

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS BOTUCATU

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES, ENRAIZAMENTO DE ESTACAS
CAULINARES E CULTIVO *IN VITRO* DE CUBIU
(*SOLANUM SESSILIFLORUM* DUNAL.).**

ERNESTO OLIVEIRA SERRA PINTO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU - SP
Dezembro 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS BOTUCATU

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES, ENRAIZAMENTO DE ESTACAS
CAULINARES E CULTIVO *IN VITRO* DE CUBIU
(*SOLANUM SESSILIFLORUM* DUNAL.).**

ERNESTO OLIVEIRA SERRA PINTO

Orientadora: Prof^a. Dra. Sarita Leonel

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU - SP
Dezembro 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P659g Pinto, Ernesto Oliveira Serra, 1963 -
Germinação de sementes, enraizamento de estacas cauli-
neares e cultivo *in vitro* de cubiu (*Solanum sessiliflorum*
Dunal) / Ernesto Oliveira Serra Pinto. - Botucatu: [s.n.,
2006.

viii, 42 f. : il., color., gráfs, tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Facul-
dade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006

Orientador: Sarita Leonel

Inclui bibliografia

1. Germinação. 2. Propagação por estaquia. 3. Cubiu. 4. Ca-
logênese. I. Leonel, Sarita. II. Universidade Estadual Pau-
lista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Fa-
culdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

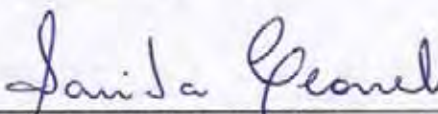
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

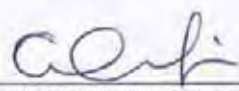
TÍTULO: “GERMINAÇÃO DE SEMENTES, ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES E CULTIVO IN VITRO DE CUBIU (*Solanum sessiliflorum* Dunal.)”

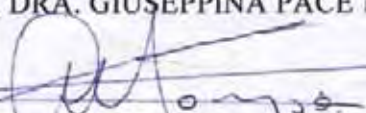
ALUNO: ERNESTO OLIVEIRA SERRA PINTO

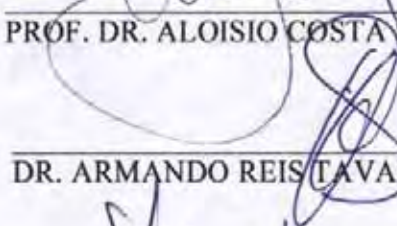
ORIENTADOR: PROFA. DRA. SARITA LEONEL

Aprovado pela Comissão Examinadora


PROFA. DRA. SARITA LEONEL


PROFA. DRA. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA


PROF. DR. ALOISIO COSTA SAMPAIO


DR. ARMANDO REIS TAVARES


DRA. STELA MARIA CARVALHO VILHENA

Data da Realização: 01 de dezembro de 2006.

DEDICO

AOS MEUS FILHOS,

AOS MEUS IRMÃOS,

AOS MEUS AMIGOS.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Amazonas, por permitir e estimular o meu aprimoramento profissional.

A Universidade Estadual Paulista/Faculdade de Ciências Agrônômicas, pela qualidade do curso oferecido.

A Fundação de apoio à pesquisa do Estado do Amazonas, pela concessão de bolsa de estudos.

A Professora Sarita Leonel, pela Orientação, exemplo profissional e amizade.

A Professora Giusepina Pace Pereira Lima, pelo acompanhamento e orientação durante a realização dos experimentos e amizade.

Ao meu Irmão Antonio José Oliveira Serra Pinto, pelo exemplo, estímulo e apoio para a realização desta jornada.

Aos meus novos amigos da cidade de Botucatu.

Aos Professores pelo ensinamento transmitido.

Aos funcionários da Faculdade de Ciências Agrônômicas, pela presteza em auxiliar os acadêmicos sempre que necessário.

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUÇÃO	5
4. REVISÃO DE LITERATURA	7
4.1 A espécie.....	7
4.2 Propagação.....	10
4.3 A germinação e o tipo de substrato empregado.....	10
4.4 Enraizamento de estacas caulinare.....	13
4.5 Germinação e calogênese <i>in vitro</i>	16
5 MATERIAL E MÉTODOS	18
5.1 Germinação de sementes de cubiu	18
5.2 Enraizamento de estacas de cubiu	20
5.3 Germinação e calogênese de cubiu	22
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6.1 Germinação de sementes de cubiu	25
6.2 Enraizamento de estacas de cubiu	28
6.3 Germinação e calogênese de cubiu.....	33
7 CONCLUSÕES.....	37
8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Frutos de cubiu cv. Àlejo`.....	9
Figura 2 Valores médios para as temperaturas mínimas, médias e máximas no interior da casa de vegetação, nos meses de março, abril, maio e junho, Botucatu, SP, 2005.....	19
Figura 3 Valores médios para as temperaturas mínimas, médias e máximas no interior da casa de vegetação, nos meses de outubro, novembro, dezembro, janeiro e fevereiro, Botucatu, SP, 2004/5.....	21
Figura 4 Porcentagem de germinação de sementes de cubiu, semeadas em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005.....	27
Figura 5 Índice de velocidade de germinação de sementes de cubiu, semeadas em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005.....	28
Figura 6 Porcentagem de enraizamento de estacas de Cubiu, em função do substrato e concentrações de NAA. Botucatu, SP, 2004/5.....	30
Figura 7 Comprimento médio de raiz em estacas de Cubiu, em função do substrato e concentrações de NAA. Botucatu, SP, 2004/5.....	31
Figura 8 Porcentagem de estacas brotadas de Cubiu, em função do substrato e concentrações de NAA. Botucatu, SP, 2004/5.....	32
Figura 9 Formação e comprimento de calo de Cubiu, em função da concentração de 2,4-D no meio de cultivo MS. Botucatu, SP, 2005.....	35
Figura 10 Número de plantas e número de folhas de Cubiu, em função da concentração de 2,4-D no meio de cultivo MS. Botucatu, SP, 2005.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características químicas do solo utilizado como substrato no experimento, Pomar do Departamento de Produção Vegetal/FCA/UNESP/Botucatu. 2005.....19

Tabela 2 Resumo da análise de variância as variáveis: porcentagem de germinação (GER%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de cubiu, semeadas em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005..... 26

Tabela 3 Valores médios observados para as variáveis: porcentagem de germinação (GER%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de cubiu, semeadas em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005..... 26

Tabela 4 Resumo das análises de variância para porcentagem de enraizamento de estacas, comprimento total de raiz e porcentagem de estacas brotadas de cubiu, aos 120 dias após o plantio. Botucatu, SP, 2004/5..... 29

Tabela 5 Valores médios observados para as variáveis: porcentagem de enraizamento de estacas, comprimento total de raiz e porcentagem de estacas brotadas de cubiu, submetidas a quatro concentrações de ácido naftaleno acético (NAA) e plantadas em dois tipos de substratos, aos 120 dias após o plantio. Botucatu, SP, 2004/5..... 30

Tabela 6 Valores médios para porcentagem de germinação de sementes de cubiu *in vitro* aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias de incubação. Botucatu, São Paulo, 2004..... 33

Tabela 7 Resumo das análises de variância do cultivo *in vitro* de Cubiu para formação de calo, comprimento do calo (cm), número de plantas e número de folhas. Botucatu, São Paulo, 2004..... 34

Tabela 8 Medias do cultivo *in vitro* do cubiu para formação do calo, comprimento do calo (cm), numero de plantas e numero de folhas. Botucatu, São Paulo, 2004..... 34

1. RESUMO

Espécie pertencente à família das Solanáceas, o cubiu apresenta potencial de cultivo. No entanto, apesar das diversas possibilidades de utilização da planta, a propagação desta ainda é realizada por sementes botânicas. Nesse contexto, os experimentos realizados no presente trabalho tiveram como objetivos avaliar os efeitos de diferentes substratos na promoção e uniformização da germinação de sementes, a propagação através do enraizamento de estacas e a germinação e calogênese do cubiu *in vitro*. Para atingir tal objetivo foram realizados três experimentos diferentes que são descritos a seguir: 1 - germinação de sementes: sementes provenientes do Laboratório de Sementes da Coordenadoria de Pesquisa em Ciências Agrárias/INPA, obtidas de plantas do cultivar Alejo, foram colocadas para germinar em caixas plásticas preenchidas com nitossolo vermelho, vermiculita triturada, areia lavada e plantmax[®]. Aos 90 dias após a semeadura avaliou-se a porcentagem e o índice de velocidade de germinação. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos correspondentes aos substratos avaliados, 4 repetições e 50 sementes por parcela experimental. Os resultados evidenciaram não haver diferença significativa entre o nitossolo vermelho e a vermiculita triturada, sendo estes superiores aos demais tratamentos. 2 – enraizamento de estacas: foram empregadas estacas herbáceas com 6-7cm de comprimento, contendo uma gema e ½ folha. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com 8 tratamentos constituídos pelas combinações entre os fatores substrato e doses de regulador vegetal. Dentro do fator substrato foram avaliados dois níveis: areia fina lavada e vermiculita triturada. O regulador vegetal aplicado foi o ácido naftalenoacético nas concentrações de 0,

250, 500 e 1000 mg.L⁻¹, por 5 segundos. Concluiu-se sobre a viabilidade de utilização de areia fina lavada e vermiculita triturada como substratos para o enraizamento por não haver diferença estatística entre os mesmos. O ácido naftalenoacético na concentração de 500mg.L⁻¹ apresentou as melhores médias, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, independentemente do substrato avaliado. 3 – germinação e calogênese *in vitro*: as sementes após o processo de desinfecção foram inoculadas horizontalmente sobre o meio de cultivo MS, sendo mantidas em sala de crescimento durante 30 dias. Após este período, foi avaliado o número de sementes germinadas. O experimento foi constituído de 4 repetições de 10 tubos e cada tubo com 3 sementes. O maior porcentual de germinação foi de 82%. Para o estudo de indução de calos, foram utilizados explantes jovens, de plântulas oriundas do experimento de germinação. Os explantes tinham 1,5 cm de comprimento, foram divididos em dois blocos, um constituído pelos explantes do epicótilo e o outro pelo hipocótilo. Foram inoculados em meio de cultivo MS, acrescido das concentrações do regulador vegetal e após 40 dias foram avaliados a indução de calogênese, o comprimento do calo, o número de plantas brotadas e o número de folhas. Foi empregado o delineamento em blocos casualizados, com 3 tratamentos constituídos pelas doses de 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxi-acético), nas concentrações de 0; 0,5; e 2,0 mg.L⁻¹, com 4 repetições e 5 tubos de ensaio por parcela. Os resultados obtidos evidenciaram que o 2,4-D interferiu na formação, no comprimento do calo e no número de plantas brotadas de cubiu, sendo que a concentração de 2,0 mg.L⁻¹ apresentou as melhores médias, porém sem diferir estatisticamente da concentração de 0,5mg.L⁻¹.

