



UFAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA**



CECA

TACIANA DE LIMA SALVADOR

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE GENÓTIPOS E FORMAÇÃO DE
RAÍZES EM ESTACAS CAULINARES DE PINHEIRA (*Annona squamosa* L.)**

**RIO LARGO - AL
2011**

TACIANA DE LIMA SALVADOR

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE GENÓTIPOS E FORMAÇÃO DE
RAÍZES EM ESTACAS CAULINARES DE PINHEIRA (*Annona squamosa* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alagoas, como parte das exigências do Programa de Pós – Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos

**RIO LARGO - AL
2011**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S182c Salvador, Taciana de Lima.
Caracterização morfológica de genótipos e formação de raízes em estacas caulinares de pinheira (*Annona squamosa* L.) / Taciana de Lima Salvador. – 2011.
104 f. : tabs., graf.

Orientador: Eunico Eduardo Pinto de Lemos.
Dissertação (mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2011.

Inclui bibliografia

1. Pinha – Cultivo. 2. Pinha – Mudas. 3. *Annonaceae*. 4. Estaquia. 5. Ata. 6. Fruta-do-conde. I. Título.

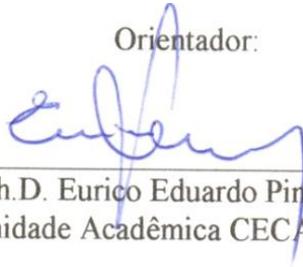
CDU: 634.41

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE GENÓTIPOS E FORMAÇÃO DE
RAÍZES EM ESTACAS CAULINARES DE PINHEIRA (*Annona squamosa* L.)

TACIANA DE LIMA SALVADOR

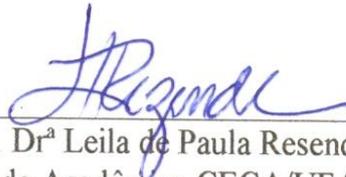
Dissertação defendida e aprovada em 10 de Junho de 2011 pela banca examinadora:

Orientador:

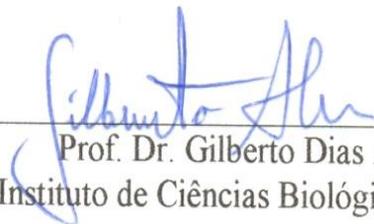


Prof. Ph.D. Eurico Eduardo Pirto de Lemos
Unidade Acadêmica CECA/UFAL

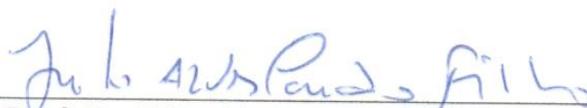
Examinadores:



Prof. Dr.ª Leila de Paula Resende
Unidade Acadêmica CECA/UFAL



Prof. Dr. Gilberto Dias Alves
Instituto de Ciências Biológicas - UPE



Prof. Dr. Júlio Alves Cardoso Filho
Unidade Acadêmica CECA/UFAL

Ao meu precioso Deus, pelas bênçãos recebidas durante minha vida.

A Maria Santíssima, minha mãe do céu, que me protege sempre com seu manto.

Aos meus amáveis pais:

José Petrúcio Salvador e Edmilza Jatobá de Lima Salvador;

Pelo amor e educação, ensinando-me a lutar sempre pelos meus objetivos.

DEDICO

As minhas queridas irmãs:

Edilânia de Lima Salvador; Edivânia de Lima Salvador e Tatiana de Lima Salvador;

Pelo exemplo de irmãs que somos; por todo amor, respeito e união.

Ao meu cunhado:

Carlos André Cavalcante Correia de Santana;

Pelo apoio e estímulo.

Ao meu amado noivo:

Wanderson Andrade de Lima;

Por todo amor, paciência, dedicação, companheirismo

e felicidade compartilhada em todos os momentos.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, razão da minha existência e iluminador das minhas ações;

À Maria Santíssima, mãe agraciada, exemplo em minha vida;

Ao Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos, pela oportunidade, confiança, amizade, orientação e por todos os seus ensinamentos;

À Prof.^a Dr.^a Leila de Paula Rezende (UFAL) pela amizade e estímulo;

Ao Prof.^o Dr. Júlio Alves Cardoso Filho (UFAL) pela amizade e apoio;

Ao Prof. Dr. Antônio Valeriano Pereira dos Santos (UFAL), pela amizade, ensinamentos e auxílio inicial durante a fase experimental de anatomia das estacas de pinheira.

Ao Prof. Dr. Gilberto Dias Alves (UPE), pela amizade, acolhida e auxílio na fase experimental da anatomia das estacas de pinheira.

À Prof.^a Dr.^a Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel (UFRPE), pelo auxílio nas fotografias digitais do material vegetal em microscópio.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado;

À coordenação e ao colegiado do curso de Pós-Graduação em Agronomia, pelo apoio concedido;

A todos os professores da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias;

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal (BIOVEG), pelo companheirismo;

À Edivânia de Lima Salvador, Maria Quiteria Cardoso dos Santos e Tatiana de Lima Salvador pelo companheirismo, carinho e colaboração no trabalho;

A todos os colegas do mestrado;

Aos amigos Alice Maria Nascimento de Araújo, Ana Cristina Nascimento dos Santos, Clênio da Silva Santana, Eliane do Nascimento Santos, Emanuelle Dias dos Santos, Hully Monaisy Alencar Lima, José Leonardo Ferreira Lins, José Petrúcio Fonseca Neto, Lamartine Silva Ferreira Júnior, Luiz Sérgio da Costa Duarte Filho, Maria Érika Francisca de Sales Oliveira, Maria Inajal Rodrigues da Silva das Neves, Maria Juliana da Silva, Marcondes Inácio da Silva, Pedro Bento da Silva, Rafael José Correia de Lima, Vanessa de Melo Rodrigues, por todo estímulo, carinho, amizade e ótimos momentos vividos;

Aos Engenheiros Agrônomos da Secretaria de Agricultura do Estado de Alagoas (SEAGRI-AL), Péricles Gabriel Barros e Rousseau da Silva Campos, pela amizade e auxílio durante a fase experimental;

À técnica do Laboratório de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco (UPE), Ivana Porto Farias, pela amizade, disponibilidade e auxílio no preparo das lâminas histológicas.

À minha amada família de Pernambuco, meu primo Givanildo, sua esposa Edvânia e minha prima Maria Eduarda, por todo amor e gentil acolhida em sua residência no período que passei em Recife.

Aos funcionários do Laboratório de Biotecnologia Vegetal (BIOVEG), Gilvânia Moreira da Silva e Hélio do Carmo Lima, pela amizade, apoio e auxílio nas atividades laboratoriais.

Aos funcionários da Chácara das Anonáceas, Antonio da Silva e Josefa Maria da Conceição pela amizade e auxílio nas atividades em campo;

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram com minha vida acadêmica e/ou com a realização deste trabalho.

*MUITO OBRIGADA!
Deus abençoe a todos!*

E Deus disse: “Eis que vos entrego todas as plantas que dão semente sobre a terra e todas as árvores que produzem fruto com sua semente, para vos servirem de alimento”. Gn. 1,29.

RESUMO GERAL

A pinheira (*Annona squamosa* L.), espécie frutífera tropical, tem despertado o interesse de novos mercados de frutas, em todo o mundo, devido ao seu sabor exótico e atrativo. Em pomares brasileiros, diferenças genotípicas entre plantas podem ser encontradas decorrentes do perfil alogâmico de cruzamento da espécie e da possibilidade de mutações naturais em campo. Esse trabalho objetivou: estabelecer descritores morfológicos mínimos para a caracterização genética de cultivares de pinheira, por comparação entre as cultivares Crioula típica e um mutante com algumas características distintas ao tipo padrão denominado de cv. Verdinha. Em segundo lugar, estudou-se um protocolo de propagação assexuada por estaquia para os novos cultivares onde, estacas semilenhosas de pinheiras da cv. Verdinha foram submetidas a tratamentos com auxina sintética (AIB) na forma de pó ou líquida aplicada em sua base, nas concentrações de 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg, associada à aplicação do inibidor da ação do etileno tiosulfato de prata (STS) nas concentrações de 0, 2 e 4 mM. Por último, estudou-se o surgimento das raízes adventícias nas bases das estacas de pinheiras, espécie tida como de difícil enraizamento. Os resultados obtidos mostraram que é possível diferenciar morfológicamente genótipos de pinheiras utilizando-se uma lista de descritores mínimos morfológicos fáceis de serem observados visualmente nos ramos, folhas, frutos. A clonagem das plantas por estaquia é uma técnica viável e possivelmente de aplicação comercial. Os estudos anatômicos da formação das raízes adventícias nas estacas tem origem indireta, ou seja, surgem a partir dos calos de cicatrização formados nas bases das estacas enfolhadas de pinheira independente do uso do AIB.

