmitidos a seus descendentes. A herança epigenética seria um mecanismo marcante de como fatores internos e externos interagem para determinar efeitos nos indivíduos.

Considerações finais

As plantações florestais com finalidades industriais no Brasil, são estabelecidas para produzir maior quantidade de madeira de qualidade a um menor tempo e custo. Conforme já salientado anteriormente, o plantio de clones de eucaliptos, selecionados em testes clonais para um determinado sítio e submetidos a determinados procedimentos silviculturais (preparo do solo, espaçamento entre plantas, adubações etc), vem proporcionando maiores ganhos na produtividade, maior eficiência nas operações de colheita e no rendimento industrial, quando comparados com plantações estabelecidas com mudas origiadas de sementes.

Mas, é importante salientar que essa vantagem não pode ser generalizada, pois os clones só respondem de forma esperada em ambientes de crescimento semelhantes ao ambiente onde eles foram testados e selecionados. Isto significa que, além do sítio, representado pelo solo e clima, os procedimentos silviculturais e de manejo devem ser semelhantes.

Existem ainda, a preocupação que as florestas monoclonais são mais susceptíveis às pragas, doenças e anormalidades climáticas, como geadas e déficit hídrico atípicos. Danos causados por geadas atípicas



como as ocorridas em 2000 e por doenças como ferrugem são exemplos destas anormalidades. Esse aspecto deve ser considerado com muito cuidado nas estratégias de melhoramento florestal a serem ajustadas para enfrentar os desafios que os novos cenários da silvicultura brasileira, representados pelas incertezas a serem causadas pelas mudanças climáticas globais, pela instabilidade fenotípica dos clones cujas causas ainda são desconhecidas e, pela necessidade de ocupação de áreas marginais com pastagens degradadas.

Apesar deste cenário não muito favorável, o Brasil é um dos poucos países no mundo onde as plantações florestais poderão crescer tanto em área como em produtividade. A única forma para enfrentarmos estes desafios é, investir em pesquisas integrando universidades, instituições de pesquisas e empresas privadas, devidamente apoiadas pelos Governos e sociedade.

Referências

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF 2010 ano base 2009**. Brasília: ABRAF. 2010. 140p. Disponível em <http://www.abraflor.org.br/estatisticas/ABRAF10-BR.pdf>. Acessado em 09/05/2011.

ASSIS, T. F. de. Os propulsores da produtividade dos eucaliptos. **Revista Opiniões**. Nov 2005-Fev 2006. Disponível em <http://www.revistaopinioes.com.br/cp/materia.php?id=451>. Acessado em 09/05/2011.

ASSIS, T. F. de. Estratégias de melhoramento para a obtenção de madeira de qualidade para laminação e serraria. Disponível em <http://www.celsofoelkel.com.br/artigos/outros/Arquivo%202009.%20Estrat%20E9gias%20de%20Melhoramento%20para%20Obten%20E7%E3o%20de%20Madeira%20de%20Quali.doc>. Acessado em 09/05/2011.

BARATA, G. E GUIMARÃES, M. Genes e a compreensão de ser humano. **Com Ciência**. Revista Eletrônica de Jornalismo científico SBPC. Disponível em <http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=8&id=56>. Acessado em 09/05/2011.



DECONTO, J. G. (Coord.). Aquecimento Global e a Nova Geografia da Producao Agricola no Brasil. Campinas: Embrapa/UNICAMP, 2008. Publicacao produzida a partir do estudo "Aquecimento Global e Cenarios Futuros da Agricultura Brasileira", coordenado pelos pesquisadores Eduardo Assad (Embrapa Agropecuaria) e Hilton Silveira Pinto (Cepagri/Unicamp). Sao Paulo - Agosto de 2008.

Disponivel em
http://mudancasclimaticas.cptec.inpe.br/~rmclima/pdfs/destaques/CLIMA_E_AGRICULTURA_BRASIL_300908_FINAL.pdf. Acessado em 09/05/2011.

FERREIRA et al. (2006). Statistical models in agriculture: biometrical methods for evaluating phenotypic stability in plant breeding. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 4, p. 373-388, 2006.

GOUVELLO, C. DE et al. **Estudo de Baixo Carbono para o Brasil**. Washington: World Bank. 280p. Disponivel em: www.esmap.org (acessado em 09/05/2011).

HIGASHI, E. N., SILVEIRA, R. L. V. DE A.; GONCALVES, A. N. Propagacao vegetativa de *Eucalyptus*: principios basicos e sua evolucao no Brasil. **Circular Tecnica do IPEF**, n. 192. outubro de 2000.

SFB. **Florestas do Brasil 2010 em resumo**. Brasilia: Servico Florestal Brasileiro. MMA. 2011. 156p. Disponivel em http://www.mma.gov.br/estruturas/sfb/_arquivos/livro_de_bolso___sfb_mma_2010_web_95.pdf. . Acessado em 09/05/2011.

XAVIER, A e COMERIO, J. Microestadia: uma maximizacao da miropropagacao de *Eucalyptus*. **Revista Arvore**, v.20, n.1, p. 9-16, 1996.

XAVIER, A. **Silvicultura Clonal I**: principios e tecnicas de propagacao vegetativa. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 64p. (Caderno Didatico, 92).



APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS NA PROPAGAÇÃO CLONAL DE *Eucalyptus*

XAVIER, A.¹

¹ Professor Associado - DEF Universidade Federal de Viçosa. xavier@ufv.br

Introdução

Nas últimas décadas, tem-se assistido um aumento considerável no interesse pela propagação clonal do *Eucalyptus*, principalmente diante da adoção crescente de clones nos projetos florestais, tanto pelas grandes empresas quanto pelos pequenos investidores, inclusive produtores rurais. Também, têm-se percebido consideráveis avanços tecnológicos nos processos de seleção e clonagem de árvores, produção de mudas clonais e nas práticas silviculturais adotadas na implantação e condução dos plantios comerciais. No Brasil, as plantações clonais com *Eucalyptus* aumentaram consideravelmente a partir da década de 70, sendo atualmente uma das mais evoluída e bem estabelecida do mundo. Para o gênero *Eucalyptus*, os trabalhos de propagação vegetativa tiveram início nos anos 50 com pesquisadores franceses e australianos, no Marrocos e norte da África, os quais multiplicaram várias espécies por enraizamento de estacas obtidas de mudas de origem seminal. No entanto, a clonagem de árvores adultas por meio da estaquia somente foi obtida com sucesso no início da década de 70, na Austrália (Alfenas et al., 2009). No Brasil, os trabalhos pioneiros com sucesso no enraizamento de estacas de *Eucalyptus*, em nível experimental, remontam ao ano de 1975, conforme relatado por Ikemori (1975), sendo a técnica adotada em escala comercial, quatro anos mais tarde. No entanto, dada a importância da silvicultura clonal de *Eucalyptus* no Brasil, a propagação vegetativa pela estaquia foi aperfeiçoada diante das dificuldades existentes para a obtenção de material vegetativo com grau de juvenildade e vigor fisiológico adequado ao enraizamento das estacas, culminando com o desenvolvimento das



atuais técnicas de miniestaquia e microestaquia (Assis et al., 1992; Xavier e Comério, 1996; Assis, 1997, 2001; Alfenas et al., 2009, Xavier et al., 2009). Historicamente, foi a dificuldade de propagação vegetativa pela estaquia de clones de *Eucalyptus* que despertou o interesse por técnicas alternativas de clonagem, como a micropropagação, porém, em virtude dos problemas encontrados, esta técnica ainda não se tornou viável do ponto de vista técnico e econômico para uso em larga escala. No entanto, foi a partir da micropropagação que se desenvolveu a microestaquia e, posteriormente, a miniestaquia, tornando-se um marco na evolução dos sistemas de produção de mudas clonais de *Eucalyptus*, sendo estas técnicas criadas e desenvolvidas no Brasil, na década de 90 (Assis et al., 1992; Xavier e Comério, 1996; Assis, 1997; Higashi et al., 2000). Após o desenvolvimento da microestaquia (Assis et al., 1992) e a implantação em escala comercial (Xavier & Comério, 1996), a micropropagação tornou-se uma etapa prévia à multiplicação clonal visando o rejuvenescimento *in vitro* dos clones de *Eucalyptus*. Entretanto, dada as dificuldades técnicas, econômicas e operacionais da micropropagação em atender a demanda de rejuvenescimento dos clones visando a microestaquia, implementou-se a miniestaquia como técnica alternativa de clonagem comercial, sendo atualmente a principal técnica utilizada pelas empresas florestais brasileira na propagação clonal de *Eucalyptus*.

Aplicabilidade na clonagem de *Eucalyptus*

Neste novo cenário florestal que se apresenta atualmente, toda tecnologia que facilita ou até mesmo possa viabilizar comercialmente a produção de determinados clones é atrativa. Neste sentido, a biotecnologia tem apresentado oportunidades na clonagem massal de genótipos superiores, bem como servindo de base para o processo de transformação genética. O primeiro caso tem atraído a atenção principalmente nos casos de clones de difícil enraizamento pela técnica de macroestaquia (estaquia convencional e miniestaquia). Nesta situação, a micropropagação tem sido recomendada como uma técnica para o rejuvenescimento de clones, tornando-os aptos economicamente ao processo de produção de mudas. Por outro lado, a produção comercial de mudas de clones pela



micropropagação ainda não se justificou, técnica e economicamente. O rejuvenescimento de clones torna-se importante devido ao processo de maturação ser um fenômeno que geralmente afeta espécies lenhosas de acordo com o seu envelhecimento ontogenético, onde uma das mais importantes consequências para a clonagem é a redução, ou até mesmo, a perda da capacidade de enraizamento que se verifica em plantas adultas. Baseado nestas constatações e visto o processo de seleção de clones em *Eucalyptus* ser basicamente na fase adulta, o enraizamento de propágulos vegetativos provenientes destas plantas constitui-se em um grande desafio. Neste sentido, na Figura 1 é apresentada, de forma resumida, uma tendência evolutiva nos processos de produção massal de mudas do gênero *Eucalyptus*, por meio da propagação vegetativa. Assim, pode-se observar um incremento da participação da biotecnologia, mais especificamente da micropropagação, a cada etapa do avanço da pesquisa e implementação em nível operacional.