Palavras-chave: *Solanum sessiliflorum*, germinação, substrato, estaquia e calogênese.

SEEDS GERMINATION, ROOTING OF CUTTINGS AND CULTIVATED IN VITRO OF CUBIU (*Solanum sessiliflorum* Dunal.)

Author: ERNESTO OLIVEIRA SERRA PINTO

Adviser: Prof^a Dr^a SARITA LEONEL

2. ABSTRACT

Pertaining species to the family of the solanacea, cubiu it presents cultive potential. However, although the diverse possibilities of use of the plant, the propagation of this still is carried through by botanical seeds. In the context, the experiments carried through in the present study had as objective to evaluate the substrate effect different in the promotion of the germination seeds, the propagation through the rooting of cuttings and the germination and callus formation of cubiu in vitro. To reach such objective three different experiments had been carried through that are describe to follow. 1- germination of seeds: seeds proceeding from the Laboratory of Seeds of the Coordination of Research in Agrarian/INPA, gotten of plants of cultivated variety Alejo, had been placed to germinate in filed plastic boxes with nitosoil red, vermiculite triturated, washed sand and plantmax[®]. To the 90 days after the sowing evaluated it percentage and the index of germination speed. Experimental design was cinpletely randomized, with 4 corresponding treatments to evaluated substrate, 4 repetitions and 50 seeds per plot. The results had evidenced not to have significant difference between nitosoil red and the triturated vermiculite, being these superiors to the too much treatments. 2- rooting of cuttings: of herbaceous stakes with 6-7 cm of length had been used, contend one shoots and ½ leaf. A cinpletely randomized design was used, at factorial scheme of 2 x 4, with 8 treatments consisting of the combinations between the factors substrate and 4 doses of vegetable regulator. Inside of the factor

substrate two levels had been evaluated: trituated vermiculite and fine sand washed. The applied vegetable regulator was the naftalen ascetic acid in the concentrations of 0; 250; 500 and 1000 mg.L⁻¹, per 5 secons. It was conclued on the viability of trituated vermiculite and fine sand washed use as substrate for rooting cuttings for not having difference statistics between the same ones. The naftalen ascetic acid in the concentration of 500 mg.L⁻¹ presented the best averages, differing from the too much treatments, independently statistic from the evaluated substrate. 3- germination and callus formation in vitro: the seeds the disinfection process had been after inoculated horizontally on the way of culture MS, being kept in room of growth during 30 days. After this period, was evaluated the number of germinated seeds. The experiment was constituted of 4 repetitions of 10 pipes and 3 seeds per pipes. The percentual greater of germination was of 82%. For the study of callus formation, explantes young, of plant deriving had been used of the germination experiment. The explantes had 1,5 cm of length, had been divided in two blocks, one constituted of the explantes of epicotil and the other for the one of hipocotil. They had been inoculated in way of culture MS, increased concentrations it regulator vegetable and after 40 days had been evaluated the of callus formation, the length of the callus, the number of sprouted plants and the leaf number. Experimental design was randomized blocks, with 3 treatments consisting of the doses of 2,4-D (2,4-diclorofenoxi ascetic acid), in the concentrations 0; 0,5 and 2,0 mg.L⁻¹, with 4 repetitions and 5 pipes per plot. The gotten results had evidenced that 2,4-D intervened with the callus formation, in the length of the callus and in the number of plants sprouted of cubiu, being that the 2,0 mg.L⁻¹ of concentration presented the best averages, however without differing statisticly from the concentration of 0,5 mg.L⁻¹.

Word key: *Solanum sessiliflorum*, germination, substratum, rooting of cutting, callus formation.

3. INTRODUÇÃO

O cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal.) é uma espécie da família Solanaceae, que foi domesticada na Amazônia ocidental (CLEMENT & SILVA FILHO, 1994). Na Amazônia brasileira, o cubiu é cultivado em escala doméstica (PAHLEN, 1977), em áreas superiores a dois hectares, com a produção destinada à exportação (CLEMENT & SILVA FILHO, 1994). Em São Paulo, no Vale do Ribeira, alguns cultivos já existem, em áreas pequenas, com no máximo mil pés da planta (<http://www.todafruta.com.br>).

O cubiu é um fruto bastante promissor para a Amazônia, pois apresenta algumas propriedades nutritivas, tem sabor agradável, boa aparência e cultivo relativamente fácil. Entretanto, pela falta de estudos científicos sobre a espécie, desde a propagação até o beneficiamento do fruto, o mesmo não tem uma considerável difusão, e conseqüentemente demanda no mercado interno (SILVA FILHO, 1994).

O cubiu apresenta potencialidades para a agricultura moderna, dada à sua rusticidade, boa capacidade de produção e possibilidades do aproveitamento de seus frutos de formas diversificadas. Normalmente, a espécie cresce bem em qualquer tipo de solo ácido e pobre da Amazônia e é pouco atacada por pragas e doenças. Os frutos, ricos em ferro, niacina (vitamina B₅) e pectina, são utilizados como alimento, consumidos *in natura* ou nas formas de sucos, doces, geléias ou ainda acompanhando pratos à base de carne, frango e peixe. Na medicina popular é utilizado para reduzir os níveis elevados de colesterol, ácido úrico e glicose no sangue (SILVA FILHO, 1994).

Nas poucas áreas cultivadas existentes no norte do Brasil, o cubiu vem sendo propagado através de sementes botânicas. A produção de mudas constitui uma etapa muito importante para o sucesso do sistema de produção de uma cultura, visto que o desempenho final das plantas no campo depende diretamente da qualidade das mudas. Nos últimos anos, importantes mudanças na produção de solanáceas, como o tomate e o pimentão, têm sido observadas, incluindo a utilização de técnicas de enxertia, estaquia, e a utilização de substratos apropriados para cada etapa do sistema de produção (MOREIRA et al., 2004).

Deste modo, mudanças na forma de produção de mudas, estão ocorrendo para que o produtor possa conseguir explorar o potencial máximo de seu cultivo.

A propagação vegetativa através da estaquia constitui-se numa alternativa para a multiplicação das plantas, permitindo a manutenção das características desejáveis das plantas matrizes, em um curto espaço de tempo (MELETTI, 2000).

A cultura de tecidos compreende um conjunto de técnicas, nas quais, um explante, que pode ser constituído de uma célula, tecido ou órgão, é isolado e cultivado em condições assépticas sobre um meio nutritivo artificial e incubado em condições ambientais controladas (MROGINSKI & ROCA, 1993). Atualmente, constitui-se numa das mais modernas técnicas para a propagação de plantas.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo geral à avaliação de diferentes sistemas de propagação do cubiu. Como objetivos específicos, as propostas visaram avaliar:

- A) Os efeitos de diferentes substratos, na promoção e uniformização da germinação de sementes de cubiu.
- B) A propagação do cubiu através do enraizamento de estacas, empregando-se regulador vegetal e diferentes substratos.
- C) A germinação e calogênese do cubiu *in vitro*, em função de regulador vegetal.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. A espécie

Segundo Brucher apud Pahlen (1977), o cubiu é originário da região Amazônica (Alto Orinoco) e é plantado em toda região (Amazônia brasileira, peruana e colombiana). Foi domesticado pelos índios e se encontra disperso por quase toda a região tropical do continente sul-americano. No Brasil é predominante na região norte, sendo encontrado também no nordeste e nos últimos anos foi introduzido em São Paulo (SILVA FILHO et al., 1996).

É um dos mais importantes recursos genéticos nativos da Amazônia e foi totalmente domesticado pelos índios sul-americanos. A espécie pode produzir até 100 t/ha de frutos ricos em sais minerais e vitaminas, os quais são utilizados, pelas populações tradicionais da região, nas formas de sucos, sorvetes, doces e molhos para carnes; de bovinos, de frangos e de peixes (SILVA FILHO et al., 1999). O fruto é considerado bastante promissor para a região amazônica, pois além de apresentar propriedades nutritivas e medicinais, tem sabor agradável e boa aparência, e o seu cultivo é relativamente fácil (SILVA FILHO, 1994).

O *Solanum sessiliflorum* Dunal. é conhecido na região Amazônica, como cubiu, maná em São Paulo e tomate de índio no Nordeste do Brasil, topiro no Peru, cocona na Venezuela e orinoco aple ou peach tomato nos países de língua inglesa.

A espécie pertence ao gênero *Solanum* da família Solanaceae. Planta arbustiva, não passando de dois metros de altura. No processo de maturação, o fruto vai do verde ao vermelho, passando pelo amarelo e o laranja. Estes frutos podem ter a forma redonda, comprida ou globosa. Aos sete meses após o plantio inicia-se a fase de florescimento. A produção se estende por quase todo o ano, sendo que uma planta produz de 6 a 8 quilos de fruto por ano (SILVA FILHO et al., 1993).

O cubiu é um arbusto ereto, ramificado, com longevidade de um até três anos, em boas condições. Apresenta folhas simples, alternas, com arranjo em espiral, longa peciolada, membranácea, margem lobada-dentada, ápice agudo, base assimétrica. As folhas novas são levemente ferruginosas, recobertas por pilosidade densa. As inflorescências são formadas por cinco a oito flores, do tipo cima formada por um ramo de pouco mais de 1 cm de comprimento, no qual se situam, em forma espiralada, os pedúnculos florais de 2 a 5 mm de comprimento, apresentando flores hermafroditas e estaminadas. As pétalas são verde-claras, sépalas verdes, cálice maior que a corola, anteras amarelas em número de cinco com 3 cm de comprimento e 1 cm de largura (SILVA FILHO et al., 1993).