Palavras-chave: Annonaceae, ata, estaquia, raiz.

GENERAL ABSTRACT

Sugar apple (*Annona squamosa* L.), tropical fruit species, has brought attention of the new fruit markets around the world due to its exotic taste and attractive skin. In Brazilian orchards, genotypic differences among plants can be found arising from its alogamic sexual profile and the possibility of occurring natural mutations in the field. This study aimed primarily to establish a minimum list of morphological descriptors able to compare, separate and establish sugar apple cultivars. For this, we compared the typical cv. Crioula with the cv. Verdinha, a natural mutant that shows some differences to the standard Crioula type. Secondly, we studied a protocol for vegetative propagation by cuttings to clone the new established cultivar. For this, softwood cuttings of the cv. Verdinha treated with synthetic auxin (IBA) in the form of powder or liquid, at concentrations of 0, 1000, 2000, 3000 and 4000 mg/kg, associated to silver thiosulfate (STS) an known inhibitor of ethylene action at concentrations of 0, 2 and 4 mM. Finally, we studied the emergence of adventitious roots at the base of sugar apple cuttings, a considered difficult-to-root species. The results showed that it is possible to differentiate genotypes of sugar apple by using a list of simple morphological descriptors easily observed in branches, leaves and fruits. Cloning sugar apple by cuttings is a viable technique and it will possibly have commercial applications. Anatomical studies on adventitious roots formation in sugar apple leafy cuttings showed they arise indirectly from the healing callus tissues regardless of the use of IBA.

Keywords: Annonaceae, anona, cuttings, root.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1.** Diagrama da formação de raízes adventícias direta e indireta. Quando um potencial de iniciação de raiz já está presente, as divisões celulares iniciais levam a produção de raízes. Quando não há potencial para isto, rotas alternativas que conduzam a criação de um sistema radicular são mostradas. Enraizamento nem sempre ocorre. Adaptado de Hartmann et al. (2002)..... 23

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Folhas de pinheira apresentando diferenças em sua coloração. Folhas com cera e coloração verde claro fosco na cv. Crioula (A) e ausência de cera e coloração verde intenso brilhante na cv. Verdinha (B)..... 45
- Figura 2.** Genótipos distintos de *Annona squamosa* L. localizados na região de Palmeira dos Índios – Alagoas: Crioula (A) e Verdinha (B)..... 46
- Figura 3.** Frutos de pinheira mostrando diferentes tons de verde. (A) cv. Crioula; (B) cv. Verdinha..... 47
- Figura 4.** Frutos de pinheira: cv. Crioula (A) e cv. Verdinha (B) destacando diferenças na textura da casca dos frutos..... 48

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Matriz de pinheira da cv. Verdinha com quatro anos de idade.... 57
- Figura 2.** Novas brotações da cv. Verdinha (A) e estaca preparada com 15 cm de comprimento com suas folhas cortadas transversalmente ao meio (B)..... 58

Figura 3.	Distribuição das estacas em bancadas suspensas estabelecidas em tubetes de 150 cm ³ na estufa com nebulização intermitente.....	59
Figura 4.	Estacas enraizadas de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) tratadas com: (A) AIB na forma de pó; (B) AIB na forma líquida, após 10 semanas.....	67
Figura 5.	Presença de raízes em estacas de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) tratadas com: (A) AIB na forma de pó; (B) AIB na forma líquida após 10 semanas.....	68

CAPÍTULO 3

Figura 1.	Estacas de pinheiras tratada com AIB na forma de pó e dispostas em tubetes de 150 cm ³ em bancada suspensa (B).....	81
Figura 2.	Estacas de pinheiras com e sem raízes em frascos contendo álcool 70% (A); Base da estaca selecionada para os cortes anatômicos (B).....	82
Figura 3.	Bases das estacas de pinheiras imersas em parafina líquida.....	83
Figura 4.	Confecção dos blocos na Barra de Leucart (A); Blocos prontos para serem cortados em micrótomo (B).....	83
Figura 5.	Micrótomo do tipo Leica RM 2125RT.....	84
Figura 6.	Lâminas histológicas distribuídas em placa aquecedora (Vertex DB2) para a dissolução da parafina.....	84
Figura 7.	Seção longitudinal da base de estacas caulinares de <i>Annona squamosa</i> L. aos 25 dias: (a) tecido parenquimático do calo; (b) floema secundário; (c,d) xilema secundário; (e) calo. Barra=200µm.....	86
Figura 8.	Base de uma estaca de pinheira aos 15 dias (A). Seções longitudinais da base de estacas caulinares de <i>Annona squamosa</i> L. (B). Detalhe da região do início do desenvolvimento do calo de cicatrização (C). Barra=200µm.....	87

Figura 9.	Estaca de pinheira aos 20 dias após plantio em substrato. Estrutura calosa em desenvolvimento em sua base (A); Seções longitudinais da base de estacas caulinares de <i>Annona squamosa</i> L. (B) e detalhe do corte anatômico (C). Barra=200µm.....	88
Figura 10.	Estaca de pinheira aos 25 dias. Estrutura calosa bem desenvolvida e surgimento das raízes adventícias (A); Seção longitudinal da base de estacas caulinares de <i>Annona squamosa</i> L. (B). Detalhe do corte anatômico (C). Barra=200µm.....	89
Figura 11.	Estaca de pinheira aos 30 dias. Estrutura calosa bem desenvolvida e surgimento das raízes adventícias a partir dos calos de cicatrização (A). Seção longitudinal na base de estacas caulinares de <i>Annona squamosa</i> L. (B). Detalhe do corte anatômico (C). Barra=200µm.....	90
Figura 12.	Estaca de pinheira aos 35 dias (A). Estrutura calosa bem desenvolvida e surgimento das raízes adventícias a partir dos calos de cicatrização (B). Seção longitudinal na base de estacas caulinares de <i>Annona squamosa</i> L. Detalhe do corte anatômico (C). Barra=200µm.....	90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.	Listas de descritores morfológicos mínimos para a caracterização de dois genótipos de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) em Alagoas, 2010.....	44
------------------	---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1.	Porcentagem de enraizamento, número de folhas remanescentes, porcentagem de calo, número e comprimento médio de raízes de estacas de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) tratadas com diferentes concentrações de STS (0, 2 e 4 mM). (Maceió-AL, 2010).....	61
Tabela 2.	Porcentagem de enraizamento, número de folhas remanescentes, porcentagem de calo, número e comprimento médio de raízes de estacas de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) tratadas com AIB nas concentrações de 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg (Maceió-AL, 2010).....	63
Tabela 3.	Porcentagem de enraizamento, número de folhas remanescentes, porcentagem de calo, número e comprimento médio de raízes de estacas de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) tratadas com diferentes formas de aplicação e concentrações de AIB: 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg (Maceió-AL, 2010).....	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Considerações gerais sobre a cultura.....	17
2.2 Características botânicas.....	18
2.3 Cultivares.....	19
2.4 Descritores morfológicos para registro e proteção de cultivares.....	19
2.5 Propagação.....	20
2.5.1 Propagação sexuada.....	20
2.5.2 Propagação assexuada.....	21
2.5.2.1 Enxertia.....	21
2.5.2.2. Estaquia.....	22
2.6. Princípios fisiológicos do enraizamento.....	24
2.6.1. Auxinas.....	24
2.7 Fatores que afetam o enraizamento de estacas.....	26
2.7.1 Aspectos fisiológicos.....	26
2.7.2 Tipo e tamanho da estaca.....	26
2.7.3 Folhas.....	27
2.7.4 Época do ano.....	27
2.8 Ação do etileno na abscisão foliar.....	27
2.9 Tiosulfato de prata.....	28
2.10 A técnica da estaquia para a pinheira.....	28
3 REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 1: Descritores morfológicos mínimos para a diferenciação de cultivares de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.).....	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÃO.....	50

REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO 2: Efeito do método de aplicação do ácido indolbutírico e da presença de folhas no enraizamento de estacas de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.)	53
RESUMO	53
ABSTRACT	54
INTRODUÇÃO	55
MATERIAIS E MÉTODOS	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	71
CAPÍTULO 3: Estudo histológico da formação de raízes adventícias em estacas caulinares de pinheira (<i>Annona squamosa</i> L.) cv. Verdinha	76
RESUMO	76
ABSTRACT	77
INTRODUÇÃO	78
MATERIAIS E MÉTODOS	80
RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS	92
APÊNDICES	95

1 INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as anonáceas, a pinha (*Annona squamosa* L.) é a mais conhecida e mais fácil de ser encontrada nas feiras-livres e supermercados brasileiros, embora não seja nativa do país (PINTO et al., 2005). É notória a demanda crescente no mercado interno pela fruta *in natura*, o que tem motivado os fruticultores e estimulado pesquisadores em desenvolver tecnologias para acompanhar essa demanda, oferecendo qualidade e quantidade de frutos (ALVES et al., 2000).

No Brasil são cultivados cerca de 10.500 ha de pinheira, com uma média de 21.000 toneladas de frutos/ano (IBGE, 2010), o que é considerada uma produção pequena, devido à baixa tecnologia ainda aplicada por muitos produtores. Agricultores que fazem uso de tecnologias associadas a uma alta densidade de plantio (2 x 4 metros) podem atingir uma produção de 15 ton/ha/ano de frutas de alta qualidade (média de 300 gramas), sendo, de fato, bem aceitas nos melhores mercados brasileiros, com preços variando entre 2 e 3 US\$ o quilo, visto que, os preços tendem a ser mais compensadores na época da entressafra (DIAS et al., 2004).

A produção da pinha no Brasil tem destaque nos estados da Bahia, Pernambuco, Alagoas, Minas Gerais e São Paulo onde se encontram alguns dos plantios com melhor nível tecnológico (PINTO et al., 2005). O Nordeste representa 70% da produção Nacional e o estado da Bahia é o principal produtor seguido de Pernambuco e Alagoas (IBGE, 2010). Em Alagoas, estima-se que existam mais de 2000 hectares com a cultura (OLIVEIRA et al., 2005).

Não existem cultivares de pinheiras definidas e registradas no Brasil, mas os produtores fazem o uso da tradicional cv. “Crioula”, domesticada e cultivada desde a sua introdução no século XVII na Bahia pelo Conde de Miranda (PINTO et al., 2005). Por ser uma espécie alógama, cruzamentos intra e inter específicos vem acontecendo durante séculos que aliados às mutações naturais podem ter influenciado a origem de algumas variações genotípicas no formato, cor e textura observadas na espécie.

Em Alagoas, no município de Palmeira dos Índios, foi observada uma interessante planta mutante com características morfológicas diferentes da cv. Crioula. Essa planta vem sendo clonada por enxertia na Universidade Federal de Alagoas desde o início dos anos 2000 e tem sido denominada de cv. “Verdinha” por apresentar como característica principal a cloração verde intensa de suas folhas e frutos. A coloração

verde intensa pode estar associada a ausência de uma cobertura cerosa típica existente em folhas e frutos da cultivar tradicional Crioula (LEMOS et al., 2010a).

A manutenção de características genéticas entre gerações de plantas alógamas somente é possível através de uso de técnicas de propagação assexuada. A propagação assexuada ou vegetativa é uma prática comum para diversas frutíferas, porém, para a pinheira, essa técnica ainda é pouco utilizada. A propagação de pinheira por enxertia tem sido utilizada com sucesso por Lemos et al. (2010b).

A propagação vegetativa por estaquia se constitui em um dos métodos mais simples, fáceis e rápidos de clonagem de fruteiras lenhosas, e baseia-se no princípio da totipotência vegetal, onde é possível se regenerar adventiciamente uma planta inteira a partir de um segmento de outra (HARTMANN et al., 2002).

Essa técnica em pinheira tem sido estudada por alguns autores (CASAS et al., 1984; GETTYS et al., 1995; SAMPAIO, 1992 e SILVA, 2003) porém, o seu sucesso tem sido bastante limitado, pois, segundo os autores, trata-se de uma espécie de difícil enraizamento.

Estudos de enraizamento de estacas são necessários para identificar os tecidos alvo e as zonas preferenciais para indução de primórdios radiculares, pois o sucesso ou o insucesso da técnica pode estar relacionado a barreiras anatômicas ou falhas no protocolo técnico (ONO e RODRIGUES, 1996).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma lista de descritores morfológicos mínimos para diferenciar cultivares de pinheiras (*A. squamosa* L.), definir um protocolo para o enraizamento de estacas semilenhosas e estudar anatomicamente a origem dos primórdios radiculares das estacas, visando à produção comercial de mudas clonais de alta qualidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações gerais sobre a cultura

A pinheira (*Annona squamosa* L.), também conhecida como ata e fruta-do-conde, é uma fruteira indígena da América Central/Norte que está amplamente difundida por todos os países tropicais, especialmente nas Filipinas e na Índia (CAVALCANTI, 1987).

Segundo diversos autores, baseados nos trabalhos pioneiros de Popenoe (1952), a pinha é originária da América Central e Antilhas, tendo sido introduzida no Brasil em 1626 pelo Conde Diogo Luiz de Miranda, de onde se originou a sua denominação de “fruta-do-conde”.

Segundo Ferreira (1997), a *A. squamosa* L. apresenta várias sinonímias: em Português - ata, pinha, fruta-do-conde, fruta-da-condessa; em Espanhol - anon, anona blanca, atta del Brasil, chirimoya, rinon, saramuyo; em Inglês - custardapple, sugar-apple, sweetsop; e em Francês - attier, anone écailleuse, corrossolier écailleux, pomme-canelle.

Em relação ao cultivo da pinha, é nos estados da Bahia, Pernambuco, Alagoas, Ceará, norte de Minas Gerais e São Paulo que se encontram os melhores plantios com bom nível tecnológico (SÃO JOSÉ, 1997).

A região do Nordeste é a principal área produtora de pinha do Brasil, com 70% do total, com destaque para o estado da Bahia nas regiões de Presidente Prudente e Juazeiro. No estado de Pernambuco a principal área produtora se encontra em Petrolina e no estado de Alagoas destaca-se a região de Palmeira dos Índios. No sudeste destaca-se a zona de Jales em São Paulo e o norte de Minas Gerais. Em sua grande maioria, são regiões de clima predominantemente semi-árido tropical e altitudes inferiores a mil metros (NIETSCHE et al., 2008).

Em Alagoas, a produção de pinha está distribuída principalmente na Zona do Agreste e Sertão onde se estima que existam mais de 2000 hectares com a cultura (OLIVEIRA et al., 2005). A cultura da pinha tem se expandindo para os municípios alagoanos de Coruripe (Litoral Sul), Feliz Deserto (Baixo São Francisco) e Arapiraca (Agreste), devido aos bons preços obtidos com a fruta *in natura* fora das épocas tradicionais de safra (CAMPOS, 2002).

Segundo Oliveira (1991), a cultura da pinha encontrou condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento na região Agreste do Estado de Alagoas,

precisamente nos municípios de Palmeira dos Índios, Estrela de Alagoas e Igaci devido a solos favoráveis, pluviosidade entre 800 e 1200 mm/ano com um período seco bem definido, proporcionando condições favoráveis ao seu desenvolvimento e alta produtividade quando manejada racionalmente.