No entanto, vale salientar que, a micropropagação via embriogênese somática para *Eucalyptus* ainda carece de desenvolvimento científico quanto a sua aplicação no rejuvenescimento de clones selecionados e como técnica de propagação massal por meio de embriões encapsulados, chamados de “sementes sintéticas”. A alternativa da miniestaquia precedendo a microestaquia tem sido considerada como uma boa estratégia, em função da miniestaquia não necessitar de estruturas de laboratórios de cultura de tecidos (micropropagação), reduzindo, portanto, os custos na produção das mudas. Isto é justificado em algumas situações onde a estaquia seriada, por meio da técnica de miniestaquia, pode apresentar resultados eficientes tanto quanto os da microestaquia, ou nos casos em que a diferença existente entre as duas técnicas não compensa o investimento da microestaquia.

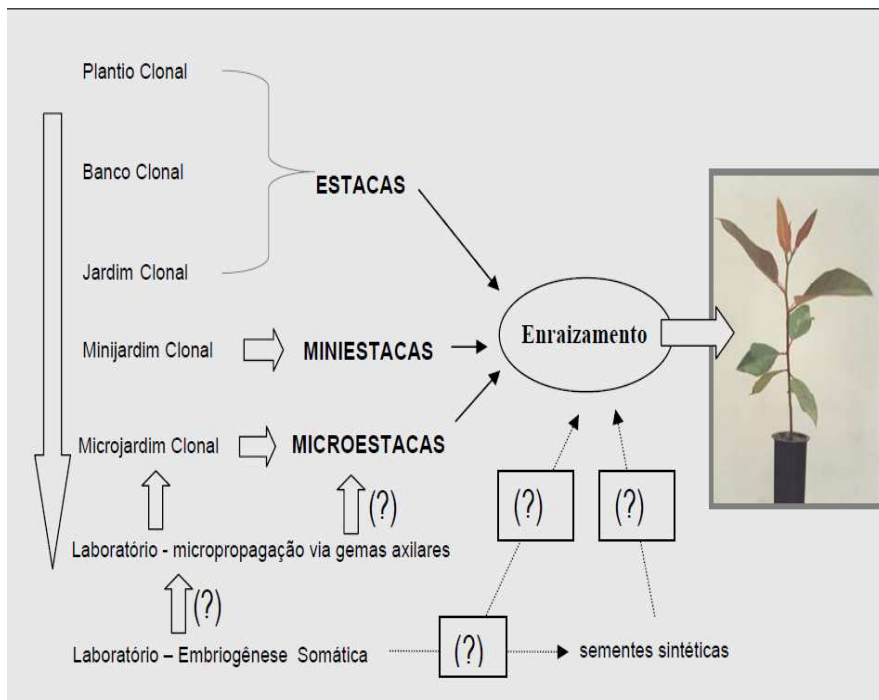


Figura 1 – Evolução e tendências na propagação clonal de *Eucalyptus* spp. (Adaptado de Xavier et al., 2009).

Em outras situações, a miniestaquia mostra-se como alternativa em certos clones que apresentam dificuldades no cultivo *in vitro* (recalcitrância, necessidades de ajuste de meio de cultura, etc.), inviabilizando sua multiplicação vegetativa pela micropropagação. Portanto, cabe ao técnico avaliar qual é a melhor alternativa para sua situação, pois cada técnica apresenta vantagens e dificuldades, associadas ao custo e tempo necessários para se alcançar os objetivos propostos. Deve-se considerar que certos clones são de difícil propagação vegetativa e o rejuvenescimento pode não resolver eficientemente a problemática da produção de mudas. Por outro lado, existem clones com grande facilidade de propagação vegetativa em que procedimentos mais



simples e de menor custo, como a estaquia/miniastquia, podem ser suficientes para atender ao processo de produção massal de mudas de *Eucalyptus*. Vale salientar que resultados de viveiro e campo são extremamente importantes, visando a confirmação da melhor estratégia a ser adotada, pois cada empresa apresenta um conjunto de clones e condições ambientais próprias, associadas a uma condição operacional e orçamentária.

Aplicações da embriogênese somática na área florestal

Entre as várias aplicações da embriogênese somática *in vitro*, esta é tida como potencial na multiplicação clonal de plantas, onde a partir da embriogênese repetitiva, teoricamente, uma cultura iniciada de um único explante pode produzir um número ilimitado de embriões, tornando o processo altamente atrativo para a produção massiva de plantas. Aliado a isso se tem a possibilidade de produção artificial de sementes pelo encapsulamento dos embriões somáticos, chamadas comumente de sementes sintéticas, com um mínimo de manipulação e espaço físico de laboratório. O embrião somático, por apresentar um sistema radicular e caulinar na mesma unidade, em muitas das situações mostra-se mais vantajoso em relação ao sistema de micropropagação via gemas axilares, por exemplo. Neste caso, enquanto o embrião somático desenvolve um sistema radicular pivotante, na organogênese é adventício. Com o desenvolvimento desta tecnologia, a embriogênese somática *in vitro* constitui-se em uma alternativa na propagação de plantas, principalmente de clones selecionados em um programa de silvicultura clonal. Alternativamente, a embriogênese somática apresenta-se como uma técnica capaz de superar alguns problemas na propagação em massa, especialmente para certas plantas lenhosas de difícil enraizamento. Outras aplicações da embriogênese somática *in vitro* dizem respeito à sua utilização como ferramenta na transformação genética, hibridação somática e criopreservação. Entre as limitações apresentadas pela embriogênese somática, dificultando sua utilização como sistema de micropropagação, estão a necessidade de obtenção de um sistema de embriogênese reproduzível em larga escala, variabilidade genética



indesejável introduzida pelo processo, perda da capacidade regenerativa pelos subcultivos sucessivos e a dificuldade ou impossibilidade de se estabelecer um sistema de indução por embriogênese somática em alguns genótipo/espécies. Nos últimos anos vários trabalhos têm sido publicados para um grande número de espécies, porém esta tecnologia ainda encontra-se em fase de desenvolvimento, limitando a sua aplicação na área florestal em um processo comercial de produção de mudas. Para *Eucalyptus*, pode-se citar trabalhos com *Eucalyptus citriodora* (Muralidharan e Mascarenhas, 1987; Muralidharan et al., 1989; Muralidharan e Mascarenhas, 1995), *Eucalyptus grandis* (Watt et al., 1991; Major et al., 1997; Titon, 2005; Titon et al., 2007; Carvalho, 2007), *Eucalyptus dunni* (Termignoni et al., 1996), *Eucalyptus nitens* (Ruaud et al., 1997; Bandyopadhyay et al., 1999; Bandyopadhyay & hamill, 2000), *Eucalyptus urophylla* (Tibok et al., 1995; Arruda et al., 2000, Carvalho, 2007), *Eucalyptus tereticornis* (Prakash e Gurumurthi, 2005) e *Eucalyptus globulus* (Nugent et al., 1997, 2001; Bandyopadhyay et al., 1999; Pinto et al., 2002; Pinto et al., 2008a; Pinto et al., 2008b). No entanto, um dos principais entraves encontrados para a propagação clonal via embriogênese somática é a baixa taxa de conversão de embriões somáticos em plantas. Aliada à técnica de clonagem de *Eucalyptus* utilizada atualmente em escala comercial, a embriogênese somática apresenta grande potencial para rejuvenescimento de materiais selecionados de difícil enraizamento, assim como na regeneração de plantas transformadas geneticamente. Uma vez obtidas estas plantas, o material pode ser multiplicado em grande escala pela técnica de microestaquia, difundida nas empresas florestais.

Automatização da micropropagação

A biotecnologia vegetal tem aberto novas possibilidades de obtenção de plantas, no entanto muitas vezes a propagação em larga escala mediante técnicas de propagação *in vitro*, em quantidade e qualidade, tem sido fator limitante para muitas espécies de plantas, principalmente para as plantas lenhosas. Conforme Penchel et al. (2007), inovações em aspectos específicos têm sido propostas, como a