Os frutos apresentam formas variadas, de acordo com o genótipo podem ser, redondos, achatados, quinados ou alongado, verde quando imaturo, amarelo, laranja ou vermelho quando maduros (Figura 1). Estes frutos contém de quatro a seis lóculos, variando dentro da mesma planta, e de 500 a 2000 sementes glabras, ovaladas e achatadas. O peso de 1000 sementes é de 1,2 g, e cada fruto pode pesar de 30 a 400 g, dependendo do genótipo (PHALEN, 1977).



FIGURA 1. Frutos de cubiu cv. ‘alejo’

Na coleção do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), existem cerca de 30 introduções de cubiu, oriundas de diferentes partes da Amazônia brasileira, peruana e colombiana (SILVA FILHO et al., 1989). Silva Filho (2002) estudando a coleção do INPA, discriminou com base em suas características morfológicas e químicas, três grupos distintos; grupo I - formado por uma única etnovarietade de Benjamin Constant – AM, grupo II - formado por 69,2% das etnovarietades estudadas e o grupo III - formado pelos 26,9% restantes das etnovarietades. É provável que os tipos cultivados hoje tenham sido originados de cruzamentos entre estes grupos.

De modo geral, os produtores classificam as plantas de acordo com o formato do fruto. Em São Paulo, o fruto redondo é classificado como cv. ‘Santa Luzia’; o comprido, como cv. ‘Thaís’ e o estrelado, como cv. ‘Mosquet’. O grupo de pesquisa em hortaliças do INPA lançou há poucos anos a cv. ‘Alejo’ em homenagem ao primeiro pesquisador a estudar o cubiu (Alejo Von Der Pahlen) (SILVA FILHO, 2002; <http://www.todafruta.com.br>).

Esta espécie cresce bem nos solos ácidos e pobres da Amazônia e é pouco atacada por pragas e doenças (SILVA FILHO et al., 1988). Em São Paulo, no Vale do Ribeira tem se desenvolvido bem, preferindo as áreas de várzeas, pois como na Amazônia, as chuvas mais frequentes propiciam maior umidade. Além disso, a espécie, como toda

planta tropical, prefere locais de clima quente com temperaturas elevadas (<http://www.rgt.matrix.com.br/jornalagricula>).

4.2. Propagação

A biologia floral das Solanáceas em geral, é bem conhecida, os frutos de cubiu, existem poucos estudos, e estes são de fundamental importância para garantir a produção e apoiar os estudos sobre melhoramento. Storti (1988) considerou esta espécie como alógama, porque seus experimentos de autopolinização e polinização cruzada controlada resultaram numa taxa nula de autopolinização e numa taxa muito baixa de polinização cruzada controlada com obtenção de frutos.

O cubiu é geralmente propagado por sementes (CLEMENT & SILVA FILHO, 1994; SILVA FILHO, 1994) e sendo uma planta alógama, suas sementes podem resultar em desuniformidade do pomar, assim como os descendentes não apresentarem as mesmas características das plantas matrizes (HARTMANN et al., 2002; TORRES et al., 1998).

Na implantação de pomar comercial de cubiu, é fundamental a utilização de mudas tecnicamente bem formadas garantindo elevadas produções de frutos uniformes e de qualidade desejável. Apesar disto, os plantios são feitos, ainda, em grande escala, com mudas oriundas de sementes, fator determinante de consideráveis variações das plantas e frutos. Alguns estudos demonstraram a viabilidade da propagação do cubiu pelos métodos de enxertia e estaquia, que possibilitam a produção de elevado número de mudas, em curto espaço de tempo.

4.3. A germinação de sementes e o tipo de substrato empregado

A germinação é um fenômeno biológico que pode ser considerado botanicamente como, a retomada do crescimento do embrião com o conseqüente rompimento do tegumento pela radícula (LABORIAU, 1983).

Basicamente, a germinação é composta por três fases: embebição (quando acontece à reativação do metabolismo), indução de crescimento e protusão da

radícula. A embebição é um conjunto de processos físicos que ocorrem em função das propriedades dos colóides. Sua dimensão varia com a permeabilidade do tegumento, composição química da semente, a área de contato entre a semente e a água, a pressão hidrostática e o estado fisiológico da própria semente (BEWLEY & BLACK, 1994).

Do ponto de vista fisiológico, a germinação compreende quatro fases: embebição de água, alongamento das células, divisão celular e diferenciação das células em tecidos. Sob o ângulo fisio-bioquímico consideram-se fases do processo germinativo: rehidratação (embebição), aumento da respiração, formação de enzimas, digestão enzimática das reservas, mobilização e transporte das reservas, assimilação metabólica, crescimento e diferenciação dos tecidos (POPINIGS, 1977).

A germinação rápida e uniforme é uma característica que todo produtor de mudas deseja, contudo, isto não acontece frequentemente. Diversos autores tem estudado a germinação de sementes de cubiu, avaliando desde diferentes substratos a faixas de temperatura, alcançando resultados muitas vezes conflitantes, o que indica a necessidade de novos estudos (GAMBASSI et al., 2002; BEZERRA et al., 2004; LOPES & PEREIRA, 2005; LOPES et al., 2004; CHAVES et al., 2005).

O substrato é fator primordial para a obtenção de mudas de qualidade propiciando ambiente com boas condições para o desenvolvimento do embrião e o crescimento da muda. A qualidade do substrato é determinada por suas características físico-químicas e estabilidade.

Vários materiais e suas misturas são empregados como substratos na germinação de sementes e no enraizamento de estacas. Para a obtenção de resultados satisfatórios, as seguintes características do meio são exigidas: o meio deve ser suficientemente firme e denso para reter as estacas ou sementes em posição; o volume do material deve se manter mais ou menos constante quando molhado ou seco; deve reter bastante umidade para se evitar regas freqüentes; deve ser suficientemente poroso para permitir a drenagem do excesso de água e, em conseqüência, a penetração adequada do oxigênio até às raízes; deve também ser livre de plantas invasoras, nematóides e patógenos; não apresentar níveis indesejáveis de salinidade e ter um pH favorável; capaz de ser pasteurizado com vapor quente ou tratado com produtos químicos sem sofrer alterações. Se

possível, fornecer nutrientes em situação de permanência prolongada das plantas (HARTMANN et al., 2002).

Os principais tipos de substratos utilizados para a germinação de sementes e enraizamento de estacas são: solo, areia, vermiculita, madeira picada, raspas e pó, além da mistura destes componentes.

O solo deve apresentar uma composição apropriada das fases sólida, líquida e gasosa para se obter um crescimento satisfatório das mudas. A porção sólida é constituída de formas orgânica e inorgânica. Os componentes inorgânicos variam muito em tamanho de partículas. Frações coloidais do solo (limo e argila) retêm água e nutrientes, servindo como reservatório de nutrientes que são absorvidos pelas plantas. A porção orgânica do solo consiste de organismos vivos e mortos (insetos, minhocas, raízes de plantas, fungos e bactérias). O resíduo da degradação da matéria orgânica morta (húmus) é, em sua maior parte, coloidal e contribui para a retenção de água e nutrientes.

A areia quartzosa consiste de um complexo de sílica, sendo muito usado na produção de mudas. É o material mais pesado usado como substrato de enraizamento. Deve, de preferência, ser fumigado ou pasteurizado antes do uso para prevenir problemas com plantas invasoras e patógenos. Não têm nutrientes ou apresenta propriedades coloidais. É usada na maioria das vezes, em combinações com materiais orgânicos.

A vermiculita é um mineral micáceo, silicato hidratado de Al^{+++} , Mg^{++} e Fe^{++} . Expande-se consideravelmente quando aquecido, leve em peso após sua expansão, apresenta reação neutra, é insolúvel em água, estéril e tem excelente retenção de umidade e relativamente alta capacidade de troca de cátions. Contém bastante Mg e K para suprir a maioria das plantas.

A madeira picada, raspas e pó são materiais advindos de diversas espécies, como coco, eucalipto, pinus, etc. Podem ser usados como substrato para fins de propagação, substituindo outros materiais a um custo mais baixo. Neste caso, o nitrogênio adicional geralmente é usado para atender ao processo de decomposição do material, com isso, “sobra” nitrogênio para ser usado pelas plantas. Deve-se ter cuidado ao se utilizar estes materiais, pois podem conter substâncias tóxicas às plantas, tais como fenóis, resinas,

terpenos e taninos, requerendo compostagem antes do seu emprego como substrato (HARTMANN et al., 2002).

4.4. Enraizamento de estacas caulinares

A propagação vegetativa através do enraizamento de estacas é uma alternativa para a multiplicação das plantas que não se reproduzem satisfatoriamente pela via seminífera, além de permitir a manutenção de características desejáveis da planta matriz (MELETTI, 2000). Destaca-se ainda, por promover a multiplicação de plantas superiores, mantendo suas características genéticas, assim como para a obtenção de uma população clonal uniforme, em curto espaço de tempo, com redução ou eliminação da fase juvenil das plantas cultivadas (JANICK, 1966).

As plantas apresentam respostas diferentes quando submetidas ao processo de enraizamento adventício. Enquanto certas espécies têm facilidade de formar raízes adventícias, outras as emitem regularmente e outras ainda demonstram grande dificuldade no enraizamento adventício de suas estacas (TOFANELLI, 1999). Vários fatores exercem influência direta ou indireta sobre este processo, podendo o efeito regulatório pelo balanço hormonal endógeno ser considerado como o principal fator, favorecendo o enraizamento na presença de maiores teores de auxinas (SKOOG & MILLER, 1957).

A interação entre auxinas e citocininas é uma relação primária na propagação de plantas. A alta relação auxina/citocinina favorece o enraizamento, a alta relação citocinina/auxina favorece a formação de brotações e o alto nível de ambos favorece o desenvolvimento de calos. As citocininas promovem a divisão celular, elas atuam em plantas intactas retardando ou reduzindo a senescência, reduzindo a velocidade de degradação da clorofila e proteína celular (HARTMANN et al., 2002).