2.2 Características botânicas

A pinheira apresenta a seguinte classificação botânica: Reino: Vegetal, Divisão: Angiospermae, Classe: Eudicotyledoneae, Ordem: Magnoliales, Família: Annonaceae, Subfamília: Annonoideae, Gênero: *Annona*, Espécie: *Annona squamosa* L. (MANICA, 2003).

Na família Annonaceae, os três gêneros mais importantes são: *Annona*, *Rollinia* e *Abernona*, (MANICA et al., 2003). O gênero *Annona* é o mais importante economicamente e tem na *A. squamosa* uma de suas principais espécies por produzir frutos delicados e, considerados por alguns, os melhores do gênero (ALVES et al., 2000).

As principais espécies que constituem o gênero *Annona* são: a graviola (*Annona muricata* L), a ata, fruta-do-conde ou pinha (*Annona squamosa* L.), a cherimólia (*Annona cherimola* Mill), a condessa (*Annona reticulata* L.), a atemóia (híbrido de *Annona cherimola* L. x *Annona squamosa* L.), a cabeça-de-negro (*Annona coriaceae*), o araticum-do-campo (*Annona dióica*), o araticum-do-brejo (*Annona paludosa*) e a ilama ou papausa (*Annona diversifolia*) (MANICA et al. 2003).

A pinheira típica é considerada uma árvore pequena, de até 5m de altura e com muitas ramificações. As folhas são decíduas, de lâminas oblongo-elípticas, de ápice obtuso ou arredondado, medindo de 5 a 15 cm de comprimento por 2 a 6 cm de largura, sendo de coloração verde-brilhante na página superior e de cor verde-azulada na página inferior. Esta espécie apresenta as partes masculinas e femininas na mesma planta e na mesma flor, sendo, portanto, classificada como uma planta hermafrodita, com as flores que se originam dos pequenos ramos novos, sendo pendentes, solitárias ou em grupo de duas a quatro (HOEHNE, 1946).

Trata-se de uma planta prioritariamente alógama, devido à dicogamia protogínica, ou seja, não consegue se autopolinizar, pois a parte masculina da flor libera o pólen apenas quando a parte feminina já não está mais receptiva à fecundação, necessitando assim, a utilização do pólen de outra flor (SCALOPPI JÚNIOR, 2007).

O fruto da pinheira é um sincarpo arredondado, ou baga composta, ovóide, esférico ou cordiforme, e possui de 5 a 13 cm de diâmetro, o qual é formado por carpelos destacados na maioria dos tipos cultivados. Quando o fruto apresenta-se completamente maduro, normalmente pode-se verificar os carpelos separados um dos outros, visualizando assim em seu interior a polpa branca ou amarelada. A polpa envolve isoladamente cada uma das numerosas sementes, as quais possuem coloração preta brilhante ou castanha-clara e tem a forma elíptica, medindo de 1,4 a 2,3 cm de comprimento por 0,8 a 1,2 cm de largura (HOEHNE, 1946; MANICA et al., 2003).

O sistema radicular da pinheira é do tipo pivotante e, em plantas jovens, possui um crescimento superior à sua parte aérea. Em mudas, a profundidade atingida pela raiz pivotante é em média 5,5 vezes superior a altura do caule, proporcionando à planta grande tolerância em relação às variações hídricas do solo (OLIVEIRA et al., 2005).

2.3 Cultivares

Não existem cultivares bem definidas de pinha no Brasil, excetuando-se a pinha sem sementes, denominada ateira Cearense ou Pitaguari (GOMES, 1972), porém sem registro, originária de mutação somática ocorrida no Ceará, que produz frutos partenocárpicos, pequenos, desiguais e com alta perecibilidade, não aceitos comercialmente. Em Cuba, existe uma cultivar denominada “Seedless Cuban Sugar Apple”, também sem sementes, com boas características de frutos, porém de menor produção e de sabor menos atraente (OLIVEIRA et al., 2005). Plantas com ramos e frutos roxos, provavelmente originários da América Central, são também conhecidos e começam a ser cultivados no Brasil (LEMOS et al., 2010a)

2.4 Descritores morfológicos para registro e proteção de cultivares

Os descritores morfológicos são comumente utilizados para a caracterização de cultivares de diversas espécies vegetais. Apesar de amplamente recomendado, o emprego destes descritores apresenta algumas limitações, pois como são baseados no fenótipo das plantas podem sofrer o efeito da interação genótipo/ambiente, e muitos precisam ser avaliados na fase adulta das plantas, o que requer tempo e espaço físico para avaliações (VIEIRA, 2000).

O número de descritores escolhidos em cada uma das categorias vai depender da cultura e sua importância para a sua descrição (CHERLA, 2008).

De acordo com a Nova Lei de Sementes e Mudanças (BRASIL, 2003), uma cultivar para ser protegida, deve ser registrada e submetida ao teste de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade, denominado de teste DHE que consiste na avaliação de uma série de características morfológicas, nos diferentes estágios de desenvolvimento da planta, denominada de descritores mínimos, as quais são específicas para cada espécie e recomendadas pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) (VIEIRA et al., 2009). No Brasil este teste é realizado por melhoristas e segue uma metodologia própria para cada espécie, necessitando que o examinador apresente um conhecimento aprofundado da espécie, seu comportamento, grupos e variedades existentes da mesma, sendo indispensáveis, em alguns casos, a utilização de cultivares de referência para a caracterização da nova cultivar (MAPA, 2010).

A proteção dos direitos intelectuais sobre a cultivar se realiza mediante a concessão de um certificado de proteção de cultivar, sendo a única forma de proteção e de direitos que poderá obstar a livre autorização de plantas ou de suas partes, de reprodução ou multiplicação vegetativa no País. Pela Lei de Proteção de Cultivares, são protegidas as espécies superiores de plantas (MAPA, 2010).

2.5 Propagação

A propagação da pinheira pode ser feita de duas formas: a forma sexuada através da semente, comumente utilizada pelos produtores, e a forma assexuada ou vegetativa, mediante o uso de partes do vegetal que se deseja propagar (GAMA e MANICA, 1994).

2.5.1 Propagação sexuada

A pinheira é propagada normalmente por sementes na maioria das regiões produtoras. Como é uma planta alógama - prioritariamente de fecundação cruzada e heterozigota – apresenta um razoável grau de variabilidade entre plantas, o que tem dado origem a pomares desuniformes com variações qualitativa e quantitativa na produção dos frutos, dificultando ainda mais a comercialização interna e externa. Além disso, o método de propagação seminífera acarreta num longo período juvenil e improdutivo (OLIVEIRA et al., 2005).

2.5.2 Propagação assexuada

A propagação assexuada, vegetativa ou clonal é o método mais utilizado na produção comercial de diversas culturas ornamentais e frutíferas tendo como vantagens a reprodução de todas as características da planta matriz, a uniformidade e qualidade na produção (HARTMANN et al., 2002).

É um processo que ocorre por mecanismos de divisão e diferenciação celular, por meio de regeneração de partes da planta. Esse processo é baseado em dois princípios: a totipotencialidade, onde as células da planta contêm toda a informação genética necessária para a perpetuação da espécie, com a capacidade de originar um novo indivíduo e a regeneração de células, onde as células somáticas e os tecidos apresentam a capacidade de regeneração de órgãos adventícios (FACHINELLO et al., 2005).

Este tipo de propagação é especialmente útil, principalmente por manter inalterada a constituição genética do clone durante as gerações. Além disso, reduz o período improdutivo, antecipando a floração, permitindo a obtenção de plantas com precocidade, boa produtividade e qualidade dos frutos, quando comparada aos indivíduos propagados via sementes (CASAGRANDE et al., 2000).

2.5.2.1 Enxertia

A enxertia é uma prática mundialmente utilizada em larga escala em diversas espécies frutíferas, onde sua utilização permite a reprodução integral do genótipo que apresenta características desejáveis. Como vantagem adicional, a propagação por enxertia permite que as plantas entrem em fase de produção mais cedo (CARVALHO et al., 2000).