manipulação da atmosfera e, ou, do ambiente *in vitro* com a propagação fotoautotrófica; o uso de recipientes de cultivo alternativos, como aqueles recobertos com filmes que permitem trocas gasosas para a propagação fotoautotrófica; novas fontes de iluminação à base de diodos-LEDs e lâmpadas fluorescentes catódicas frias-CCFLs; novas concepções de biorreatores, para viabilizar a produção econômica de mudas em maiores escalas; técnicas de criopreservação; automatização das operações dos sistemas de cultura de tecidos, dentre outras. O interesse pela automatização na cultura de tecidos tem despertado a atenção de pesquisadores e profissionais desta área, principalmente com relação à aplicação da tecnologia em escala comercial, visando a necessidade de minimizar custos na micropropagação. Segundo Penchel et al. (2007) três alternativas principais têm sido aplicadas na automação/mecanização: automação/mecanização dos procedimentos rotineiros da micropropagação (preparo de meios de cultura, repicagem das culturas e aclimação das plantas propagadas), novas tecnologias baseadas na utilização de sistemas de propagação em meio líquido e sistemas de cultivo *in vitro* alternativos. De forma geral, na busca de uma produção eficiente e automatizada na micropropagação de plantas, preferencialmente, o sistema de produção tem evoluído de uma pequena-escala de pesquisa para um sistema de cultura de alto-volume e alta-eficiência e utilizando meio de cultura líquido, visando principalmente facilitar o manuseio. A cultura de tecidos convencional via sistema ágar (meio semissólido) requer grande número de pequenos recipientes de cultivo e mão-de-obra intensiva, necessitando de ampla estrutura de câmaras de fluxo laminar, autoclave e sala de cultura, sendo essas as principais limitações da eficiência na propagação e do alto custo da técnica. Dentro desse contexto, os biorreatores podem reduzir a mão-de-obra, alcançando baixo custo de produção e estabelecendo um sistema prático para propagação massal de plantas *in vitro*, despertando a atenção para uma micropropagação em biofábricas (Takayama e Akita, 2006; Penchel et al., 2007). Ainda existem poucos estudos que enfocam o uso de biorreatores na propagação de espécies do gênero *Eucalyptus*, aonde vêm sendo realizadas pesquisas utilizando-se o princípio do sistema de



imersão temporária RITA®, mas ainda com grandes dificuldades em algumas etapas do processo de produção, como por exemplo Castro e González (2002), Reis et al. (2003) e McAlister et al. (2005). Mais recentemente, Oliveira (2009) trabalhando com micropropagação de clones de *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla* em biorreatores de imersão temporária (sistema RITA), indicou ser uma tecnologia promissora. No entanto, salientou necessidade de ajuste do manejo da cultura nas fases de multiplicação e alongamento para a obtenção de brotos com maior vigor aptos a enraizar em condições *ex vitro*, a fim de que esta técnica possa se tornar viável em larga escala.

Considerações sobre a micropropagação

Ao decidir pela micropropagação deve-se primeiramente avaliar o valor genético do clone a ser propagado, os objetivos a serem alcançados com a técnica, assim como a disponibilidade de infra-estrutura, orçamentária e de pessoal especializado. Deve-se estar ciente da variabilidade no processo de micropropagação entre diferentes clones da mesma espécie e entre as espécies, pois não existe uma receita única, onde deverá ser ajustada uma metodologia ao clone em questão. Entre as desvantagens e dificuldades do processo de micropropagação têm-se o alto investimento em instalações e treinamento de pessoal; desenvolvimento de protocolos diferenciados para diferentes espécies ou grupos de clones; contaminação do meio de cultura com microorganismos; perigo associado com a micropropagação horticultural, isto é, a possibilidade da disseminação acidental de plantas doentes ou mutantes (quimeras). O custo da muda micropropagada deve ser ponderado, pois quando se deseja obter plantas livres de patógenos ou material geneticamente modificado por exemplo, uma vez obtida a muda de interesse, esta pode ser multiplicada por outras técnicas de propagação de plantas já dominadas tecnicamente e economicamente viáveis na área comercial. Várias empresas florestais brasileiras fizeram investimentos nesta área na década de 80, porém muitos laboratórios foram fechados posteriormente, por problemas metodológicos ainda existentes na cultura de tecidos e por falta de mão-de-obra especializada. Atualmente, com o



advento da microestaquia, a micropropagação tem merecido atenção especial para a propagação clonal de *Eucalyptus*, visando atender a fase de rejuvenescimento *in vitro* e de limpeza clonal. Vale salientar que o desenvolvimento e a implementação da técnica de produção de mudas via embriogênese somática abre perspectivas enormes para a adoção da propagação *in vitro* de espécies florestais.

Referências

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2009. 500 p.

ARRUDA, S.C.C., SOUZA, G.M., ALMEIDA, M., GONÇALVES, A.N. Anatomical and biochemical characterization of the calcium effect on *Eucalyptus urophylla* callus morphogenesis *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.63, p.143-154, 2000.

ASSIS, T. F. Evolution of technology for cloning *Eucalyptus* in large scale. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL IUFRO, 2001, Valdivia. **Desarrollando el eucalipto del futuro**: actas. Santiago: Instituto Forestal, 2001. 1 CD-ROM.

ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. v. 1, p. 300-304.

ASSIS, T. F.; ROSA, O. P.; GONÇALVES, S. I. Propagação por microestaquia. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1992. p. 824-836.

BANDYOPADHYAY, S., CANE, K., RASMUSSEN, G., HAMILL, J.D. Efficient plant regeneration from seedling explants of two commercially important temperate eucalypt species – *Eucalyptus nitens* and *E. globulus*. **Plant Science**, v.140, p.189- 198, 1999.

BANDYOPADHYAY, S., HAMILL, J.D. Ultrastructural studies of somatic embryos of *Eucalyptus nitens* and comparisons with zygotic embryos found in mature seeds. **Annals of Botany**, v.86, p.237-244, 2000.



CARVALHO, E. C. S. **Antioxidantes, reguladores de crescimento e estresse térmico na embriogênese somática de *Eucalyptus* spp.** Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 102p. 2007.

CASTRO, D. R.; GONZÁLEZ, O. J. Micropropagación de eucalipto (*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden) en el sistema de inmersión temporal. **Agricultura Técnica**, v. 62, p. 68-78, 2002.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; FIRME, D. J.; GONÇALVES, A. N. Evolução do jardim clonal de eucalipto para a produção de mudas. **IPEF Notícias**, Piracicaba, v. 24, n. 148, p. 4-5, 2000a.

IKEMORI, Y. K. **Resultados preliminares sobre enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp.** Aracruz, 1975. 12 p. (Informativo Técnico Aracruz, 1).

McALISTER, B.; FINNIE, J.; WATT, M. P.; BLAKEWAY, F. Use of the temporary immersion bioreactor system (RITA) for production of commercial *Eucalyptus* clones in Mondi Forest (SA). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 81, p. 347-358, 2005.

MAJOR, G.; KRAUSE, M.; ROSS, S.; SOTELO, M. Preliminary studies on the somatic embryogenesis in *Eucalyptus grandis*. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 1, p.137-142.

MURALIDHARAN, E.M., GUPTA, P.K., MASCARENHAS, A.F. Plantlet formation through high frequency somatic embryogenesis in long term cultures of *E. citriodora*. **Plant Cell Reports**, v.8, p.41-43, 1989.

MURALIDHARAN, E.M., MASCARENHAS, A.F. In vitro plantlet formation by organogenesis in *Eucalyptus camaldulensis* and by somatic embryogenesis in *E. citriodora*. **Plant Cell Reports**, v.6, p.256-259, 1987.

MURALIDHARAN, E.M., MASCARENHAS, A.F. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus*. In: JAIN, S.M., GUPTA, P.K., NEWTON, R.J. (Eds.). **Somatic embryogenesis in woody plants**, vol.2. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995. p.23-40.

NUGENT, G., CHANDLER, S.F., WHITEMAN, P., STEVENSON, T.W. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus globulus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.67, p. 85-88, 2001.



OLIVEIRA, M.L. **Micropropagação de clones de *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla* em biorreatores de imersão temporária.** Viçosa, MG, 2009, 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

PENCHEL, R. M.; OTONI, W. C.; XAVIER, A. Tecnologia de biorreatores e propagação fotoautotrófica *in vitro*. In: Borém, A. (Ed.). **Biotecnologia Florestal.** Viçosa: UFV, 2007. cap. 4, p. 75-92.

PINTO, G., SANTOS, C., NEVES, L., ARAUJO, C. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus globules* Labill. **Plant Cell Reports**, v.21, n.3, p.208-213, 2002.

PINTO G, PARK Y-S, NEVES L, ARAUJO C, SANTOS C (2008a) Genetic control of somatic embryogenesis in *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell Rep* 27:1093–1101.

PINTO G, SILVA S, ARAUJO C, NEVES L, PARK Y-S, SANTOS C (2008b) Factors influencing somatic embryogenesis induction in *Eucalyptus globulus* Labill.: basal medium and antioxidants. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 95:79–88.

PRAKASH, M.G., GURUMURTHI, K. (2005) Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus tereticornis* Sm. *Curr Sci* 88(8):1311–1316.

REIS, J. P.; MORAIS, P. B.; PENCHEL, R.; HENRIQUE, A. Micropropagação de eucalipto no sistema de imersão temporária. In: Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas, 1., 2003, Lavras. **Anais...** p. 276.

RUAUD, J.; CHURCHILL, K.; PEPPER, S. (1997) Somatic embryogenesis initiation in *Eucalyptus nitens*. *Acta Hort* 447:185–186.

TERMIGNONI, R.R., WANG, P., HU, C. Somatic embryo induction in *Eucalyptusdunnii*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.45, p.129-132, 1996.

TIBOK, A., BLACKHALL, N.W., POWER, J.B., DAVEY, M.R. Optimized plant regeneration from callus derived from seedling hypocotyls of *Eucalyptus urophylla*. **Plant Science**, v.110, p.139-145, 1995.

TITON, M. **Indução de embriogênese somática em *Eucalyptus grandis*.** Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 107p. 2005.



TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; MOTOIKE, S.Y.. Efeito dos reguladores de crescimento dicamba e picloram na indução de embriogênese somática em *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 31, p. 417-426, 2007.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. da. **Silvicultura Clonal**: princípios e técnicas. Viçosa: UFV, 2009. 272 p. XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 9-16, 1996.

WATT, M.P., BLAKEWAY, F.C., CRESSWELL, C.F., HERMAN, B. Somaticembryogenesis in *Eucalyptus grandis*. **South African Forestry Journal**, v.157, p.59-65, 1991.