Segundo Hartmann et al. (2002), a auxina natural é sintetizada, principalmente, em gemas apicais e folhas jovens e o seu transporte sempre ocorre das partes apicais para a basal do órgão, seguindo uma orientação basípeta. De acordo com Ferri (1979), já em 1928, Went observou que esse movimento era independente da ação da gravidade e de um gradiente de concentração.

A aplicação de reguladores vegetais constitui uma das formas usuais de induzir a organogênese em plantas, pois permite direcionar o balanço hormonal, visando à formação do órgão desejado (FACHINELLO et al., 1994). Em estudos de enraizamento adventício, o grupo de reguladores vegetais mais usado é o das auxinas, tais como o ácido indolil butírico (IBA) e o ácido naftaleno acético (NAA) (HARTMANN et al., 2002).

O substrato tem efeito importante no êxito do enraizamento e deve ser considerado como parte fundamental em qualquer sistema de propagação. De acordo com Hartmann et al. (2002), o bom substrato combina boa aeração com alta capacidade de retenção de água, boa drenagem e ausência de contaminantes. O substrato influi não só na qualidade das raízes formadas, como também no percentual de enraizamento das estacas, possuindo ainda a função de fixá-las e manter o ambiente, na base das mesmas, escuro e com adequada aeração (JANICK, 1966).

Segundo Hartmann et al. (2002), a nutrição da planta-mãe exerce forte influência sobre o desenvolvimento de raízes e ramos. Estacas colhidas de uma mesma matriz e submetidas aos mesmos tratamentos respondem diferentemente quanto à taxa de enraizamento, em diferentes épocas do ano. Isto está diretamente relacionado ao teor de carboidratos armazenados na matriz (PAIVA & GOMES, 2001).

De acordo com Hartmann et al. (2002), estacas retiradas de plantas jovens enraízam com maior facilidade que tomadas de ramos velhos. De qualquer forma, pode-se dizer que quanto mais juvenil o material, maior será o sucesso do enraizamento, quer expresso em porcentagem, quer pela rapidez de formação e, ainda, pela qualidade das próprias raízes, bem como pela capacidade de crescimento da nova planta (GOMES *apud* PAIVA & GOMES, 2001).

A época do ano em que se obtém as estacas, em alguns casos, exerce significativa influência no enraizamento, podendo ser inclusive, um fator decisivo para obtenção de êxito (ZUFELLATO-RIBAS & RODRIGUES, 2001). Hartmann et al. (2002), afirmam que para cada planta específica é necessário que se determine qual a melhor época do ano para retirar as estacas, a qual está diretamente relacionada com a condição fisiológica da planta-mãe.

A umidade constitui um dos fatores primordiais e de relevante importância para a propagação vegetativa, isto porque a presença de uma camada contínua de água sobre a superfície das folhas, diminui a transpiração das mesmas e em consequência, evita a perda de carboidratos de reserva em virtude desse processo (ZUFELLATO-RIBAS & RODRIGUES, 2001). Conforme Hartmann et al. (2002), a presença de folhas nas estacas é um forte estímulo para a formação de raízes, no entanto, a perda de água pela transpiração pode levar as estacas à morte antes que se formem as raízes. Portanto, a nebulização mantém a umidade em volta das folhas, reduzindo a temperatura e a taxa de respiração, pois proporciona alto grau de umidade relativa do ar, o que pode ser decisivo no enraizamento de muitas espécies.

Temperaturas do ar elevadas devem ser evitadas, pois o aumento do metabolismo, além de estimular o desenvolvimento das raízes, pode favorecer a perda de água, levando as estacas ao dessecamento, tendo em vista que a perda de água é sempre mais rápida que a sua absorção (ZUFELLATO-RIBAS & RODRIGUES, 2001).

A luz é de suma importância, no crescimento da planta uma vez que constitui fonte de energia na fotossíntese. Os produtos da fotossíntese, particularmente os carboidratos e as auxinas são importantes para a iniciação e para o crescimento das raízes. Deve-se fornecer às estacas com folhas luminosidade máxima, de forma a propiciar a fotossíntese, para que haja acúmulo de substâncias indutoras de enraizamento (HARTMANN et al., 2002).

Poucos são os estudos de enraizamento de estacas com hortaliças (BELLETTINI, et al., 2005) assim como, com espécies da Família Solanaceae, mesmo que alguns destes trabalhos apresentem resultados bastante promissores (PALMEIRA et al., 2005; MOREIRA et al., 2005).

4.5. Germinação e calogênese *in vitro*

A grande diversidade de produtos de origem vegetal faz desses uma fonte importante e ainda pouco explorada de recursos naturais. Neste contexto, a cultura de tecidos se destaca como uma importante ferramenta de estudo dessas espécies.

A cultura de tecidos compreende um conjunto de técnicas, nas quais, um explante, que pode ser constituído de uma célula, tecido ou órgão, é isolado e cultivado em condições assépticas em meio nutritivo artificial e incubado em condições ambientais controladas (MROGINSKI & ROCA, 1993). O fundamento básico da propagação *in vitro* é a totipotência celular, segundo a qual, qualquer célula no organismo vegetal contém toda a informação genética necessária à regeneração de uma planta completa (TORRES et al., 1998). Por meio desta técnica, praticamente qualquer espécie vegetal pode ser regenerada (DIXON, 1985).

As técnicas de cultura de tecidos têm incrementado as pesquisas, básica e aplicada, em plantas superiores, possibilitando sua utilização nas diversas áreas, como a farmacologia, fisiologia vegetal, genética, melhoramento de plantas, fitossanidade e na preservação de germoplasmas (COSTA, 1995).

A germinação *in vitro* objetiva a produção de explantes juvenis e assépticos, disponibilizando-os para trabalhos em cultura de tecidos. Este método alternativo de obtenção de material se destaca quando o estabelecimento de culturas via materiais oriundos do campo ou de casa de vegetação traz os problemas da oxidação e da contaminação endógena severa (COSTA, 1995).

As auxinas sintéticas são muito utilizadas, principalmente em trabalhos de micropropagação, pois são incorporadas ao meio de cultura para promover a formação de calos, crescimento de células em suspensão, órgãos, e regula a morfogênese, especialmente associadas as citocininas (GEORGE, 1993).

Segundo Eeuwens (1978), reguladores de crescimento, tais como o 2,4-D e o NAA, estimulam o crescimento dos tecidos apenas em baixas concentrações (10 mg.L⁻¹) e sua presença no meio de cultura é inibitória e causa a morte dos tecidos em concentrações mais altas.

Para a indução da embriogênese somática, o 2,4-D é o regulador de crescimento mais utilizado. Ele reativa o ciclo celular para iniciar a formação do embrião. Inicialmente, quando o regulador entra em contato com a superfície celular, ocorre uma despolarização da membrana, seguida de hiperpolarização e ativação da bomba de H^+ /ATPase, com saída de H^+ da célula. Como consequência, ocorre aumento no pH citoplasmático e redução do pH do meio externo. Além disso, ocorre aumento na concentração citoplasmática de CA^{++} . Uma incisão no tecido, ferindo as células pode atuar sinergicamente com o 2,4-D para a indução, aumentando o número de embriões produzidos. Uma segunda fase, na qual o meio de cultivo não deve conter reguladores ou conter baixa concentração de 2,4-D, é necessária para que ocorra a conversão do embrião em planta. No explante ou no calo, apenas poucas células são competentes para a indução da embriogênese somática. Os eventos citados representam o início do sistema de transdução, o qual só ocorre se a célula apresentar sensibilidade à auxina, expressa pela ligação desta a um receptor de membrana específico (MATSUMOTO et al., 1991).

A utilização da biotecnologia como ferramenta auxiliar na produção agrícola é de um potencial imenso, e na produção de mudas de espécies frutíferas e de hortaliças via cultura de tecidos é uma realidade. No entanto, escassos são os estudos com espécies do gênero *Solanum* (PALMEIRA et al., 2005) assim como, com outras espécies (ABBADE ET AL., 2005).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Germinação de sementes de cubiu

O trabalho foi realizado na área de produção de mudas do Departamento de Produção Vegetal/Setor de Horticultura, da Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, SP, no período de março a junho/2005. Utilizou-se estufa, revestida de vidro e protegida na parte superior com tela capaz de interceptar 50% da radiação. A irrigação dos recipientes ocorreu de forma manual, duas vezes ao dia, manhã e tarde. Nestas condições, o teor de umidade dos recipientes encontrava-se sempre úmido, nos intervalos entre as irrigações. Após a semeadura, o experimento foi conduzido até 90 dias.

Durante o experimento, a temperatura dentro da casa de vegetação foi monitorada diariamente e os valores médios obtidos estão apresentados na Figura 2.

As sementes foram provenientes do Laboratório de Sementes da Coordenadoria de Pesquisa em Ciências Agrárias/INPA, Manaus, AM e foram obtidas de plantas do cv. `Alejo`, cultivadas na Instituição.

Como recipientes para a germinação das sementes, empregaram-se caixas plásticas do tipo gerbox, nas dimensões de 11 x 11 x 3,5 cm. Estas foram preenchidas com os diferentes substratos a serem avaliados (nitossolo, areia, vermiculita e plantmax® hortaliças). Os substratos não passaram por tratamento de desinfecção, tampouco incorporação de fertilizantes. As propriedades químicas do nitossolo utilizado encontram-se relacionadas na Tabela 1.

Durante a condução do ensaio, as plantas não receberam nutrição suplementar ou tratamento fitossanitário, sendo apenas realizadas limpezas manuais nos recipientes para controlar o crescimento indesejável de plantas invasoras e musgos.

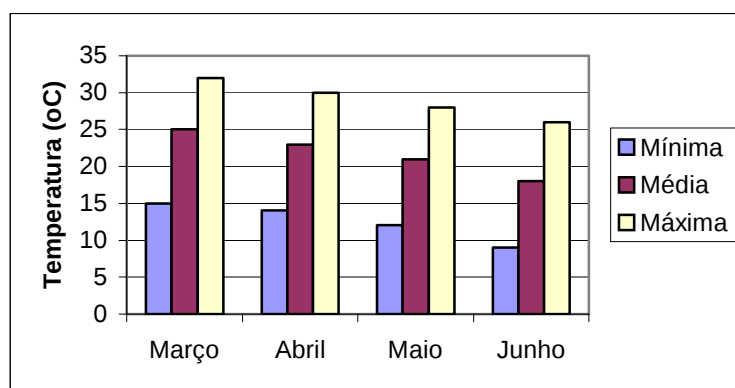


FIGURA 2. Valores médios para as temperaturas mínimas, médias e máximas no interior da casa de vegetação, nos meses de março, abril, maio e junho, Botucatu, SP, 2005.