Lemos et al. (2010b) estabeleceram com sucesso um protocolo para enxertia precoce da pinheira, mostrando que porta-enxertos com três meses de idade desenvolvidos em tubetes com capacidade de 150cm³ e 230cm³ e enxertia do tipo garfagem de topo em fenda cheia atingiram níveis ótimos de pegamento. O uso de tubetes, além de reduzir o volume do substrato, melhorou o aproveitamento do espaço no viveiro e reduziu o peso e o custo de transporte de mudas quando comparado com a produção de sacolas convencionais plásticas com capacidade de 1500cm³.

2.5.2.2 Estaquia

A estaquia é um dos métodos de propagação vegetativa mais utilizados e apresenta como ponto crítico o início do desenvolvimento de um sistema radicular funcional (THOMAS e SCHIEFELBEIN, 2002). A formação de raízes adventícias pode ser considerada como uma sequência de eventos bioquímicos e histológicos (MOREIRA et al., 2000).

As raízes formadas nas estacas são uma resposta ao traumatismo produzido pelo corte feito na base das estacas no momento do seu preparo, predominando os aspectos da diferenciação, onde as células de um tecido já diferenciado retornam à atividade meristemática e da totipotência do vegetal, com a capacidade de apenas uma célula originar um novo indivíduo (FACHINELLO et al., 2005).

Durante a iniciação das raízes, quatro etapas de modificações morfológicas podem ser destacadas: a desdiferenciação de algumas células adultas; a diferenciação de algumas células em primórdios de raízes próximas aos feixes vasculares; a formação de primórdios radiculares e o desenvolvimento dos primórdios de emergências, por meio do córtex e epiderme da estaca, das raízes adventícias, acompanhado da sua conexão com o sistema vascular da estaca (FACHINELLO et al., 2005).

O termo raiz adventícia possui diversas definições, sendo empregado para designar raízes que se originam em partes aéreas da planta, em caules subterrâneos, e em regiões mais ou menos velhas das próprias raízes. As raízes adventícias são encontradas em quase todas as plantas vasculares, com a possibilidade de formação em diversos pontos, podendo ocorrer ao nível dos nós em associação com gemas de ramos axilares, ou independente destes. O desenvolvimento destas desempenha papel importante na propagação das plantas (ESAU, 1977).

A origem e o desenvolvimento destas raízes é geralmente endógena e formam-se junto aos tecidos vasculares crescendo através dos tecidos localizados ao redor do seu ponto de origem. A maioria das raízes adventícias origina-se de células que apresentam a capacidade de tornarem-se meristemáticas. Em estacas de plantas lenhosas, as raízes originam-se no tecido do floema secundário jovem ou de outros tecidos, como o câmbio vascular, os raios vasculares e a medula (HARTMANN et al., 2002) ou do periciclo (RAVEN et al., 2007).

A formação de raízes adventícias pode ocorrer direta ou indiretamente. A formação direta compreende o início das raízes a partir das proximidades do sistema vascular, típico de espécies de fácil enraizamento. Na formação indireta, os primórdios

radiculares se formam nos tecidos dos calos e daí evoluem para uma conexão com o sistema vascular, característica típica de espécies de difícil enraizamento. No caso das células dos calos não possuem potencial para a formação de raízes, estas não se formarão (HARTMANN et al., 2002). Todo esse processo é esquematizado na FIGURA 1.

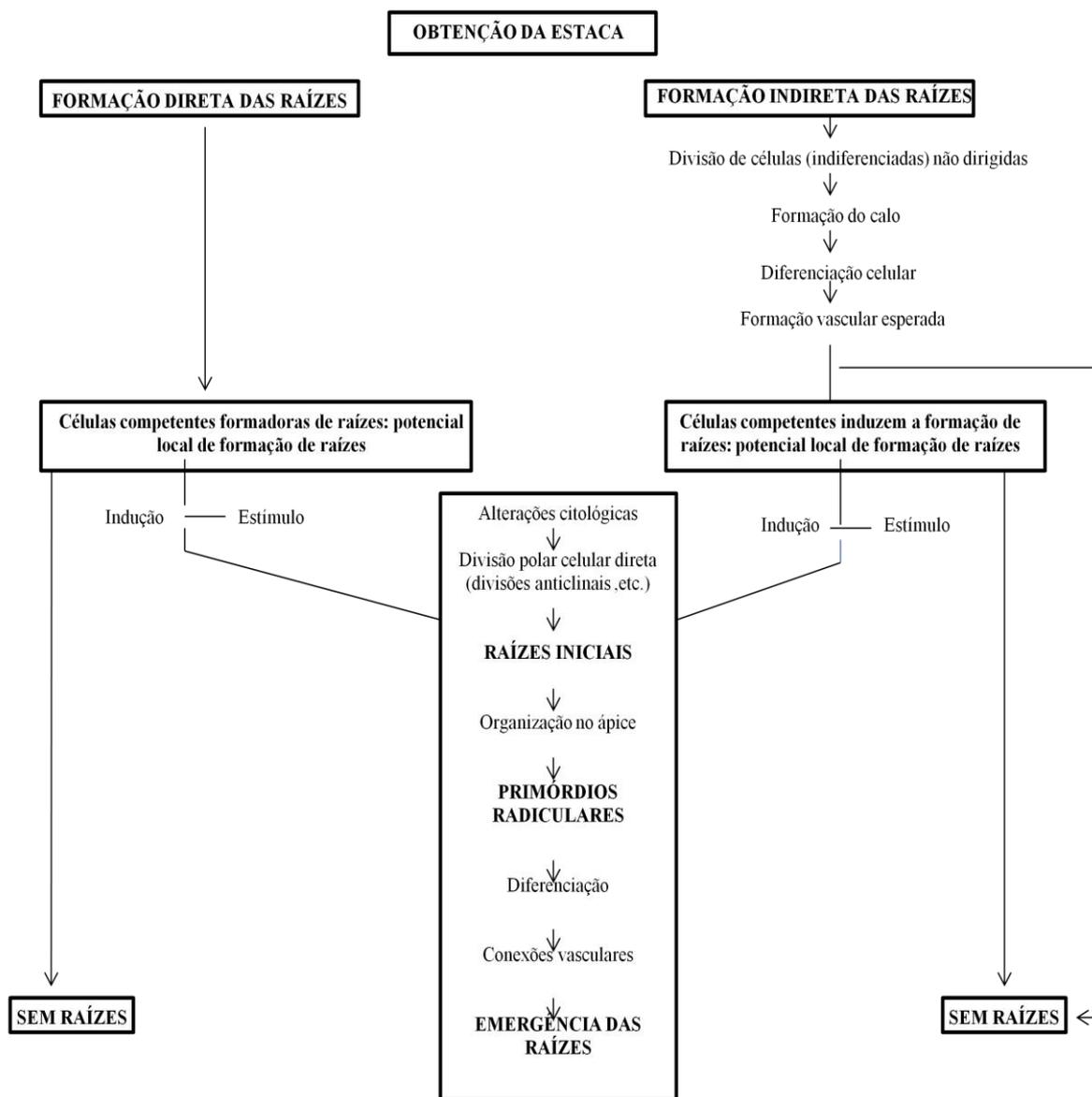


FIGURA 1- Diagrama da formação de raízes adventícias direta e indireta. Quando um potencial de iniciação de raiz já está presente, as divisões celulares iniciais levam à produção de raízes. Quando não há potencial para isto, rotas alternativas que conduzam à criação de um sistema radicular são mostradas. Enraizamento nem sempre ocorre. Adaptado de Hartmann et al., 2002.

Na propagação por estacas, somente é necessário que se forme um novo sistema radicular, visto que já existe um sistema caulinar no ramo em potencial (uma gema). Muitas células nas regiões de maturação têm capacidade de tornarem-se meristemáticas e produzir novos sistemas de raiz, caule ou de ambos, os quais tornam possível a propagação por estacas (HARTMANN et al., 2002).