DESENVOLVIMENTO CLONAL DE *PINUS TAEDA* VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA

ESTOPA, R.A.¹; BIERNASKI, F.A.²

¹ Engenheira Florestal, Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, Klabin S. A., Telêmaco Borba, Paraná. restopa@klabin.com.br

² Engenheiro Florestal, Mestre em Engenharia Florestal, Klabin S. A., Telêmaco Borba, Paraná. fbiernaski@klabin.com.br

O Brasil é conhecido mundialmente pelo grande potencial na silvicultura, principalmente de eucalipto e, os avanços adquiridos até o momento foram conseguidos graças às inovações tecnológicas e biotecnológicas no manejo silvicultural, no melhoramento genético e na propagação vegetativa. Visando transferir a mesma tecnologia utilizada para o *Pinus taeda*, a Klabin S.A, iniciou um trabalho de desenvolvimento clonal, vislumbrando aumentar a produtividade e qualidade dos plantios bem como qualidade da madeira para aumentar o rendimento de celulose por hectare.

A Klabin é uma empresa brasileira de base florestal, a maior produtora de papéis e cartões para embalagens, embalagens de papelão ondulado e sacos industriais do País, além de ser a maior produtora de toras para serrarias e laminadoras. É também a maior recicladora de papéis e a principal exportadora de papéis no Brasil. Possui 17 unidades industriais em oito estados brasileiros e uma na Argentina. Possui 212.573 ha área plantada com Pinus e Eucalipto em quatro estados brasileiros e, um total de 192.337 ha de área de preservação (informação de plantios até dezembro de 2010).

Pinus spp. é o gênero florestal mais plantado na região Sul do Brasil, totalizando, 1.417.850 ha, até 2009, ou seja, 79% da área total



plantada de pinus no Brasil, sendo o *Pinus taeda* a espécie com maior expressividade. O estado do Paraná lidera a área plantada com este gênero, seguido por Santa Catarina, respectivamente com (695.790 ha e 550.850 ha, ou respectivamente 38% e 31% do total (Abraf, 2010). Sendo a Klabin empresa de grande expressão neste cenário com um total plantado de 147.479 ha em todas as unidades florestais.

Porém, para (Hamann, 1995) e (Rocha e Niella, 2002) o Pinus é uma das espécies de coníferas mais difíceis de propagar vegetativamente (apud Andrejow e Higa, 2009). Assim, durante os últimos 30 anos, várias técnicas foram testadas para resolver a recalcitrância das espécies de *Pinus* ao enraizamento. O grande entrave ao sucesso dessas tentativas, na maioria das vezes, ocorreu devido à dificuldade de brotação e enraizamento de propágulos adultos (Santos et al., 2008).

Como alternativa à clonagem individual, vários trabalhos foram realizados na tentativa de enraizar propágulos vegetativos de plantas juvenis (Campinhos et al., 2000; Santos et al., 2008; Andrejow e Higa, 2009). Dessa forma, podê-se propagar as melhores famílias geradas pelos programas de melhoramento, produzindo florestas de famílias clonadas. Essa alternativa tornou-se importante, uma vez que, na maioria das vezes a quantidade de sementes obtidas de uma única família em pomares clonais, ou mesmo em programas de polinização controlada e ou de polinização massal controlada, geralmente era insuficiente para abastecer toda a necessidade dos programas anuais de plantio (Santos, et al, 2008). A Klabin tem obtido ganhos significativos com a utilização desta técnica, porém, a utilização de sementes como fonte de propágulos resulta em maior desuniformidade do material, o que é aceito pela dificuldade de obtenção de rejuvenescimento de material adulto em *Pinus* sp. Porém, é sabido que com a clonagem de indivíduos superiores, os ganhos em produtividade podem ser muito mais expressivos tanto em incremento volumétrico, quanto em qualidade da madeira.

No melhoramento genético a maioria das características utilizadas para a seleção de genótipos superiores ocorre na fase adulta, porém nestas idades o envelhecimento ontogenético reduz gradativamente a



competência dos tecidos ao enraizamento na maioria das espécies. E este tem sido um entrave na propagação destas espécies. Deste modo, é necessário que se disponha de métodos de rejuvenescimento capazes de restaurar a capacidade de rizogênica (Assis e Máfia, 2007). No entanto, para várias espécies a micropropagação tem sido a técnica mais eficiente para aumentar o índice de enraizamento.

Desta forma, visando contornar estes problemas inerentes da espécie ou até mesmo do gênero e aumentar os ganhos genéticos, uma das técnicas utilizadas para a clonagem individual tem se destacado positivamente nos últimos anos: a embriogênese somática. Trata-se de um método utilizado na cultura de tecidos de plantas que envolve o processo de desenvolvimento de um embrião imaturo de uma única semente e a multiplicação deste por centenas (para testes clonais) ou milhares (para plantios comerciais) de embriões geneticamente idênticos a ele (Santos, et al, 2008).

A embriogênese somática pode ser natural e *in vitro* ou induzida. No primeiro caso, células dos tecidos embrionários podem ser direcionadas para esta rota de desenvolvimento morfogenético, como é o caso do sistema da embriogenia adventícia ou nucelar em *Citrus* sp, onde os embriões apomíticos originam-se por gemação a partir de células do nucelo que representam o genoma materno (Spiegel Roy e Vardi, 1984). Estes embriões apomíticos são geneticamente idênticos à planta-mãe e a consequência deste fenômeno é a perpetuação de populações clonais através da semente. Na embriogênese somática *in vitro* ou induzida, células haplóides ou diplóides (somáticas) em diferentes estágios de diferenciação podem ser adequadamente induzidas, por estímulos ambientais ou químicos, serem reprogramadas e adquirir novas competências morfogenéticas. A embriogênese somática *in vitro* é um método importante para propagação massal clonal de genótipos superiores. Além disso, é uma técnica de grande aplicabilidade para os estudos básicos relacionados com a fisiologia, genética e bioquímica do desenvolvimento embrionário (Yeung, 1995).



Em comparação a outras técnicas de micropropagação, a embriogênese somática apresenta as seguintes vantagens e aplicações: permite a obtenção de uma grande quantidade de propágulos (embriões somáticos); possibilita alto grau de automatização do sistema, permitindo baixar custo efetivo da produção em larga escala de plântulas somáticas; os propágulos podem ser produzidos de forma sincronizada (com a otimização do sistema); possibilidade de armazenamento dos propágulos por um longo prazo por meio da criopreservação; possibilidade de sementes artificiais; utilização das culturas para o isolamento e fusão dos protoplastos; e as culturas são passíveis de transformação genética e podem ser utilizadas como ferramenta integrada em programas de melhoramento florestal (Hogberg et al, 1998; Guerra et al., 1999).

O processo básico para a embriogênese somática realizada com gimnospermas, principalmente coníferas, consiste de dois ciclos repetitivos característicos. O primeiro, os embriões zigóticos em estágio inicial de desenvolvimento são inoculados em meios de cultura contendo hormônio vegetal auxina, sendo a mais utilizada o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Estas culturas geram complexos ou massas celulares pro-embriônicas, que por processos de embriogênese repetitiva, resultam em um ciclo repetitivo de divisões celulares, formando embriões somáticos globulares. No segundo ciclo, chamado de ciclo de maturação, esses pró-embriões são estimulados a prosseguir o seu desenvolvimento pela retirada da auxina do meio de cultura, ou pela inclusão de ácido abscísico (ABA), citocininas e de agentes que promovam esse estresse osmótico. Nesta fase as culturas são mantidas em condições de luminosidade. Esse ciclo de maturação forma embriões somáticos que podem ser convertidos em plantas (Guerra et al, 1999).

Com o objetivo de viabilizar a clonagem do *Pinus taeda*, a Klabin iniciou em 2004 um trabalho de desenvolvimento clonal, utilizando a técnica da embriogênese somática em parceria com uma empresa de biotecnologia. Para dar início ao trabalho foi realizado anteriormente, polinizações controladas de material genético melhorado e selecionado para os cruzamentos. O sucesso da técnica, bem como da seleção de



material genético superior, exigiu uma amostragem adequada do material utilizado a fim de aumentar a probabilidade de encontrar clones superiores com boas características de crescimento e qualidade da madeira.

Após as polinizações, foram enviados à empresa parceira cones verdes (sementes imaturas) coletadas nos pomares. Essas sementes imaturas foram submetidas ao processo de embriogênese somática. As duas fases desse trabalho envolveram a “Iniciação” (produção de tecido embriogênico) e a “Produção” (resgate do tecido embriogênico para produção de embriões, plântulas e mudas para plantio). O tempo necessário para a conclusão das duas fases variou de 18 a 24 meses, sendo ajustado de acordo com a melhor época do ano para estabelecimento de experimentos em campo.

O trabalho consistiu basicamente na multiplicação do embrião imaturo de uma única semente, em milhares de outros embriões geneticamente idênticos ao primeiro. Após a multiplicação do embrião imaturo, parte do material foi utilizado para produção de mudas e instalação de testes clonais e outra parte foi Crio-preservada em nitrogênio líquido a $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$, de forma que após a obtenção dos resultados dos testes clonais, fosse possível recuperar os clones selecionados e propagá-los em larga escala.

Após o recebimento das plantas, foram instalados testes clonais visando selecionar os indivíduos (clones) com potencial para constituírem futuros plantios operacionais de *Pinus taeda*. Estes testes foram instalados em 2007 em diferentes sites representativos das unidades florestais da Klabin. Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso com uma planta por parcela (Single Tree Plot) para as análises estatísticas e, parcelas maiores, visando avaliar a qualidade da madeira.