TABELA 1. Características químicas do nitossolo utilizado como substrato no experimento. Pomar do Departamento de Produção Vegetal/FCA/UNESP/Botucatu. 2005.

pH	M.O.	P _{resina}	AL ⁺³	H+AL	K	Ca	Mg	SB	CTC	V% S
CaCl ₂ g/dm ³		mg/dm ³	-----mmol _c /dm ³ -----							
-										
5,6	31	14	---	32	1,3	37	21	60	91	66 --

Fonte: Laboratório do Solo – área de Ciências do Solo, Departamento de Recursos Naturais. FCA/UNESP.

Aos 90 dias após a semeadura, foram avaliadas as seguintes características: porcentagem de germinação (% GER) e índice de velocidade de germinação (IVG) determinados, segundo Labouriau (1983).

Considerou-se semente germinada, aquela que originou uma plântula completa, com radícula e epicótilo.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos correspondentes aos substratos avaliados: areia fina lavada, vermiculita triturada, plantmax[®] hortaliças e solo do pomar do DPV/Horticultura [Classificado como terra roxa estruturada, álica, textura argilosa. Atualmente classificado como nitossolo vermelho, seguindo critério da EMBRAPA (1999)]. Foram empregadas 4 repetições e cada unidade experimental foi constituída de 50 sementes, totalizando 800 sementes.

As plantas foram monitoradas durante 90 dias. Para acompanhar a germinação das sementes no tempo, sem prejuízo das sementes restantes, assim que as plântulas emitiam suas folhas simples, eram repicadas para outro recipiente. Desta forma o desenvolvimento das mudas não interferiu na germinação das sementes remanescentes.

Foi realizada análise de variância e quando houve significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

5.2. Enraizamento de estacas de cubiu

O trabalho foi realizado na área de produção de mudas do Departamento de Produção Vegetal/Setor de Horticultura, da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu, SP, no período de outubro/2004 a fevereiro/2005. Utilizou-se estufa, revestida de vidro e protegida na parte superior com tela capaz de interceptar 50% da radiação. A irrigação ocorreu de forma automática controlada por um timer programado para acionar o sistema às 6:00, 9:00, 12:00, 15:00 e 18:00 horas, através de nebulização por 3 minutos. Nestas condições, o teor de umidade relativa esteve em torno de 70%, nos intervalos entre irrigações. O experimento foi conduzido até 120 dias após o plantio das estacas.

Durante o experimento, a temperatura dentro da casa de vegetação foi monitorada diariamente e os valores médios obtidos são apresentados na Figura 3.

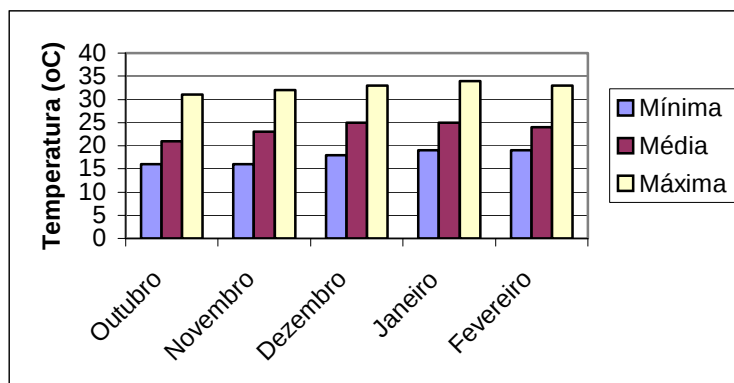


FIGURA 3. Valores médios para as temperaturas mínimas, médias e máximas no interior da casa de vegetação, nos meses de outubro, novembro, dezembro, janeiro e fevereiro, Botucatu, SP, 2004/5.

As estacas de consistência herbácea foram obtidas de plantas adultas conduzidas no pomar do DPV/Horticultura, cultivadas para essa finalidade. Estas foram retiradas ao longo da haste das plantas, com 6-7 cm de comprimento, contendo um nó (uma gema) e $\frac{1}{2}$ folha. Inicialmente, foram lavadas com solução comercial de hipoclorito de sódio a 10% e em seguida em água corrente, visando à limpeza de solo aderido nas estacas e folhas e em seguida deixadas à sombra para secar. O ápice de cada estaca recebeu um corte reto e a base foi cortada em bisel para aumentar a área de absorção de água e nutrientes. As estacas foram plantadas verticalmente, deixando expostas apenas a gema e a $\frac{1}{2}$ folha.

Os recipientes, bandejas de poliestireno expandido com 64 células, foram preenchidas com os substratos. Estes substratos não passaram por tratamento de desinfecção, tampouco incorporação de fertilizantes.

Durante a condução do ensaio, as estacas não receberam nutrição suplementar ou tratamento fitossanitário, sendo apenas realizadas limpezas manuais nos recipientes para controlar as plantas invasoras e musgos. Quando necessário, as brotações resultantes foram tutoradas com espetos de bambu para a condução do crescimento.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, com 8 tratamentos constituídos pelas combinações entre os fatores substratos (areia fina lavada e vermiculita triturada) e doses de regulador vegetal (ácido naftalenoacético (NAA), em quatro concentrações, 0, 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹). A base das estacas foram mergulhadas em cada solução por 5 segundos. Foram empregadas 3 repetições e cada unidade experimental foi constituída de 8 estacas, totalizando 192 estacas. Os valores de cada unidade experimental foram obtidos com base na média dos valores encontrados em todas as estacas que a compõem.

As plantas foram monitoradas durante 120 dias. Na avaliação da formação e desenvolvimento das mudas, foram registradas as seguintes características: porcentagem de enraizamento de estacas, comprimento total de raiz e porcentagem de estacas brotadas. Para comprimento de raiz, utilizou-se régua milimetrada, obtendo-se o comprimento total de raiz por estaca. O valor médio representativo do comprimento de raiz, por repetição, foi obtido pela média aritmética dos valores encontrados nas estacas sobreviventes.

Foi realizada a análise de variância e para as variáveis significativas pelo teste F, foi realizado teste de comparação de médias e análise de regressão, cujos coeficientes foram avaliados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

5.3. Germinação e calogênese do cubiu

O trabalho foi realizado no laboratório de Micropropagação do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP, no período de abril a agosto/2004.

As sementes foram obtidas no Laboratório de Sementes da Coordenadoria de Pesquisa em Ciências Agrárias CPCA/ INPA, Manaus-AM, sendo oriundas de frutos maduros de plantas adultas sadias do cv. `Alejo`, da coleção de cubiu desta Instituição.

Antes da inoculação, as sementes foram imersas em solução comercial de hipoclorito de sódio a 30%, por 10 minutos, lavadas por três vezes com água

destilada e autoclavada, em câmara de fluxo laminar. Após a lavagem das sementes em placas de Petri, estas foram inoculadas horizontalmente sobre o meio de cultivo.

O meio de cultura utilizado foi MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962). acrescido de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de tiamina, 30 g.L^{-1} de sacarose, 100 mg.L^{-1} de inositol e $6,0 \text{ g.L}^{-1}$ de Ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 e autoclavado durante 20 minutos, a 120°C e $1,5 \text{ atm}$ de pressão. Os frascos com as sementes foram mantidos em sala de crescimento a temperatura de $27 \pm 2^\circ \text{C}$ e intensidade luminosa de $13 \mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$, fornecida por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria, durante 30 dias. Durante este período, foi avaliada a porcentagem de sementes germinadas.

Foram consideradas sementes germinadas as que realizaram o processo de protusão da radícula. O experimento foi constituído de 40 repetições (tubos), cada tubo com 3 sementes.

Para o estudo de indução de calos (calogênese), foram utilizados explantes jovens, de plântulas com 45 dias de cultivo *in vitro*, oriundas do experimento de germinação. Os explantes tinham aproximadamente $1,5 \text{ cm}$ de comprimento e foram divididos em dois blocos, sendo um dos blocos, constituído pelos explantes oriundos do epicótilo e o outro, pelos explantes oriundos do hipocótilo. Estes explantes foram inoculados em frascos contendo 30 mL do mesmo meio usado para a germinação, com as combinações de reguladores vegetais do estudo. O meio de cultura foi ajustado e autoclavado da mesma maneira que o meio usado para germinação das sementes, assim como os frascos foram mantidos sob as mesmas condições na sala de crescimento. Após 40 dias foi avaliada a indução de calogênese.

As plantas foram monitoradas durante 120 dias. Preliminarmente foram avaliadas quanto à formação ou não de calos. Para aquelas plantas que formaram calos, foram registradas as seguintes características: comprimento do calo (cm), número de plantas e número de folhas. Para o comprimento do calo, utilizou-se régua milimetrada, obtendo-se o comprimento através da média aritmética entre o maior e o menor diâmetro do calo. O valor médio representativo por repetição, foi obtido pela média aritmética dos valores encontrados nas plantas sobreviventes.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema de blocos casualizados, com 3 tratamentos constituídos pelas concentrações de 0; 0,5 e 2,0 mg.L⁻¹ de regulador vegetal (2,4-D). Utilizou-se 4 repetições e cada unidade experimental foi constituída de 5 tubos de ensaio, totalizando 60 tubos. O valor de cada unidade experimental foi obtido com base na média dos valores encontrados em todos os tubos que a compõem.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Germinação de sementes de cubiu

A análise de variância para porcentagem de germinação (GER%) e índice de velocidade de germinação (IVG) em função do substrato utilizado apresentou efeito significativo (Tabela 2). Verificou-se também que os valores médios para os tratamentos aplicados, apresentaram diferenças entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (Tabela 3).