Com o preparo da estaca, a partir do corte longitudinal ou bisel feito na base, ocorre uma lesão tanto nos tecidos do xilema quanto nos do floema, resultando num traumatismo, que é seguido por um processo de cicatrização, formando uma capa de suberina, que reduz a desidratação na área lesada. Nesta região frequentemente se forma uma massa de células parenquimáticas desorganizadas, pouco diferenciadas e em diferentes estágios de lignificação, denominadas de calo. De acordo com Torres e Caldas (1990) calo é o grupo ou massa de células em crescimento desorganizado e com certo grau de diferenciação. Assim as células que se tornam meristemáticas dividem-se e originam primórdios radiculares, ocorrendo formação de raízes adventícias nas células adjacentes ao câmbio e ao floema.

Segundo HARTMANN et al. (2002) a formação de calo e de raízes são processos independentes na maioria das plantas, sendo que a ocorrência simultânea é devido à dependência de condições internas e ambientais semelhantes. Entretanto, em algumas plantas, a formação de calo pode ser precursora da formação de raízes adventícias.

2.6 Princípios fisiológicos do enraizamento

A capacidade que uma estaca possui de emitir raízes está relacionada a fatores endógenos e às condições ambientais proporcionadas ao enraizamento. Tem sido observado que a formação de raízes adventícias deve-se a interação de fatores existentes nos tecidos e à translocação de substâncias localizadas nas folhas e gemas das plantas. Entre esses fatores, as auxinas têm influência direta sobre o enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).

2.6.1 Auxinas

A auxina foi o primeiro hormônio de crescimento descoberto em plantas, além de ser o grupo hormonal mais conhecido entre os reguladores do crescimento. O ácido indol-3-acético (AIA) é uma auxina natural sendo o primeiro hormônio isolado em

plantas, onde um dos primeiros usos práticos foi para o enraizamento adventício em estacas (HINOJOSA, 2005; TAIZ e ZEIGER, 2009).

A síntese da principal auxina natural nas plantas, o AIA, ocorre em locais de crescimento ativo como os meristemas e folhas jovens. Este hormônio se movimenta polarmente de forma basípeta através do parênquima que envolve os feixes vasculares sem penetrar nos tubos crivosos e sem sofrer as variações que se produzem no floema por demanda de assimilados (LEYSER, 2001). Assim, para se estimular a produção de raízes adventícias, se utiliza a aplicação de um composto sintético (AIB ou ANA), na forma líquida ou sólida, na base das estacas (HINOJOSA, 2005).

A aplicação da auxina natural AIA na parte aérea de plantas não tem sido utilizada nos trabalhos de enraizamento de estacas, mas sua ação sobre as plantas é conhecida há mais de um século (HARTMMAN et al., 2002). Esse fato tem sido também demonstrado pela necessidade que muitas estacas têm de manter algumas folhas na porção apical durante a indução ao enraizamento, independentemente da utilização de auxinas sintéticas na base (MARINHO et al., 2007).

O aumento da concentração de auxina exógena, aplicada em estacas, gera efeito estimulador de raízes até um valor máximo, a partir do qual qualquer acréscimo de auxinas tem efeito inibitório. O teor adequado de auxina exógena, para estímulo do enraizamento, depende da espécie e da concentração de auxina existente no tecido (FACHINELLO et al., 2005).

As auxinas sintéticas têm sido amplamente utilizadas na indução da formação de raízes adventícias em estacas caulinares durante a propagação assexuada de diversas espécies lenhosas (SODRÉ, 2007), sendo o hormônio sintético AIB mais utilizado (MACHADO et al., 2005) e o mais eficaz por possuir comprovada atividade auxínica (LOPES et al., 2003) e estimular a síntese de etileno, que favorece a emissão de raízes (NORBERTO et al., 2001).

A aplicação exógena de auxinas, principalmente o AIB, é uma prática comumente utilizada na propagação de plantas frutíferas de interesse agrônomico (BASSAN et al., 2009; RONCATTO et al., 2008; ZIETEMANN et al., 2007) porém, poucos trabalhos são encontrados no que diz respeito à aplicação para a propagação por estaquia em pinheiras (SCALOPPI JUNIOR et al., 2007).

2.7 Fatores que afetam o enraizamento de estacas

O sucesso na propagação por estaquia pode ser influenciado por diversos fatores entre características inerentes à própria planta e às condições do meio ambiente. Dentre os fatores que podem melhorar os resultados, destacam-se a presença de folhas e gemas nas estacas, as condições ambientais, o substrato e o balanço hormonal, o estágio de desenvolvimento da planta e do próprio ramo, além da época do ano em que as estacas são coletadas (FACHINELLO et al., 2005).

2.7.1 Aspectos fisiológicos

O estágio fisiológico da planta matriz é muito importante para o estabelecimento de mudas por estaquia, uma vez que este processo só é possível em função da totipotência. Entretanto, esta capacidade de regeneração vai sendo perdida com o avanço da ontogenia do vegetal (HARTMANN et al., 2002).

A condição nutricional da planta matriz afeta fortemente o enraizamento das estacas. No que se refere ao teor de carboidratos, tem-se observado que reservas mais abundantes correlacionam-se com maiores percentagens de enraizamento e sobrevivência de estacas. A importância dos carboidratos refere-se ao fato de que a auxina requer uma fonte de carbono para a biossíntese dos ácidos nucléicos e proteínas, para a formação das raízes (FACHINELLO et al., 2005).

2.7.2 Tipo e tamanho da estaca

O tipo de estaca utilizada na propagação de plantas vai variar com a espécie ou cultivar. Em muitos casos, as estacas retiradas de plantas jovens mostram uma maior tendência a formar raízes adventícias que aquelas retiradas de plantas maduras. Esta condição de juvenilidade apresenta importância em vários aspectos da propagação (HARTMANN et al., 2002).

Outro fator importante é o tamanho e a quantidade de gemas presentes nas estacas. HARTMANN et al. (2002) recomendam o tamanho das estacas de acordo com o tamanho do lenho, ou seja, para as estacas de ramos lenhosos arbóreos, o comprimento das estacas pode variar de 10 a 76 cm dependendo da espécie e para ramos lenhosos arbustivos e de caules herbáceos, o comprimento pode variar de 7,5 a 12,5 cm.

Sugere-se que o melhor tamanho para as estacas é aquele que varia de 10 a 15cm de comprimento, com presença de dois nós, o que aumentam a porcentagem de enraizamento (ONO e RODRIGUES, 1996).

2.7.3 Folhas

As folhas e as gemas são de grande importância no enraizamento de estacas, devido a produção de auxinas e de outras substâncias que atuam diretamente no enraizamento. Dependendo da espécie, a remoção das gemas pode reduzir por completo a formação de raízes. A presença de folhas nas estacas possui grande influência na formação de raízes. Os carboidratos, resultantes da atividade fotossintética das folhas, também contribuem para a formação de raízes, embora os efeitos estimuladores de folhas e gemas se devam, principalmente, à produção de auxina (PAIVA e GOMES, 2001).

2.7.4 Época do ano

Fachinello et al., (2005) afirmam que a época mais adequada para a obtenção das estacas difere entre espécies, podendo ser atribuída também às condições climáticas, assim como a temperatura e disponibilidade de água.

2.8 Ação do etileno na abscisão foliar

O etileno é um hormônio vegetal sintetizado em quase todos os órgãos vegetais superiores, de natureza gasosa, e está inteiramente ligado a abscisão foliar (BARRIA, 2005).

A folha jovem tem a capacidade de sintetizar níveis de auxinas relativamente altos. O processo de abscisão foliar ocorre como resultado do desenvolvimento de uma especial camada de células, chamada de camada ou zona de abscisão, próxima à base do pecíolo. Durante a senescência, como o órgão envelhece, a síntese de auxinas no limbo foliar diminui consideravelmente e as paredes da célula na zona de abscisão enfraquecem, promovendo o rompimento do pecíolo na camada de abscisão (PELINSON, 2003).