Resultados preliminares, a partir de medições precoces aos 4 anos de idade, mostram que o ganho de seleção de clones superiores em relação ao material seminal de segunda geração foi de até 17% em incremento volumétrico. A projeção da produtividade para 14 anos constatou-se que o melhor clone apresenta $50\text{ m}^3/\text{ha}/\text{ano}$. Desta forma,



foram selecionados os melhores clones e estes estão sendo resgatados a partir do material que ficou criopreservado para a instalação de futuros plantios clonais de *Pinus taeda*. Os ganhos relacionados à qualidade da madeira ainda não foram avaliados, mas existe também nesta característica grande chance de ganhos, devido a seleção esta característica antes das polinizações.

As perspectivas da empresa são grandes, porém esta é uma estratégia contínua, ou seja, novos trabalhos de embriogênese somática serão realizados visando selecionar novos clones superiores para aumentar os ganhos futuros.

Referências

ANDREJOW, G. M. P.; HIGA, A. R. Potencial de enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. provenientes de brotação apical de mudas jovens. **Floresta**, Curitiba, v. 39, n. 4, p. 897-903, 2009.

ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A.(Org.). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: s.n., 2007, v.1 , p. 143-173.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF - base 2009**. Brasília: 2010.

CAMPINHOS, E. N.; IANNELLI, C. M.; CARDOSO, N. G.; ALMEIDA, M. A.; ROSA, A. C. Hidrojardim Clonal na Champion: uma otimização na produção de mudas de eucalipto. **Silvicultura**, São Paulo, n. 80, p. 42-46, 2000.

GUERRA, M.P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. Embriogênese Somática e Sementes Sintéticas. In:TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds.). **Culturas de Tecidos e transformação Genética de Plantas**. Brasília, Embrapa-CBAB. v.2. p. 533-568, 1999.

HÖGBERG, K.-A.; EKBERG, I.; NORELL, L.; VON ARNOLD, S. Integration of somatic embryogenesis in a tree breeding programme – a case study with *Picea abies*. **Canadian Journal of Forest Research**, v.28, p.1536-1545, 1998.

SANTOS, G. A. et al. Embriogênese somática x Clonagem de Famílias de *Pinus taeda*. In: SEMINÁRIO SOBRE SILVICULTURA EM FLORESTAS PLANTADAS, 2008. **Anais...** Viçosa : Editora CPD - Universidade Federal de Viçosa, 2008.



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



SPIEGEL-ROY, P.; VARDI, A. Citrus. In: AMMIRATO, P.V. et al. **Handbook of Plant Cell Culture Crop Species**. New York: Mcmillan, v. 3, p . 355-372, 1984.

YEUNG, E. C. Structural and developmental patterns in somatic embryogenesis. In: THORPE, T. A. (ed.). **In vitro embryogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 205-247, 1995.



INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA E BANCOS DE PATENTES

COSTA, E.S.¹

¹ Bacharel em Arquivologia pela Universidade Federal de Santa Maria, mestre em Engenharia da Produção da UFSM na Linha de Pesquisa de Gerência de Produção. Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da Universidade Federal de Santa Maria. eliandrocosta@mail.ufsm.br

Introdução

No panorama atual, pode-se descrever um quadro de mudanças com grandes tendências ao maior envolvimento do capital intelectual como fator chave de sucesso para o desenvolvimento e evolução da sociedade. Nesse ponto, considera-se a valoração do talento humano e o seu grande potencial de visão de ações estratégicas e práticas a serem idealizadas para a melhoria do ambiente de trabalho sob qualquer natureza.

Dessa forma, vê-se um ambiente de formação de potencial intelectual, como altamente propício para a experimentação de uma proposta desse nível, onde se pode trabalhar com toda a visão sistêmica da organização e a sua pluralidade disciplinar, incentivando e gerenciando propostas de proteção de propriedade intelectual de forma dinâmica e já adequadas com as constantes mudanças e fatores de competitividade do mercado e suas novas exigências.

A potencialidade visível nos bancos universitários forma uma estrutura consistente para a geração de conhecimento tácito de produção científica, podendo resultar na criação de invenções e, a partir disso, quando transferidos para o mercado, podendo gerar as ditas inovações. Esse ambiente torna-se altamente propício para formação de uma plataforma para o avanço tecnológico, principalmente por ser coexistir através de fatores interdisciplinares de diversas áreas, onde promove-se pesquisas que podem afetar diretamente o cotidiano do cidadão.



Nesse âmbito, deve-se haver um planejamento para pesquisa de forma bem estruturada, baseando-se principalmente em uma fundamentação sólida sobre o que já vem sendo produzido e utilizado pelo mercado, analisando-se os potenciais que ainda podem ser desenvolvidos, atuando sobre critérios de atividade inventiva e novidade durante as experimentações em suas pesquisas.

Os pesquisadores dispõem da qualidade criativa com enormes potenciais a ser desenvolvidos, através do uso de instrumentos como a própria informação tecnológica disponíveis nos acervos físicos e eletrônicos nos bases de patentes nacionais e internacionais.

Segundo Torre (2005), a criatividade é um fenômeno que circula entre os atributos pessoais e as exigências sociais, ou seja, é a própria sociedade que promove e define o grau de relevância da atividade ou resultado criativo. Essa linha de pensamento é critério a serem tidos como fator-chave para o planejamento da pesquisa, desenvolvimento e inovação, proporcionando aos pesquisadores atuarem sob algo que possa exercer fator de atividade inventiva ou novidade, para ser aplicável no mercado.

Para Tarapanoff (1995) a informação tecnológica possui caráter estratégico é se descreve como sendo todo tipo de conhecimento relevante ao planejamento das ações das instituições produtivas, envolvendo processos de produção, capacitação de recursos humanos, reorganização das empresas, etc.

Inumeras são as fontes de informação tecnológica, entretanto, conforme descreve o Art. 24 (Lei 9.279/96 – LPI) – o documento de patente deverá descrever clara e suficientemente o objeto, de modo a possibilitar sua realização por técnico no assunto e indicar, quando for o caso, a melhor forma de execução de sua aplicação. Assim, a patente pode fornecer informações mais contextualizadas para a aplicabilidade que pode fornecer a tecnologia a ser desenvolvido durante a pesquisa.



A informação tecnológica nas bases de patentes

No mercado atual, inúmeras empresas de economia mundial já possuem em sua estrutura organizacional departamentos, setores, unidades ou equipes capacitadas especificamente na busca de novas tecnologias desenvolvidas e armazenadas ou não nas bases de patentes nacionais e internacionais, públicas ou privadas. Essas equipes tratam de formar buscar tudo que foi gerado dentro do contexto do que se deseja colocar na escala de criação e produção de sua organização, buscando se aproximar o máximo possível da exatidão da atividade inventiva e da novidade a ser apresentada para seu público-alvo.

As Instituições de Ciência e Tecnologia (ICT), no ambiente global, vêm se aproximando e estreitando laços com o setor industrial através de parcerias formadas devido às necessidades de interação entre o setor criativo e setor produtivo. A maioria dos países já possuem uma rede estruturada de negócios entre universidade-indústria-governo (Figura 01), tríplice evidenciada por Etzkowitz (2009) como base para o desenvolvimento da sociedade.

Segundo Etzkowitz (2009), a universidade é o princípio gerador das sociedades fundadas no conhecimento, assim como o governo e a indústria são as instituições primárias na sociedade industrial. E o diferencial da universidade em relação aos demais ambientes de produção do conhecimento são os estudantes, incluindo a constante renovação do quadro discente com ingresso periódico de novos alunos, renovando as idéias e favorecendo as unidades de P&D.

Para fomentar esse ambiente de P&D, pode-se descrever inúmeras bases de patentes que armazenam grande parte das tecnologias as quais vêm sendo usadas atualmente pelo mercado, ou ainda se encontram em processos de transferência de seus uso, com ou sem exclusividade. Incluindo ainda, sobre as tecnologias que se não encontram nas bases, mas já se encontram no estado da técnica por já serem comercializadas desde anos anteriores ao criação do sistema de propriedade intelectual.

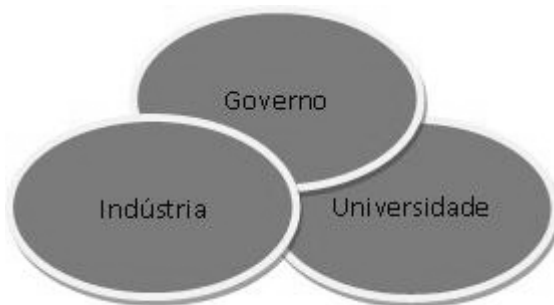


Figura 1 - Modelo de Hélice Tríplice. Fonte: Etzkowitz (2009).

Desse modo, pode-se descrever na Tabela 01, a relação de algumas das principais bases de patentes públicas disponíveis para proceder a busca de anterioridade para desenvolvimento do estado da arte das pesquisas de produção científica das ICT's, entre as quais serão mostradas durante a comunicação a ser ministrada nesse evento:

Tabela 01 - Relação das Bases de Patentes.