As maiores porcentagens de germinação das sementes foram observadas quando se utilizou, o nitossolo (72,23%) e a vermiculita (70,87%), como substrato, e as menores quando se usou a areia e o plantmax[®]. Talvez isso tenha ocorrido em função da areia reter menos água que o solo e a vermiculita, podendo ocorrer pequeno déficit hídrico nos intervalos entre as irrigações. Com o plantmax[®] ocorre após as primeiras irrigações a formação de uma crosta na superfície da caixa gerbox que parece dificultar a penetração da água, com uma possível influência na porcentagem de germinação das sementes.

Estes resultados são diferentes dos encontrados em alguns trabalhos anteriores, onde o substrato comercial (Plantmax[®]) proporcionou melhor germinação de beralha, tomate e moringa quando comparado com outros substratos (GAMBASSI et al.,

2002; BEZERRA et al., 2004). Lopes & Pereira, (2005) estudando a influência da temperatura e de substrato para a mesma espécie, afirmam que o melhor substrato para germinação do cubiu é a areia. Essas inconsistência nos resultados obtidos pelo diversos autores, tende a demonstrar que a germinação de sementes é um processo complexo, que envolve muitas reações e fases, cada uma delas afetada em maior ou menor escala por fatores endógenos e exógenos.

TABELA 2. Resumo da análise de variância para as variáveis: porcentagem de germinação (GER%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de cubiu, semeados em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios	
		GER (%)	IVG
Substrato	3	356,1784*	437,6086*
CV (%)		14,35	15,03

* Significativo pelo teste F ($p < 0,05$)

TABELA 3. Valores médios observados para as variáveis: porcentagem de germinação (GER%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de cubiu, semeados em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005.

Substratos	GER (%)	IVG
Solo	72,23A	6,72A
Vermiculita triturada	70,87A	7,03A
Areia fina lavada	62,50B	6,13AB
Plantmax [®] - Hortaliças	57,71B	5,93AB

* Médias seguidas de pelo menos uma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

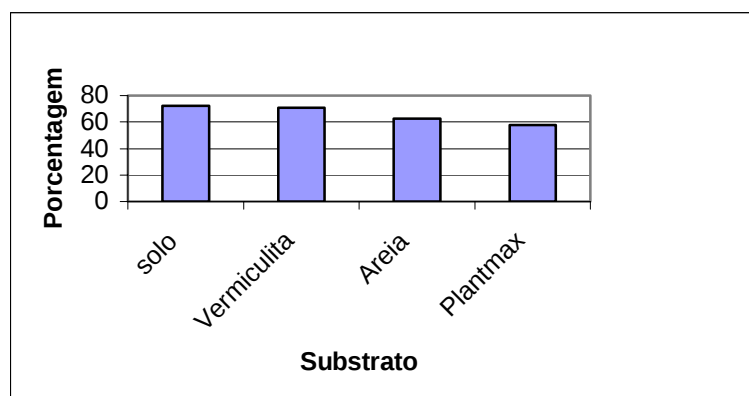


FIGURA 4. Porcentagem de germinação (GER%) de sementes de cubiu semeadas em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005.

O Índice de Velocidade de Germinação com a utilização da vermiculita e do nitossolo como substratos foi maior que com a utilização de plantmax[®] e da areia. Isso possivelmente está relacionado ao problema de menor retenção de água da areia e da dificuldade de penetração da água no plantmax[®] pela crosta que se forma na sua superfície do recipiente, como comentado na porcentagem de germinação.

Estes resultados, principalmente em relação ao índice de velocidade de germinação, são semelhantes aos encontrados por Lopes et al. (2005), estudando a mesma espécie. Contudo, estes autores estudaram o efeito da temperatura e de misturas de substratos e não substratos puros, como estudado no presente trabalho. Outros autores encontraram resultados diferentes dos valores deste trabalho. No entanto, apesar de estudarem plantas do gênero *Solanum*, eram espécies distintas (GAMBASSI et al., 2002; BEZERRA et al., 2004).

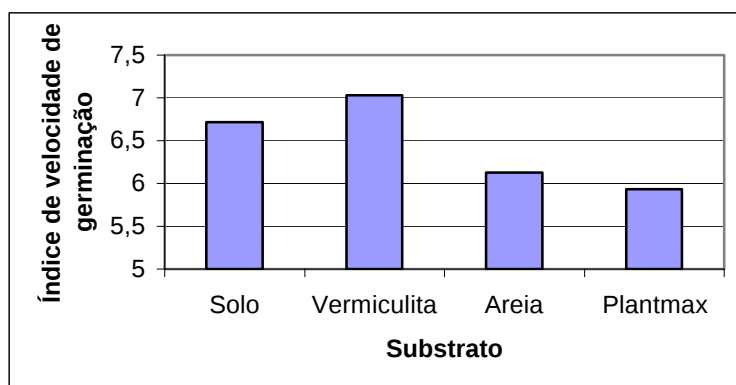


FIGURA 5. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de cubiu semeadas em quatro tipos de substrato, aos 90 dias após a semeadura, Botucatu, SP, 2005.

6.2. Enraizamento de estacas de cubiu

O resumo dos resultados da análise de variância para as características avaliadas, estão apresentados na Tabela 4. As médias observadas em todos os tratamentos, para as mesmas características, encontram-se relacionadas na Tabela 5.

Para a característica porcentagem de enraizamento de estacas (ENR%), observou-se que o fator substrato, isoladamente e a interação substrato X NAA não afetaram esta variável significativamente, ao nível de 5% de probabilidade. Entretanto, o efeito do NAA foi significativo para esta variável.

Observando-se a Tabela 5, nota-se que na concentração de 500 mg.L⁻¹ de NAA, ocorreu a maior média de enraizamento de estacas, enquanto que quando utilizou-se as concentrações de 0, 250 e 1000 mg.L⁻¹ de NAA, obteve-se as menores médias de enraizamento.

Pela análise de regressão ajustou-se um modelo para os tratamentos com NAA, observando-se desta forma que o aumento da concentração de NAA foi positivo para o enraizamento, até a concentração de 500 mg.L⁻¹, obtendo-se a maior média de enraizamento de estacas de cubiu. A partir dessa concentração, houve um decréscimo na

porcentagem de enraizamento das estacas (Figura 6). Esse comportamento pode estar relacionado ao fato do suprimento exógeno de auxina promover ganhos significativos até um certo ponto, devido à carência de tal substância internamente na estaca, onde a partir desse ponto, pode ter ocorrido excesso da concentração de auxina na base da estaca e ter promovido queda na porcentagem de enraizamento. Eliasson (1981) cita que o número de raízes é determinado por um delicado balanço entre o efeito estimulatório e fatores endógenos inibitórios. A menor variação criada pela planta matriz ou pelo tratamento das estacas afeta este balanço. Portanto, podemos interpretar estes dados, como indicativo de que a melhor concentração de NAA para enraizamento de estacas de cubiu deve se situar em torno dos 500 mg.L⁻¹.

TABELA 4. Resumo das análises de variância para porcentagem de enraizamento de estacas (ENR%), comprimento total de raiz (CTR) e porcentagem de estacas brotadas (BRO%) de cubiu, aos 120 dias após o plantio. Botucatu, SP, 2004/5.

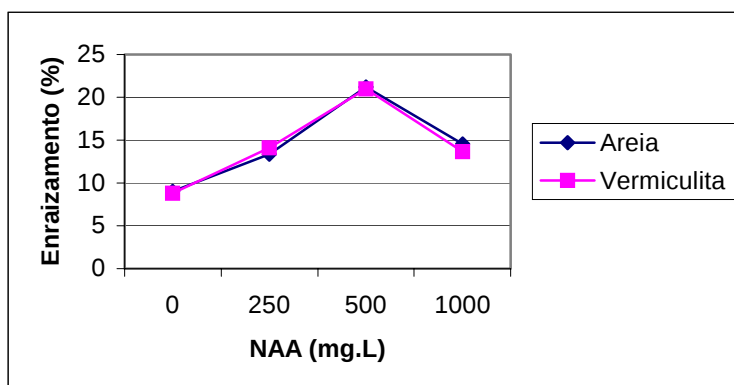
Fontes de variação	GL	Quadrados médios		
		ENR (%)	CTR (cm)	BRO(%)
Substrato	1	133,1414	1344,6589	53,6789
NAA	3	254,4367*	2013,4579*	113,0976*
Substrato x NAA	3	165,5890	1678,8943*	78,7863
CV (%)		25,60	35,47	31,44

* Significativo pelo teste F (p<0,05)

TABELA 5. Valores médios observados para as variáveis: porcentagem de enraizamento de estacas (ENR%), comprimento total de raiz (CTR) e porcentagem de estacas brotadas (BRO%) de cubiu, submetidas às concentrações de 0; 250; 500 e 1000 mg.L⁻¹ de ácido naftaleno acético (NAA) e plantadas em areia e vermiculita, aos 120 dias após o plantio. Botucatu, SP, 2004/5.

Substrato	NAA (mg.L ⁻¹)	ENR (%)	CTR (cm)	BRO (%)
Areia	0	9,00C	21,55C	13,23C
Areia	250	13,33B	17,50C	14,56C
Areia	500	21,22A	47,88A	31,45 ^A
Areia	1000	14,56B	24,67B	23,70B
Vermiculita	0	8,78C	18,79C	12,87C
Vermiculita	250	14,08B	15,43D	15,66C
Vermiculita	500	20,97A	43,37A	33,21 ^A
Vermiculita	1000	13,64B	28,92B	22,92B

* Médias seguidas de pelo menos uma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



$$Y_{\text{Areia}} = -0,00001x^2 + 0,000663x + 3,87 \quad R^2 = 57,92\%$$

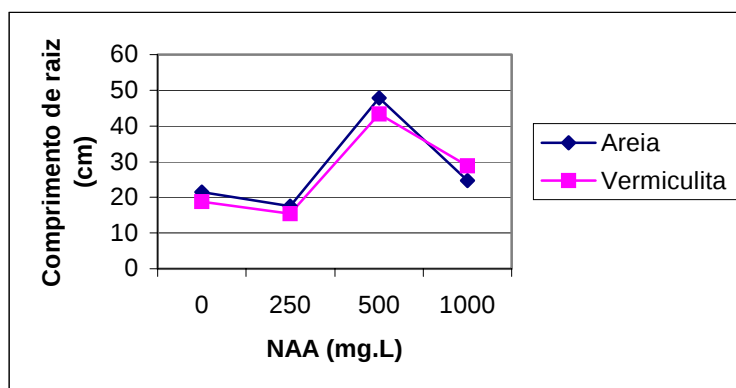
$$Y_{\text{Vermiculita}} = -0,00001x^2 + 0,000514x + 10,84 \quad R^2 = 58,73\%$$

FIGURA 6. Porcentagem de enraizamento de estacas (ENR%) de Cubiu, em função do substrato e concentrações de NAA. Botucatu, SP, 2004/05.