Durante a senescência, ao mesmo tempo em que diminui o fluxo de auxinas no pecíolo, ocorre um aumento na produção de etileno na região de abscisão. A diminuição no nível de auxinas aparentemente torna as células da região de abscisão mais sensíveis

à ação do etileno. O etileno inibe o transporte de auxinas no pecíolo provocando a síntese e o transporte de enzimas que atuam na parede celular (celulases) e na lamela média (pectinases) (PELINSON, 2003).

A dissolução parcial ou total da parede celular e da lamela média forma a região de abscisão por afrouxamento de ligação entre as células e enfraquecimento do feixe vascular (BONATO e SANTOS, 2002).

Hinojosa (2005), afirma que a abscisão pode ser retardada com a aplicação de compostos de prata ou de uma atmosfera com altas concentrações de CO₂.

2.9 Tiossulfato de prata

A taxa de produção do etileno pelas plantas superiores é variável de um órgão para outro (WOLTERING et al., 1994) e com os distintos estádios de desenvolvimento (BROWN et al., 1986). A regulação da produção de etileno nas plantas deve-se a fatores internos, ambientais ou a estresses (ABELES et al., 1992).

O etileno pode causar muitos efeitos adversos em plantas, como perda da cor verde, murchamento prematuro (HARDENBURG et al., 1988), abscisão de flores e folhas e aceleração da senescência (KERBAUY, 2004; HINOJOSA, 2005; TAIZ e ZEIGER, 2009), reduzindo o valor comercial de folhas, flores, frutos e hortaliças (KADER, 1985).

A prata tem sido utilizada como inibidor não-competitivo da ação do etileno (BEYER, 1976; KNEE, 1992). Acredita-se que os íons prata atuem sobre grupos tióis de alguma proteína da parede celular vegetal, ou sobre proteína receptora localizada na superfície externa da membrana plasmática, ou ainda sobre proteínas que estejam envolvidas na transdução do sinal (KNEE, 1992; SANDERS et al., 1986), suprimindo a ação do gás e, portanto, aumentando a longevidade de flores de corte (NICHOLS et al., 1982).

2.10 A técnica da estaquia para a pinheira

A estaquia tem grande importância na propagação das plantas frutíferas, uma vez que, a maioria das cultivares são altamente heterozigotas e algumas de suas características podem ser perdidas se propagadas por meio de sementes (FACHINELLO et al., 2005; HARTMANN et al., 2002).

Estudo realizado por Silva (2008) sobre o enraizamento de estacas de pinheira, gravioleira e atemoeira, constatou os efeitos das auxinas ANA e AIB na emissão das

raízes. Assim, a melhoria das técnicas de propagação vegetativa, tende ao aumento da produtividade, além de manter a homogeneidade e a qualidade dos pomares (SCALOPPI JUNIOR, 2007).

3 REFERÊNCIAS

ABELES, F. B., MORGAN, P. W., SALTVEIT JR., M. E. **Ethylene in plant biology**. San Diego: Academic Press, 1992. 414 p.

ALVES, R. E.; FILGUIERAS, H. A. C.; MOURA, C.F.H. **Org. Caracterização de frutas nativas da América Latina**. Jaboticabal: UNESP/SBF, 2000.

BARRIA, M. J. Etileno em plantas superiores: Síntese e Propriedades Fisiológicas. In: CID, B.P.L., **Hormônios Vegetais em Plantas Superiores**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2005. p. 102-125.

BASSAN, M. M.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MENDES, B. M. J. **Enraizamento de estacas do híbrido somático laranja 'caipira' + limão 'Volkameriano' e de seus genitores**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, vol.31 no.2, 2009.

BEYER, E. JR. **Silver ion** – a potent antiethylene agent in cucumber and tomato. **HortScience**, v. 11, p. 195-196, 1976.

Bioversity International and CHERLA. **Descriptors for Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.)**. Bioversity International, Rome, Italy; CHERLA Project, Malaga, Spain. 2008.

BONATO, C. M.; SANTOS, V. D. **Crescimento e desenvolvimento**. 2002. Disponível em <<http://br.oocities.com/agropioneiros/cd1.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2011.

BRASIL, Decreto-lei 10.711 de 5 de agosto de 2003. **Nova Lei de Sementes e Mudás**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 6 de ag. 2003. Seção 1. p. 1-4.

BROWN, J. H., LEGGE, R. L., SISLER, E. C., BAKER, J. E., THOMPSON, J. E. **Ethylene binding to senescing carnation petals**. Journal of Experimental Botany, v. 37, p. 526-534, 1986.

CAMPOS, R. S. Estudos de biologia floral e polinização natural e artificial da pinha (*Annona squamosa* L.) e atemóia (*Annona squamosa* x *Annona cherimola* L.). 2002. 97f. Dissertação (Mestrado em Agronomia “Produção Vegetal” – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, 2002.

CARVALHO, J.E.U.; RIBEIRO, M.A.C.; NASCIMENTO, W. M. O. ; MULLER, C.N. **Enxertia da gravioleira (*Annona muricata* L.) em porta-enxertos dos gêneros *Annona* e *Rollinia***. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 4p. (Comunicado Técnico, 27).

CASAGRANDE Jr., J. G.; DUTRA, L. F.; TONIETTO, A.; NACHTIGAL, J. C.; STRELOW, E. **Efeito do estiolamento de ramos e do AIB no enraizamento de estacas herbáceas de jaboticabeira**. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v.6 n.1, p.24-26. Jan-abr, 2000.

CASAS, M. H.; VICTÓRIA, S. M. A.; ZARATE, R. R. D. **Preliminary trials on sexual and asexual propagation of sousop (*Annona muricata*)**, Palmira, v. 4, p. 66-81, 1984.

CAVALCANTI, R.L.R.R. **Pinha: essa desconhecida**. Informativo da Sociedade Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal – SP, p.9, 1987.

DIAS, N. O.; SOUZA I. V. B.; SILVA, J. C. G.; SILVA, K. S.; BOMFIM, M. P.; ALVES, J. F.T.; REBOUÇAS, T. N. H.; VIANA, A. E. S.; SÃO JOSÉ, A.R. **Desempenho vegetativo e reprodutivo da pinheira (*Annona squamosa* L.) em função de diferentes comprimentos de ramos podados**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 3, p. 389-391, Dezembro 2004.

ESAU, K. **Anatomy of seed plantas**. 2nd ed. New York, John Wiley, 1977. p. 83-99, 321-74.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. 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.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A,R.; SOUZA, I.V.B.; MORAIS, O.M.; REBOUÇAS, T.N.H. **Anonáceas: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB/DFZ, 1997, p. 36-37.

GAMA, F., MANICA, I. Propagação. In: MANICA, I. **Fruticultura, Cultivo das anonáceas: ata, cherimólia e graviola**. Porto Alegre: Evangraf, 1994. p. 30-37.

GETTYS, L.; DUKE, E.; COX, A. **Vegetative propagation of a native pawpaw – *Asimina tetramera***. In: Annual Meeting Of The Florida State Horticultural Society, 108., 1995, Orlando. Proceedings. Orlando: 1995, p. 389-391.

GOMES, R. P. **Fruticultura Brasileira**. 13ª edição. São Paulo: Nobel, 1972. 446p.

HARDENBURG, R. E., WATADA, A. E., WANG, C. Y. **Almacenamiento comercial de frutas, legumbres y existencias de floristerias y viveros**. Costa Rica: IICA, 1988. 150 p.

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

HINOJOSA, G. F. Auxinas. In: CID, B.P.L. **Introdução aos hormônios vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. 2005. p. 44-45.

HOEHNE, F. C. **Frutas Indígenas**. 1ª Ed. São Paulo: Instituto de Botânica, 1946. 88p.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Sidra: sistema IBGE de recuperação automática – banco de dados agregados**, 2010. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

KADER, A. A. **Ethylene-induced senescence and physiological disorders in harvested horticultural crops**. HortScience, v. 20, p. 54-57, 1985

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004.

KNEE, M. **Sensitivity of ATPase to silver ions suggests that silver acts outside the plasma membrane to block ethylene action**. Phytochemistry, v. 31, p. 1093-1096, 1992.