Base	Nome descrito	Natureza	Ano	Endereço eletrônico
 WIPO	Escritório da Organização Mundial de Propriedade Intelectual	Pública e gratuita	1967	http://www.wipo.int/tacsy/ Ferramenta de busca da oitava edição da CIP http://www.wipo.int/classifications/ipc/ipc8/?lang=en Site para busca de classificações de patentes http://www.wipo.int/pctdb/en/ - buscas WIPO/Patentscope



Simpósio de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas



	Instituto Nacional de Propriedade Industrial	Pública e gratuita	1970	http://www.inpi.gov.br
	Escritório Europeu de Patentes	Pública e gratuita	1973	http://ep.espacenet.com/
	Escritório Americano de Patentes	Pública e gratuita	1790	http://www.uspto.gov
	Japan Patent Office	Pública e gratuita	-	http://www.jpo.go.jp/
	Base de patentes disponível nos periódicos	Privada e restrita	1963	http://science.thomsonreuters.com/pt/produtos/dii/ - integrada à Plataforma ISI Web of Knowledge, da Thomson Reuters (disponível através da UFSM)

Fonte: próprio autor

A difusão da cultura da propriedade intelectual mediante o meio acadêmico permite estabelecer diretrizes para as ICT's, na direção do alcance de um novo mercado mais competitivo, dinâmico e altamente produtivo. A quebra de alguns paradigmas como o de produzir pesquisas sem aplicação industrial, atividade inventiva ou novidade, e que possam inserir mudanças positivas para a melhor capacitação da formação intelectual do acadêmico, é de fator fundamental para o cumprimento com



as exigências e necessidades desse novo mercado, oferecendo melhor aplicabilidade para carreira profissional do acadêmico, apresentando uma melhor visão de futuro para sua atuação.

O aumento da concorrência nesse mercado vem potencializado o setor industrial para o desenvolvimento de tecnologias que possam impactar mais positivamente e sustentavelmente o consumo, de forma a adequar os novos costumes e hábitos da sociedade ao contexto das necessidades de preservação da natureza e da sua própria existência.

Considerações finais

Desse modo, conclui-se que a disseminação do conhecimento armazenada em bases de patentes dispõe-se como um importante recurso estratégico para potencialização da produção científica das ICT's, desenvolvendo pesquisas mais qualificadas e adequadas com as necessidades do mercado, contextualizando-se nos fatores como a competitividade e a inovação, sendo que essa última somente pode ser realizada no setor industrial.

As empresas, em sua maioria, as que se encontram enquadradas na classe de economia mundial, já vêm desenvolvendo novas tecnologias baseadas na busca de informação tecnológicas em bases de patentes. As patentes, em sua maioria, são depositadas e acabam não recebendo o devido encaminhamento para a produção industrial, não dispondo um retorno para os inventores ou pesquisadores que investiram recursos financeiros e humanos para a sua obtenção.

As ICT's brasileiras ainda não se encontram inseridas nessa realidade, para tanto, a promoção de eventos de difusão dessas práticas de busca em bases de patentes torna-se fator chave para a obtenção de sucesso de pesquisas adequadas as exigências e necessidades do mercado.

As pesquisas desenvolvidas junto às atividades-fim das universidades, envolvendo diretamente o ensino e a pesquisa geram dissertações e teses as quais podem ser passíveis de produzir inúmeras



tecnologias a ser implementadas no mercado através da transferência da tecnologia. Da mesma forma, esse contexto é possível através das mudanças no modo de agir do pesquisador da ICT, que buscando um estado da arte referenciado em patentes pode obter a melhor visão do que vem sendo produzido para o mercado atual.

Referências

BRASIL. **Lei 9.279/96** – LPI de 14 de maio de 1996. Regula os direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 8 dez. 1999. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9279.htm>. Acesso em: 21 mar. 2011.

ETZKOWITZ, H. **Hélice Tríplice**: Universidade-Indústria-Governo – Inovação em Movimento, 1ª ed., Porto Alegre: EDIPUCRS, 2009.

LOPES, Ilza Leite. **Estratégia de busca na recuperação da informação: revisão da literatura**. Ciência da Informação, v.31, n.2, p. 60-71, 2002

TARAPANOFF, Kira. **Técnicas para tomada de decisão nos sistemas de informação**. Brasília: Thesaurus, 1995.

TORRE, Saturnino de La. **Dialogando com a criatividade**. Trad. Cristina Mendes Rodriguez. São Paulo. Ed. Madras. 2005. 267p.



MEJORAMIENTO GENETICO EN ESPECIES DE PROPAGACION VEGETATIVA

VILARÓ, F.¹

¹ Ing. Agr., PhD., Investigador principal del Instituto Nacional de Investigación Agrária - INIA do Uruguay. E-mail: fvilaro@inia.org.uy

Introducción

El sistema de reproducción asexual, permite conservar la identidad genética y uniformidad entre generaciones, no obstante su constitución heterocigota para muchos de sus caracteres. Por lo general este sistema de reproducción se denomina multiplicación clonal, presentando ciertas ventajas y alguna desventaja. Sin embargo, la mayoría de estas especies pueden reproducirse en forma sexual además. Esa condición puede ser explotada para el mejoramiento genético de estas especies, en cruzamientos controlados.

Las especies de propagación vegetativa o clonal presentan características diferenciales que deben considerarse en Programas de Mejoramiento Genético para el desarrollo de nuevos cultivares. Por lo general, el material de plantación, en estos cultivos, es relativamente voluminoso y de conservación limitada. Además, este material puede afectar el rendimiento y calidad debido a factores genéticos, fisiológicos y sanitarios.

La condición fisiológica del material de plantación puede tener consecuencias en el desarrollo del cultivo. Diferencias en esta condición son causadas por prácticas de manejo del cultivo anterior, así como de su almacenamiento previo. La elección del cultivar obviamente puede



condicionar el resultado de los cultivos. Además, en estas especies pueden ocurrir cambios somáticos o mutaciones que generan variantes, por lo común desfavorables. Por último, la multiplicación clonal puede propagar involuntariamente enfermedades de infección sistémica e inclusive plagas, a la siguiente generación. Las enfermedades de mayor consideración por lo general son virus, pero además ciertas bacterias y hongos pueden ser de consideración. La ocurrencia de estos dos últimos factores es denominado por lo común, degeneración del cultivar.

Por lo general, la tasa de multiplicación en cultivos clonales es relativamente baja. Esta situación, asociada a la ocurrencia de degeneración mencionada, dificulta la obtención de material de plantación en volumen significativo, encarece el proceso y condiciona la velocidad de renovación varietal. Las técnicas de cultivo y propagación de tejidos *in vitro* se adaptan con ventaja a estos cultivos, permitiendo solucionar en parte estas restricciones. El cultivo de meristemas, además permite el saneamiento de enfermedades de tipo sistémico, en especial virus. Sistemas mejorados de multiplicación, como la hidroponía, permiten aumentar la eficiencia del proceso. Por lo general, es recomendable complementar esa metodología con técnicas de selección masal o clonal preferiblemente para asegurar la identidad genética del material de plantación inicial.

El Programa Nacional de Investigación en Producción Hortícola de Uruguay, perteneciente a INIA, conduce actividades en mejoramiento genético de especies clonales en Papa, Batata, Frutilla y Ajo. En esta contribución se hará referencia a características generales a considerar en el mejoramiento de estas especies, con especial referencia al cultivo de Papa, basado en la experiencia recogida.

Características genéticas

Los cultivos de propagación vegetativa por lo general se benefician de un alto grado de heterocigosis y pueden presentar diferentes niveles de



ploidia. Esto se traduce en la manifestación de efectos heteróticos por interacción inter e intra alélica. Por tanto, la aptitud diferencial de los genotipos en transmitir efectos favorables a sus progenies es de difícil predicción. Sin embargo, la propagación clonal permite mantener entre generaciones cualquier combinación genética exitosa, representando una ventaja para el mejoramiento.

Por lo común, diferentes progenitores y combinaciones específicas pueden generar progenies relativamente superiores. Pruebas de progenie son útiles para determinar la Habilidad Combinatoria General y Específica (acción génica aditiva y no aditiva), para diferentes caracteres. Inclusive se han desarrollado diseños específicos que permiten determinar estos efectos con rigor estadístico, produciendo además estimadores válidos de la heredabilidad de ciertos caracteres, para la población considerada.

En el desarrollo del proceso de selección clonal, en particular durante las primeras generaciones, es posible determinar las progenies con mejor grado de adaptación, expresado en mayor porcentaje de selección y rendimiento medio superior. La performance media de un progenitor, en varias combinaciones o su polinización por una mezcla de individuos, permite extraer conclusiones sobre su aptitud para transmisión de caracteres favorables. La utilización de semillas provenientes de la polinización abierta de diferentes genotipos, es otra alternativa que puede indicar la aptitud diferencial de los mismos.

Se ha demostrado que la mayoría de los caracteres de interés en estos cultivos, son de base poligénica, es decir que son regulados por varios genes, en forma aditiva. Por lo general, estos genes favorables se encuentran en baja frecuencia. Además, el nivel superior de plodía, puede generar sistemas de herencia más complejos. Por ejemplo, en la papa cultivada se ha demostrado la ocurrencia de herencia tetrasómica. Este tipo de herencia, a diferencia de la disómica, afecta la segregación de caracteres de interés. En definitiva, este fenómeno puede reducir la frecuencia de individuos favorables. Estos factores, en conjunto con la



característica de multialelismo, por lo general, dificultan el avance genético.

Metodologías de selección

La técnica de mejoramiento poblacional por selección recurrente, es decir el desarrollo de ciclos sucesivos de selección por caracteres de interés y entrecruzamiento entre individuos selectos, es recomendada para aumentar la frecuencia en caracteres deseados. Esta metodología permite desarrollar poblaciones con mayor adaptación general y frecuencia incrementada de caracteres favorables. De esta manera es factible seleccionar progenitores de buena habilidad combinatoria general, es decir con mayor frecuencia de individuos deseados, en programas de desarrollo varietal.

En la implementación de un programa para desarrollo de variedades mejoradas, deben considerarse los factores de selección. Obviamente, la probabilidad de éxito dependerá del número de factores a considerar. Para desarrollar un nuevo cultivar con probabilidad de adopción, éste deberá poseer suficiente adaptación agronómica y comercial, superando al menos en algún carácter de importancia a los cultivares impuestos. En los sistemas de producción convencional, la resistencia a enfermedades de interés no sería un factor determinante para promover el desarrollo de un nuevo cultivar. Sin embargo, en el caso de sistemas de producción ecológica o productores de escasos recursos, ese factor puede resultar decisivo.