Quanto ao comprimento total de raiz (CTR) observou-se que o fator substrato, isoladamente, não afetou esta característica (Tabela 4). No entanto, o efeito do NAA e a interação substrato x NAA afetaram, significativamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Observando-se a Tabela 5, nota-se que nas concentrações de zero e 250 mg.L⁻¹ de NAA, ocorreram as menores médias de comprimento total de raiz, e que na concentração de 500 mg.L⁻¹ de NAA, obteve-se as maiores médias de comprimento, enquanto que na concentração de 1000 mg.L⁻¹ de NAA, obteve-se médias intermediárias para esta característica. Portanto, podemos interpretar estes dados, como indicativo de que a melhor concentração de NAA para comprimento total de raiz de estacas de cubiu deve se situar em torno dos 500 mg.L⁻¹.

Pela análise de regressão ajustou-se um modelo para os tratamentos com NAA, observando-se desta forma que o aumento da concentração de NAA foi inicialmente negativo em relação à testemunha para o comprimento total de raiz, a partir da concentração de 500 mg.L⁻¹, obteve-se um comportamento positivo, acarretando na maior média de comprimento total de raiz de estacas de cubiu. Contudo na concentração de 1000 mg.L⁻¹ de NAA, torna a ocorrer um decréscimo no comprimento total de raiz (Figura 7).



$$Y_{\text{Areia}} = -0,00038x^2 + 0,0078x + 4,78 \quad R^2 = 63,43\%$$

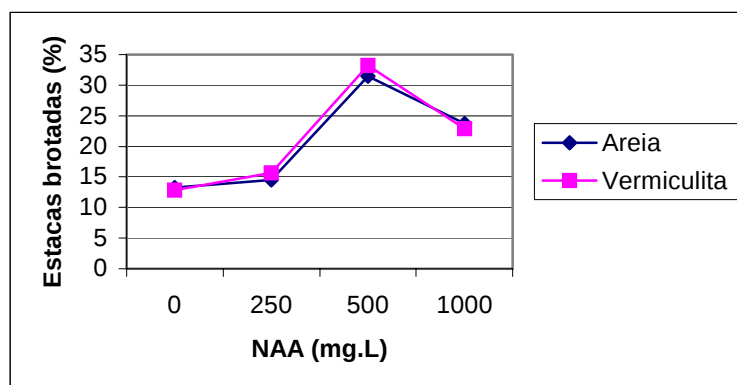
$$Y_{\text{Vermiculita}} = -0,000039x^2 + 0,0066x + 3,77 \quad R^2 = 65,87\%$$

FIGURA 7. Comprimento total de raiz (CTR) em estacas de Cubiu, em função do substrato e concentrações de NAA. Botucatu, SP, 2004/5.

Os resultados mostram que a porcentagem de estacas brotadas (BRO%) foi afetada, significativamente, pelo fator NAA. Entretanto, os fatores substrato, isoladamente, e a interação substrato X NAA não apresentaram interferência significativa, ao nível de 5% de probabilidade.

Observando-se a Tabela 5, nota-se que nas concentrações de zero, 250 e 1000 mg.L⁻¹ de NAA, ocorreram as menores médias de estacas brotadas, enquanto que quando se utilizou a concentração de 500 mg.L⁻¹ de NAA, obteve-se as maiores médias de brotação. Portanto, podemos interpretar estes dados, como indicativo de que a melhor concentração de NAA para porcentagem de estacas brotadas de cubiu deve se situar em torno dos 500 mg.L⁻¹.

Pela análise de regressão ajustou-se um modelo para os tratamentos com NAA, observando-se desta forma que o aumento da concentração de NAA foi positivo para o enraizamento, até a concentração de 500 mg.L⁻¹, obtendo-se a maior média de enraizamento de estacas de cubiu. A partir dessa concentração, houve um decréscimo na porcentagem de enraizamento das estacas (Figura 8).



$$Y_{\text{Areia}} = -0,00001x^2 + 0,000787x + 5,38 \quad R^2 = 71,81\%$$

$$Y_{\text{Vermiculita}} = -0,00001x^2 + 0,000497x + 12,11 \quad R^2 = 71,89\%$$

FIGURA 8. Porcentagem de estacas brotadas (BRO%) de Cubiu, em função do substrato e concentrações de NAA. Botucatu, SP, 2004/5

Os resultados encontrados na literatura, em relação ao sucesso do enraizamento de estacas com espécies do gênero *Solanum*, são muito variáveis. Há indicações de 80 a 90% Palmeira et al. (2005) com jurubeba (*S. atropurpureum*) e 34,5% Moreira et al. (2005) com berinjela (*S. melongena*). Mesmo com outras espécies, como com o boldo, Bellettini et al. (2005) estudando o efeito de diferentes composições de substratos no enraizamento de estacas herbáceas ou lignificadas, obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo no que concerne a substratos, pois afirmam que os mesmos não influenciaram no percentual de enraizamento de estacas herbáceas. O enraizamento de 21,5%, obtido no presente trabalho, apesar de baixo, demonstra a viabilidade {regeneração de uma planta completa (clone)} deste método de propagação para esta espécie.

6.3. Germinação e calogênese de cubiu

Na Tabela 6 nota-se que a porcentagem de germinação de cubiu *in vitro* foi maior que a observada com o uso de diferentes substratos *ex vitro* (Tabela 4). Aos 30 dias 82% das sementes encontravam-se germinadas. Provavelmente esta alta porcentagem de germinação possa ser atribuída às condições de cultivo, como o meio nutritivo utilizado (MS), temperatura (25° C) e luminosidade (13 $\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$).

TABELA 6. Valores médios para porcentagem de germinação de sementes de cubiu *in vitro* aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias de incubação. Botucatu, São Paulo, 2004.

Tratamento	Germinação %				
	10 dias	15 dias	20 dias	25 dias	30 dias
Meio MS	22,00	48,00	66,00	77,00	82,00

De acordo com George (1996), os meios de cultura são compostos por soluções de sais inorgânicos que, além do efeito nutritivo, possuem propriedades osmóticas que influenciam o crescimento celular e a morfogênese. Neste sentido, pode-se

afirmar que os minerais são o grupo de nutrientes mais importantes, após a fonte de carboidratos, para o desenvolvimento *in vitro*.

TABELA 7. Resumo das análises de variância do cultivo *in vitro* de Cubiu para formação de calo (FC), comprimento do calo (CC) (cm), número de plantas (NP) e número de folhas (NF). Botucatu, São Paulo, 2004.

Fonte de variação	G. L.	F			
		FC	CC (cm)	NP	NF
Concent 2,4D	2	20,5**	8,15**	6,77**	11,7**
Blocos	1	1,5ns	0,23ns	0,05ns	1,42ns
CV (%)		20,7	2,47	14,52	17,76

* Significativo pelo teste F ($p < 0,05$)

TABELA 8. Médias do cultivo *in vitro* do cubiu para formação do calo (FC), comprimento do calo (CC) (cm), número de plantas (NP) e número de folhas (NF). Botucatu, São Paulo, 2004.

Concent. 2,4-D no meio	Médias			
MS	FC	CC(cm)	NP	NF
0	0,22b	0,07B	0B	0B
0,5 mg.L ⁻¹	1a	0,9A	1,07A	3,86A
2,0 mg.L ⁻¹	1a	1,52A	1,71A	2,79A

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

** Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Com base na análise de variância para a formação e o comprimento de calo, número de plantas e folhas (Tabela 7) não houve diferença significativa dos valores entre os explantes oriundos de epicótilo e hipocótilo. No entanto, o efeito do 2,4-D afetou, significativamente os fatores avaliados.

Os dados foram submetidos a testes de médias (Tabela 8), apresentando para todas as características analisadas diferenças estatísticas. Nas concentrações de 0,5 e 2,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D, as médias para formação de calo (1 e 1), para comprimento do calo (0,9 e 1,52 cm), para número de plantas (1,07 e 1,71) e número de folhas (3,86 e 2,79) respectivamente, foram sempre superiores à testemunha.

Desta forma, verifica-se o efeito do 2,4-D como estimulador na formação e comprimento de calos (Figura 10), assim como o número de plantas e folhas (Figura 11). A concentração de 2,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D apesar de não apresentar diferença significativa para a concentração de 0,5 mg.L⁻¹ de 2,4-D, apresentou os maiores valores, com exceção do número de folhas onde a concentração de 0,5 mg.L⁻¹ apresentou valor mais elevado.

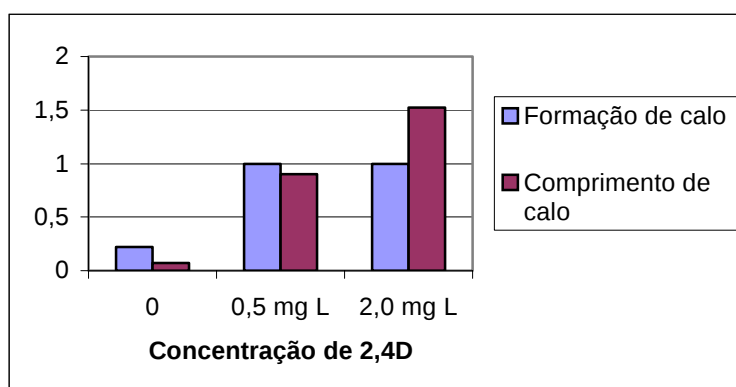


FIGURA 9. Formação e comprimento de calo de Cubiu, em função da concentração de 2,4-D no meio MS. Botucatu, SP, 2004.