Cualquier proceso de mejoramiento genético debe considerar la variabilidad genética disponible, tipo de herencia (de base cualitativa o cuantitativa) y metodologías para determinar individuos favorables. Los factores de selección deben considerar, características de adaptación a las condiciones de cultivo, resistencia a enfermedades y características de calidad comercial, aptitud de uso para fresco o procesado, nutricional u otras que permitan la diferenciación a nivel de mercado. El número de



factores a considerar, así como la heredabilidad de los mismos, determinará el número y tamaño de las progenies a seleccionar. Para cada cultivo, existe un número indicativo de individuos para selección inicial anualmente, determinado por la probabilidad de éxito y consideraciones económicas o de escala.

Por lo general, programas de mejoramiento genético establecidos, disponen de germoplasma relativamente adaptado. Por lo tanto existe cierta probabilidad de éxito para el desarrollo de cultivares mejorados en un plazo razonable, es decir 6 a 8 años. Si no se dispone de germoplasma con cierto grado de adaptación, la probabilidad de combinar los caracteres deseados en este tipo de especies, es relativamente baja. En consecuencia, debe considerarse una etapa inicial para conformar una población mejorada, en los caracteres de interés. La introducción y selección clonal, a partir de progenies segregantes de otros programas que cuenten con variabilidad genética favorable, constituye un excelente punto de partida. Obviamente, el proceso puede desarrollarse con mayor rapidez si las condiciones agroclimáticas de origen son similares.

El método de mejoramiento por pedigree implica cruzamientos controlados y registro de performance en progenies individuales. Como se indicó anteriormente, esta información permite aumentar las probabilidades de éxito. En estas especies, la primera generación representa el máximo de segregación esperada. La selección clonal implica propagar selectivamente aquellos individuos más destacados durante varias generaciones. Tradicionalmente, los caracteres a considerar en las etapas iniciales son aquellos de mayor heredabilidad, de carácter cualitativo. El tamizado temprano, en condiciones controladas, para caracteres de fácil expresión, permite reducir rápidamente los individuos a considerar, acelerando el progreso genético.

En las siguientes generaciones se reduce significativamente el número de individuos, aumentando el número de plantas por clon, siendo posible ejercer presión de selección por caracteres cuantitativos. En etapas



finales, se utilizan parcelas repetidas en diseños estadísticos para eliminar factores ambientales. La inclusión de varias localidades en esta fase permite acelerar el proceso. En paralelo pueden realizarse pruebas comerciales de validación, en predios de productores para considerar otro tipo de factores. Recientemente se han desarrollado diseños especiales para considerar un conjunto de estos ensayos (diseño mamá-bebé) incorporando además el punto de vista del productor.

Durante todo el proceso es conveniente estandarizar los procedimientos, así como criterios de selección para permitir la comparación de resultados entre temporadas de cultivo. El origen y condición del material de plantación deben uniformizarse además. Por último, debido a la baja tasa de multiplicación común en estas especies, es recomendable iniciar el proceso de producción de semilla en etapas anteriores a su eventual registro y liberación como cultivar comercial. Esta semilla puede ser utilizada además en procesos de validación y difusión, a nivel productivo.

Características genéticas de la papa

Este cultivo presenta un alto potencial para la producción de alimento con calidad nutricional, en corto tiempo y superficie. Es de destacar que la mayoría de los cultivares comerciales disponibles en nuestra región, han sido desarrollados en el Hemisferio Norte. El mejoramiento genético local puede facilitar la concreción de esta oportunidad.

El origen de este cultivo se ha propuesto en la región Andina de América del Sur. Cultivares primitivos pertenecientes a diferentes especies son aún cultivadas en esa región. El Grupo Andigena, perteneciente al género *Solanum*, de constitución tetraploide es la de mayor difusión en los países andinos ($2n=4x=48$). Se han señalado algunas especies silvestres relacionadas, de ocurrencia común en la región, que habrían contribuido en su desarrollo y adaptación. Hace varios milenios, el cultivo por parte de



comunidades primitivas, contribuyó a establecer esta especie, en esa región. Otro tipo de cultivares primitivos de cierta importancia actual por su cultivo en esa área, en particular para regiones de baja altitud, pertenecen al grupo diploide *phureja* ($2n=2x=24$).

Este cultivo es particularmente rico en diversidad genética aprovechable, en la medida que se han descrito más de 200 especies silvestres relacionadas, pertenecientes a este género. Las mismas pertenecen a varios niveles de ploidía, desde diploide hasta hexaploide, predominando las primeras. Estas especies constituyen un trascendente reservorio de factores genéticos favorables. También se ha demostrado que la mayoría de estas especies pueden recombinarse a partir de cruzamientos con clones cultivados, permitiendo transferir caracteres de interés.

No obstante, se reconocen algunas barreras pre y post cigóticas de compatibilidad en cruzamientos interespecíficos. Entre estas últimas, la teoría del balance en número del endosperma (EBN) asigna un número a cada especie (1, 2 o 4), a partir de especies modelo. Los grupos *Tuberosum* y *Andigena* han sido asignados con el número 4. Esta clasificación permite conocer por anticipado la probabilidad de éxito de una combinación genética particular, entre diferentes especies, independiente de su nivel de ploidía. La ocurrencia de gametas no reducidas, fenómeno reconocido en este grupo de especies, facilita la realización de cruzamientos normalmente impedidos por esas barreras. Además, se ha demostrado que este mecanismo de poliploidización genética permite transmitir un mayor grado de heterocigosis que la duplicación somática, en particular si el mecanismo ocurre en la primer fase de división meiótica (FDR).

Por otra parte, se cita que poblaciones de papa, encontradas en archipiélagos del sur de Chile, representan divergencia suficiente para ser denominadas pertenecientes al grupo *Tuberosum*, de constitución tetraploide y herencia tetrasómica también. Las papas de este grupo, a



diferencia de las del grupo *Andigena*, presentan adaptación a baja altitud y latitudes altas y presentan diferente constitución genética, en particular a nivel citoplásmico. Esto demostraría la contribución de otras especies silvestres en el desarrollo y evolución de este grupo. Muestras de ambos grupos habrían sido llevadas por los europeos durante la conquista, predominando las del grupo *Tuberosum*, por mejor rango de adaptación, a partir del siglo XIX.

Mejoramiento genético de papa

En Latino América, así como en el resto del mundo, con la excepción del área andina, el germoplasma perteneciente al grupo *Tuberosum* presenta mejor adaptación a condiciones de cultivo. Es decir, temperatura relativamente alta y mayor duración del fotoperíodo. Diversos estudios han señalado la reducida base genética de la mayoría de los cultivares comerciales en este grupo, particularmente en el Hemisferio Norte. El escaso número de introducciones originales de ese grupo ha sido bien documentado.

Por lo general, los cultivares comerciales de ese origen, presentan ciertos problemas de adaptación a nuestras condiciones agroclimáticas. Además, requieren una alta incorporación de insumos para su cultivo (fertilizantes y agroquímicos) frecuente renovación de semilla, parcialmente importada y manejo agronómico óptimo, incluyendo riego suplementario. En consecuencia, para la concreción de este cultivo se debe incurrir en un alto costo y se constata una elevada concentración de su producción por parte de un reducido número de agricultores.

Aspecto destacable de estos cultivares es su calidad comercial, en aspectos visuales de forma, uniformidad y aspecto externo. Como desventaja se destaca una baja proporción de cultivares con aptitud para procesamiento, aspecto en demanda creciente en la mayoría de las regiones. Por otra parte, el ciclo vegetativo y la dormancia (período que



demoran en brotar los tubérculos) son relativamente más largos que lo deseado.

La mayoría de estos cultivares presentan adaptación a condiciones de clima más moderado (temperatura, intensidad de precipitación) y en sistemas de plantación de un cultivo por año. En muchas situaciones de países de clima subtropical a templado, es común la realización de dos ciclos de cultivo por año. En esta situación, se dificulta la estabilidad de performance entre épocas de plantación con características agroclimáticas diferenciales.

Desordenes fisiológicos también pueden ocurrir con cierta frecuencia, en particular durante alguna de las épocas de cultivo. Entre las enfermedades de mayor significación pueden citarse los tizones y virosis. Dentro de estos últimos, en especial el virus del mosaico o PVY, es de muy difícil control, obligando a la renovación anual de semilla para reducir pérdidas de producción.

Estos factores son la principal justificación para encarar procesos de mejora genética para el desarrollo de cultivares de mayor adaptación local. Obviamente, el número de caracteres a considerar, la complejidad de su herencia y la base genética reducida en la mayoría de cultivares comerciales, dificulta el éxito. En el Cono Sur de América, a excepción de Uruguay, con la implementación más reciente, los demás países establecieron sus programas de mejora genética a partir de la década del 40, del siglo pasado. En distintos momentos, los diversos programas lograron imponer algunas variedades desarrolladas localmente. Las exigencias en calidad comercial y aptitud para algunos destinos industriales han provocado ciertos retrocesos respecto a variedades del exterior que comienzan a ser revertidos.

La primer consideración a realizar implica determinar en qué fase del proceso es factible desarrollar actividades, dependiendo de los objetivos planteados así como las capacidades y recursos disponibles. Una



primera fase consiste en la introducción de variedades y clones avanzados, a partir de otros programas. La introducción de progenies segregantes, permite disponer de mayor variabilidad, para ejercer selección. Posteriormente, podrían establecerse cruzamientos controlados entre individuos que han demostrado adaptación y características favorables deseadas.

En cualquier caso interesa acceder a germoplasma variable, con suficiente diversidad genética que permita un progreso consistente. El desarrollo de germoplasma con cierto grado de adaptación a partir de material con alta diversidad, es denominada pre mejoramiento por lo general. La primer opción a recurrir es el germoplasma perteneciente a los grupos de cultivares primitivos (*Andigena*, *Phureja* y otros). Factores de adaptación agroclimática han limitado su contribución, a pesar de su probable contribución en diversos caracteres de interés.

El desarrollo de poblaciones adaptadas a latitudes altas, de ese germoplasma, manteniendo su variabilidad genética, fue encarado por parte de algunos programas del Hemisferio Norte. En el caso de *Andigena*, este germoplasma se conoce como *Neotuberosum*. Posteriormente se ha demostrado la contribución de este material, favoreciendo la adaptación, resistencia a enfermedades y caracteres de calidad. La Universidad de Cornell en Norteamérica ha contribuido con este desarrollo a numerosos programas.

La introgresión de caracteres de interés a partir de especies silvestres citadas anteriormente, también constituye una estrategia factible de encarar. A principios de 1900 se logró considerable progreso, incorporando factores cualitativos de resistencia al tizón (*P. infestans*) a partir de la especie *S. demissum*. Posteriormente se logró incorporar otras resistencias, a partir de diversas especies. Mediante sucesivas retrocruzas se lograba reducir la contribución de caracteres desfavorables. En particular el Instituto Max Planck en Alemania, así como otros programas,



a partir de mediados del siglo pasado han incorporado algunos factores de resistencia, a partir de estas especies.

Algunos clones de ese instituto alemán (MPI) introducidos en la región a principios de 1970, constituyeron posteriormente la base de un germoplasma de alto valor para los programas de Argentina y Chile. Posteriormente por intermedio del Centro Internacional de la Papa, han permitido desarrollar numerosas variedades con importante adaptación, en diversas regiones.

Más recientemente se ha comprobado la contribución de estas especies así como las del grupo *Neotuberosum* y *Phureja* para ampliar la base de adaptación en este cultivo, mejorando su productividad y estabilidad de performance. Una contribución significativa al respecto ha sido el programa de mejoramiento poblacional impulsado por el Centro Internacional de la Papa, a partir de su creación en la década del 70.

Una metodología utilizada para incorporar germoplasma silvestre al cultivado, consiste en la obtención de haploides ($2n=2x=24$) del grupo *Tuberosum*. Otro esquema factible ha sido la utilización de especies puente, del grupo *Phureja* por ejemplo. Este proceso fue liderado en su momento por la Universidad de Wisconsin, sede del Banco de Germoplasma de especies silvestres, más diverso. A partir de estos desarrollos y considerando la menor complejidad de la herencia a nivel diploide, se ha postulado la conveniencia de desarrollar poblaciones de mejoramiento a este nivel. La utilización del mecanismo citado de gametas no reducidas, permite posteriormente recuperar el nivel tetraploide deseado para el desarrollo de cultivares comerciales.

En forma complementaria, el Centro Internacional de la Papa, constituye el principal reservorio de variedades primitivas cultivadas, de los diferentes grupos, en particular *Andigena*. Diversas poblaciones de mejoramiento, en particular para resistencia a virus y tizones, así como para adaptación a calor han sido desarrolladas por ese Centro, a partir de



ese germoplasma y de programas en diversos países. Cierta limitación con germoplasma de ese origen es su limitada adaptación a fotoperíodo largo y ciertas características deficitarias en calidad comercial.

Progenies segregantes de ese origen constituyen la base de nuestro programa de mejoramiento en el cultivo, a partir de la década del 80. Inicialmente se aplicó selección para adaptación y resistencia a virus y tizones, mediante exposiciones controladas. A continuación se implementó un esquema de cruzamientos y selección convencional para combinar este germoplasma, logrando desarrollar algunas variedades locales, a partir de la década siguiente.

En base a requerimientos de adaptación diferentes, estos cruzamientos se conducen a nivel de dos poblaciones, para el desarrollo de variedades adaptadas a la región sur y norte del país. La conducción de los cruzamientos se realiza entre temporadas de cultivo para acelerar el proceso, preferiblemente en estructuras protegidas. La prolongación artificial del fotoperíodo y regulación de temperatura nocturna promueven una mayor floración, facilitando los cruzamientos deseados.

Anualmente se someten a selección inicial un total de 40 a 50.000 individuos, que representa un compromiso entre probabilidad de éxito y recursos disponibles. El porcentaje de selección en esta etapa es inferior al 5%. En las generaciones siguientes se utilizan sucesivamente alrededor de 6, 12 y 20 plantas. A medida que progresan las etapas, se alcanzan porcentajes de selección superiores, aproximadamente 20 a 30%. En todas etapas se utiliza un reducido número de aplicaciones, con productos de contacto solamente para favorecer la expresión de susceptibilidad a tizones y virosis. Los clones avanzados son testados por serología para los principales virus, en particular PVY, PVX, PLRV y PVS para comprobar lecturas visuales.

En etapa reciente se demostró mediante la validación de marcadores moleculares la existencia en nuestro germoplasma del factor



para inmunidad a PVY (Ry_{adg}), de carácter monogénico dominante, proveniente seguramente de la población *Neotuberosum*. Al presente se ha incorporado esta determinación en forma rutinaria para la selección de progenitores que poseen esta característica deseada.

En esta década se ha iniciado un proceso de pre mejora para la incorporación de factores de adaptación, a partir de la especie endémica local *S. commersonii*. En particular se enfatiza en resistencia a marchitez bacteriana, a partir de la comprobación de su existencia en esta especie. Se espera además contribuir con otras factores de adaptación, citados para esta especie (temperaturas extremas, sequía).

La metodología involucró la utilización de gametas no reducidas y clones del grupo *Phureja* como especie puente, porque esta especie pertenece al grupo EBN 1. En una segunda etapa y nuevamente mediante la ocurrencia de gametas 2n se logró incorporar este híbrido al germoplasma de *Tuberosum*. Esta secuencia se demostro a nivel molecular, con la contribución doble de alelos de la especie *cmm*, mediante gametas 2n. Algunos de estos híbridos, aún conservan resistencia importante a la *marchitez bacteriana*. Actualmente se cuenta con clones selectos correspondientes a la primer retrocruza con variedades del grupo *Tuberosum*. La tuberización y productividad se han incrementado significativamente, respecto a la especie silvestre. Se postula aplicar un proceso de selección recurrente para mejorar la adaptación de este germoplasma, sin perder factores de interés en el proceso.

Consideraciones finales

Se constata un rápido desarrollo de diversas metodologías en varias disciplinas asociadas, en particular técnicas moleculares. Estas técnicas podrán contribuir en mayor grado, en la medida que recientemente se ha logrado conocer el genoma del cultivo de papa. Técnicas en patología y en tecnología de alimentos también permitirían



mejorar la eficiencia del proceso de selección. La colaboración con diferentes especialidades e instituciones podrá contribuir en este proceso.

Las especies de propagación vegetativa presentan características genéticas diferenciales que deben considerarse en la implementación de programas de mejoramiento. Además, el material de plantación requiere manejo específico para facilitar el proceso de selección y acelerar el desarrollo de variedades. Nuevas tecnologías están disponibles para facilitar el proceso.

Considerando las condiciones de producción y la disponibilidad de variabilidad, existen oportunidades de mejora genética, para nuestras condiciones, particularmente en el cultivo de papa. La utilización de germoplasma diverso, en particular especies silvestres de la región permitirán ampliar la base genética del cultivo. La poliploidización por gametas no reducidas permite incorporar la mayor parte de la variabilidad genética de estas especies.

Diversos factores de adaptación limitan la utilización de germoplasma valioso en este cultivo. Debido estas características genéticas y diversidad de requerimientos para el desarrollo de variedades competitivas, es imprescindible desarrollar germoplasma de buena adaptación a las condiciones locales. El mejoramiento de poblaciones por selección recurrente constituye una herramienta apropiada para desarrollar germoplasma con suficiente adaptación y variabilidad genética para caracteres de interés.

La cooperación entre programas e instituciones de la región permitirá consolidar los avances logrados. Diversas instancias colaborativas han permitido fortalecer nuestros programas. Actualmente se puede citar la red colaborativa iberoamericana LatinPapa (<https://research.cip.cgiar.org/confluence/display/redlatinpapa>).



Bibliografía de referencia

ESTRADA RAMOS, N. **La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa**. Bolivia: Proinpa-CID-CIP. 1999. 372 p.

DA SILVA PEREIRA, A. **Melhoramento Genético**. En: O cultivo da batata na região sul do Brasil. Embrapa: Brasília. p 105-124, 2003.

CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. **Procedimientos para pruebas de evaluación estándar de clones avanzados de papa**. Guía para cooperadores internacionales. Lima, Perú. 2010. 151 p.

HAVERKORT, A. J. and STRUIK, P. C. Ed. **Potato in Progress**. The Netherlands: Wageningen Academic Press Publishers. 2005. 365 p.

BRADSHAW, J. E. and MACKAY G.R. Ed. **Potato Genetics**. Commonwealth Agriculture. 1994. 576 p.

PLAISTED, R. L. **Potato**. En: Hybridization of Crop Plants. Madison: American Society of Agronomy, p. 283-494, 1980.

ROSS, H. **Potato Breeding problems and perspective**. En: Fortschritt der Pflanzen zuchtung 13. Berlin: Verlag Paul Parey, p. 1-132, 1986.