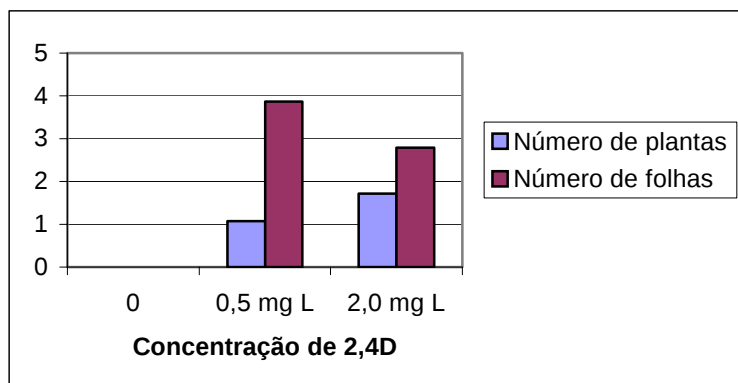


FIGURA 10. Número de plantas e número de folhas de Cubiu, em função da concentração de 2,4-D no meio MS. Botucatu, SP, 2004.

Os resultados encontrados na literatura, com relação ao sucesso da germinação e calogênese com espécies do gênero *Solanum*, são muito variáveis. Há indicações de sucesso, como o trabalho de Palmeira et al. (2005) com jurubeba (*S. atropurpureum*), contudo sem indicações de percentuais obtidos. Abbade et al. (2005) com jatobá em diferentes concentrações de reguladores vegetais, também alcançou as melhores médias de embriogênese somática na concentração de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, independente do regulador usado. Os valores apresentados no presente trabalho demonstram a viabilidade desta técnica para a propagação *in vitro* desta espécie, mesmo que com um custo mais elevado.

7. CONCLUSÕES

- O nitossolo vermelho e a vermiculita triturada foram os melhores substratos para a germinação de sementes de cubiu.
- É viável a utilização de areia fina lavada e vermiculita triturada como substratos para o enraizamento de estacas caulinares de cubiu.
- A concentração de 500 mg.L^{-1} do ácido naftaleno acético, favoreceu o enraizamento de estacas caulinares de cubiu, independente do substrato avaliado.
- As concentrações de $2,0$ e $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de 2,4-D, interferem na formação e no comprimento de calo e no número de plantas brotadas de cubiu.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADE, L. C.; PAIVA, R.; SILVA, A. A. N.; OLIVEIRA, L. M. Indução de calos de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes concentrações de BAP e ANA. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.2, 2005. Suplemento CD-ROM.

ANDRADE, B. S. de; SANTOS, C. E. M. dos; RANGEL, R. M.; MARTINS FILHO, S. Avaliação de substratos na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de cubiu. **Horticultura Brasileira**, v. , n. , 2003. Suplemento CD-ROM.

BELLETTINI, N. M. T.; LIMA, C. B. de; KOSTETZEL, V.; VIEIRA, M. A. V.; ALVES, S. M. Propagação de boldo por estaquia em diferentes composições de substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.2, 2005. Suplemento CD-ROM.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. Plenum Press: New York, 1994. 445 p.

BEZERRA, A. M. E.; MOMENTE, V. G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa leifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.295-299, abril-junho, 2004.

CHAVES, F. C. M.; SILVA, S. E. L. da; BERNI, R. F.; PENA, E. de A.; COSTA, I. O. V. L.; ROCHA, M. de Q. Produção de mudas de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal.) em função do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.2, 2005. Suplemento CD-ROM.

CLEMENT, C. R. ; SILVA FILHO, D. F. Amazonian small fruits with commercial potential. **Fruit Varieties Journal**. v. 48, n. 3, p.152-158, 1994.

COSTA, M. P. da. **Desenvolvimento e teor de alcalóides em plantas de ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* A. Richard) obtidas *in vitro* submetidas às condições nutricionais em casa de vegetação**. 1995. 61 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DIXON, R. A. Isolation and maintenance of callus and cell suspension culture. In: DIXON, R. A. (Ed.) **Plant Cell culture: a practical approach**. Irl press: Oxford, 1985. p. 1-20.

ELIASSON, L. Factors affecting the inhibitory effect of indolylacetic acid on root formation in pea cutting. **Physiologia plantarum**, v. 51, p. 23-26, 1981.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 1999. 412 p.

EEUWENS, C. J. Effects of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera*) and date (*Phoenix dactylifera*) cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, v. 42, p. 73-78, 1978.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. UFPEL, Pelotas, 1994. 179p.

FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU: Ed. Da Universidade de São Paulo, 1979. v. 2, 392 p.

GAMBASSI, J. R. G.; RESENDE, F. V.; GUALBERTO, R. Produção de mudas de hortaliças no sistema flutuante e convencional, utilizando diferentes composições de substratos. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.2, 2002. Suplemento 2.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**, part 1 – the technology. Exegetics: Edington, 1996. 574 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation; principles and practices**. 7. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002, 880p.

[HTTP://WWW.rgt.matrix.com.br/jornaljr/agricola/agricola](http://WWW.rgt.matrix.com.br/jornaljr/agricola/agricola), 14/08/2003, 20:13h.

[HTTP://WWW.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteúdo.asp?conteúdo=253](http://WWW.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteúdo.asp?conteúdo=253), 4/08/2003, 20:46h.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. USAID, Rio de Janeiro, 1966. 485p.

LABORIAU, L. G. **A germinação das sementes**. OEA: Washington, 1983. 174 p.

LOPES, J. C.; PEREIRA, M. D. Germinação de sementes de cubiu em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**. V. 27, n. 2, p. 1-8, 2005.

LOPES, J. C.; SOUZA, L. T. de; SOUZA, L. T. de; ALTOÉ, M.; MARTINS FILHO, S. A substratos para produção de mudas de cubiu. **Horticultura Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2004. Suplemento CD-ROM.

MATSUMOTO, K.; CABRAL, G. B.; TEIXEIRA, J. B.; RECH, E. L. Embriogênese somática a partir de folhas imaturas de mandioca *in vitro*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 3, n. 2, p. 107-110, 1991.

MELETTI, L. M. M. **Propagação de frutíferas tropicais**. Agropecuária, Guaíba, 2000. 239p.

MOREIRA, F. J. C.; PARENTE, G. B.; MATTOS, S. H. Propagação da berinjela (*Solanum melongena*) em função da aplicação de reguladores de crescimento. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n.2, 2004. Suplemento CD-ROM.

MROGINSKI, L. A. ; ROCA, W. M. Estabelecimento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura – fundamentos y aplicaciones**. CIAT: Cali, 1993. p. 19-40.

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

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. FUNEP, Jaboticabal, 1996. 83p.

PAHLEN, A. V. D. Cubiu (*Solanum tojiro* Humb. & Bonpl.), uma fruteira da Amazônia. **Acta Amazônica**. v. 7, n. 3, p. 301-307, 1977.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. UFV, Viçosa, 2001. 46p.

PALMEIRA, J. I. R.; CARVALHO, A. L. de M.; REGO, M. M. do. Estaquia em jurubeba (*Solanum atropurpureum*). **Horticultura Brasileira**, v.22, n.3, 2004. Suplemento CD-ROM.

PALMEIRA, J. I. R.; CARVALHO, A. L. de M.; SCHWENGBER, J. A. M.; REGO, E. R. do; TAVEIRA, M. L.; REGO, M. M. do. Protocolo de desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de (*Solanum atropurpureum*). **Horticultura Brasileira**, v.23, n.3, 2005. Suplemento CD-ROM.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. Brasília, AGIPLAN, 1977. 289 p.

SILVA FILHO, D. F. **Variabilidade genética em 29 populações de cubiu (*Solanum topiro* Humbl. & Bonpl. Solanaceae) avaliada na zona da mata do estado de Pernambuco.** 1994. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife.

SILVA FILHO, D. F. **Discriminação de etnovariedades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal, Solanaceae) da Amazônia, com base em suas características morfológicas e químicas.** 2002. 117 p. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisa Amazônia/Universidade Federal do Amazonas. Manaus.

SILVA FILHO, D. F.; ANDRADE, J. S.; CLEMENT, C. R.; MACHADO, F. M.; NODA, H. Correlações fenotípicas, genéticas e ambientais entre descritores morfológicos e químicos em frutos de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. **Acta Amazônica.** v. 29, n. 4, p. 503-511, 1999.

SILVA FILHO, D. F.; CONCEIÇÃO, C. J.; NODA, H.; REIS, O. V. Variabilidade genética em populações naturais de cubiu da Amazônia (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Horticultura Brasileira.** v. 14, n. 1, p. 9-15, 1996.

SILVA FILHO, D. F.; NODA, H.; CLEMENT, C. R. Variabilidade genética dos caracteres econômicos em 30 introduções de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) avaliadas na Amazônia Central. **Revista Brasileira de Genética.** v. 16, n. 2, p. 409-417, 1993.

SILVA FILHO, D. F.; CLEMENT, C. R.; NODA, H. Variação fenotípica em frutos de doze introduções de cubiu (*Solanum topiro*) avaliadas em Manaus, AM. **Acta Amazônica.** v. 19, n. 1, p. 09-18, 1989.

SILVA FILHO, D. F.; CLEMENT, C. R.; NODA, H. Relação entre descritores e populações de cubiu (*Solanum topiro*) avaliadas na Amazônia Central. **Revista Brasileira de Fruticultura.** v. 10, n. 2, p. 67-70, 1988.

SKOOG, F. ; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. **Symposium of Society for Experimental Biology**, Cambridge, v. 11, p. 118-131, 1957.

SOUZA, L. T. de; SOUZA, L. T. de; ALTOÉ, M.; MARTINS FILHO, S. Influência de diferentes substratos sobre a qualidade fisiológica de sementes de cubiu. In: 8 ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA e 4 ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, São José dos Campos, 2004. **Anais.** v. 1, n. 1, p. 587-598.

STORTI, E. F. Biologia floral de *Solanum sessiliflorum* Dunal. cv Sessiliflorum, na região de Manaus-AM. **Acta Amazônica.** v. 18 n. 3-4, p. 55-65, 1988.

TOFANELLI, M. B. D.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa em diferentes diâmetros de ramos, substratos e recipientes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 437-442, 2003.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/ EMBRAPA-CNPH, 1998. 864 p.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba, 2001. 39p.