LEMOS, E. E. P.; SALVADOR, T. L.; SANTOS, M. Q. C.; REZENDE, L. P.; LIMA, T. S.; LIMA, H. M. A.; **Produção de Porta-Enxertos em Tubetes e Enxertia Precoce da Pinheira (*Annona squamosa* L.)**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, p. 865-873, Setembro 2010b.

LEMOS, E. E. P. ; BARROS, P. G. ; CAMPOS, R. S. ; SALVADOR, T. L. ; SANTOS, M. Q. C. . **Essential Descriptors for Sugar Apple (*Annona squamosa* L.) cultivars**. In: 28th International Horticultural Congress, 2010, Lisboa. Book of Abstracts. Lisboa: International Society for Horticultural Science, 2010a. v. 2. p. 175-175.

LEYSER, H.M. **Auxin signaling: the beginning, the middle and the end**. Current Opinion of Plant Biology, v.4, p. 382-386, 2001.

LOPES, J.C. ALEXANDRE, R.S.; SILVA, A.E. C.; RIVA, E.M. **Influência do ácido indol-3-butírico e do substrato no enraizamento de estacas de acerola**. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v.9, n.1, p.79-83, 2003.

MACHADO, M.P.; MAYER, J.L.S.; RITTER, M.; BIASI, L.A. **Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira 'VR 043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*)**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.27, n.3, p.476-479, 2005.

MANICA, I.; ICUMA, I.M.; JUNQUEIRA, K.P.; OLIVEIRA, M.A.S.; CUNHA, M.M.; OLIVEIRA JR., M.E.; JUNQUEIRA, N.T.V; ALVES, R.T. **Frutas Anonáceas (ata ou pinha, atemólia, cherimólia e graviola). Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Cinco Continentes Editora. 2003. 596 p.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina_inicial/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares>. Acesso em: 22 fev. 2010.

MARINHO, G.A.; LEMOS, E.E.P.; SANTIAGO, A.D.; MOURA FILHO, G.; REZENDE, L.P. **Enraizamento de estacas de gravioleira (*Annona muricata* L.)**. Ciência Agrícola, Rio Largo-AL, v.8, n.1, p.19-23, 2007.

MOREIRA, F. M.; Appezzato-da-Glória, B. & Zaidan, L. B. P. 2000. **Anatomical aspects of IBA-treated microcuttings of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil.** Brazilian Archives of Biology and Technology 43(2): 221-227.

NICHOLS, R., KOFRANEK, A. M, KUBOTA, J. **Effect of delayed silver thiosulphate pulse treatments on carnation cut flower longevity**. HortScience, v. 17, p. 600-601, 1982.

NIETSCHKE, S., PEREIRA, M.C.T., MIZOBUTSI, E.H. y Xavier, A.A. (2008). **Injúria por frio (chilling): um alerta aos produtores de pinha do norte de Minas Gerais**. Editora Unimontes. Montes Claros, Brasil. Boletim Técnico, 1(1): 5-12.

NORBERTO, P.M.; CHALFUN, N.N.J.; PASQUAL, M.; VEIGA, R.D.; PEREIRA, G.E.; MOTA, J.H.. **Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.)**. Ciência Agrotécnica, Lavras, v.25, n.3, p.533-541, 2001.

OLIVEIRA, Z.P. de. **A cultura da Pinha: práticas de cultivo**. Maceió: EPEAL, 1991. 17p. (EPEAL. Circular Técnica, n.3, mar. 1991).

OLIVEIRA, Z.P.; QUEIROZ, M.F.; BARROS, P.G.; CAMPOS, R.S.; LEMOS, E.E.P.; SILVA NETO, J.P. **Recomendações técnicas para a cultura da pinha**. Maceió: SEAGRI-AL, 56p. 2005.

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

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 46 p. (Série Cadernos Didáticos, 83).

PELISON, G. J. B. Efeito de técnicas visando melhoria da qualidade e produção de pinha (*Annona squamosa* L.) no período de entressafra. 2003. 118f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, Unesp. 2003.

PINTO, A.C.de Q.; CORDEIRO, M.C.R.; ANDRADE, S.R.M; FERREIRA, F.H.; FILGUEIRAS, H.A.DE C.; ALVES, R.E.; KIMPARA, D.J. *Annona* species. **Fruits for the future, 5. International Centre for Underutilised Crops**, University of Southampton, Southampto, UK. 263p. 2005.

POPENOE, W. **Central American Fruit Culture**. CEIBA, 1952. p. 299-304.

RAVEN P. H.; EVERT R. F.; EICHHORN S. E. **Biologia Vegetal**. 7th ed. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2007.

RONCATTO, G.; NOGUEIRA, G. C.; RUGGIERO, N. F. C.; OLIVEIRA, J. C.; MARTINS, A. B. G.; **Enraizamento de estacas herbáceas de diferentes espécies de maracujazeiro**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.30, n.4, dez. 2008.

SAMPAIO, V.R. **Propagação das frutíferas tropicais**. In: DONADIO, L.C. (Ed). **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.233-245.

SANDERS, I. D.; SMITH, A. R.; HALL, M. A. **Ethylene metabolism and action**. *Physiologia Plantarum*, v. 66, p. 723-726, 1986.

SÃO JOSÉ, A.R. **Aspectos generales de las anonáceas em Brasil**. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1., 1997, Chapingo. Memórias... Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo, p. 92-103, 1997.

SCALOPPI JUNIOR, E.J. **Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares**. 87f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Jabotical, UNESP/FCAV, 2007.

SILVA, C.P. Enraizamento de estacas de aceroleira (*Malpighia glabra* L.) pinheira (*Annona squamosa* L.) e gravioleira (*Annona muricata* L.) tratadas com ácido indolbutírico e ácido naftalenoacético sob nebulização intermitente. 2003. 105f. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção) Ilha Solteira, UNESP/FEIS, 2003.

SILVA, C. P. Enraizamento de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.), gravioleira (*Annona muricata* L.) e atemoeira (*Annona squamosa* L. x *Annona cherimola* L.) tratadas com ácido indolbutírico (IBA), ácido naftalenoacético (NAA) e bioestimulante. 2008. 140f. Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2008.

SODRÉ, G.A. Efeito do comprimento da miniestaca no crescimento de mudas de cacauero, pp 44-54. In: Substratos e estaquia na produção de mudas de cacauero. 2007. 84 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

THOMAS, P. e SCHIEFELBEIN, J. 2002. **Cloning and characterization of an actin depolymerizing factor gene from grape (*Vitis vinifera* L.) expressed during rooting in stem cuttings**. Plant Science 162: 283-288.

TORRES, A.C., CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília : ABCTP, EMBRAPA, CNPH, 1990. 433p.

VIEIRA, E.S.N. Similaridade genética entre cultivares de feijão do grupo carioca por meio de marcadores morfológicos e moleculares visando a certificação da pureza genética. 2000. 84f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

VIEIRA, E. S. N; PINHO, E. V. R; CARVALHO, M. G. C; SILVA, P. A. **Caracterização de cultivares de soja por descritores morfológicos e marcadores bioquímicos de proteínas e isoenzimas**. Revista Brasileira de Sementes, vol. 31, nº 1, p.086-094, 2009.

WOLTERING, E.A; BARRIE, R; O'DORISIO, T.M; O'DORISIO, M.S; Nance R and Cook DM (1994) **Detection of occult gastrinomas with iodine 125-labeled lanreotide and intraoperative gamma detection.** *Surg* 116(6): 1139–1141.

ZIETEMANN, C.; ROBERTO, S. R.; **Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos.** *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.29 n.1, 2007.

CAPÍTULO 1

Descritores morfológicos mínimos para a diferenciação de cultivares de pinheira

(*Annona squamosa* L.)

RESUMO

A caracterização morfológica através de descritores botânicos visíveis e mensuráveis é um dos métodos mais utilizados para distinguir cultivares de diversas espécies vegetais. Na família Anonaceae, a caracterização morfológica de cultivares foi proposta apenas para a cherimóia (*Annona cherimola* L.) pela sua grande variabilidade natural e obtida através de programas de melhoramento em todo o mundo. A domesticação e a crescente importância de outros membros dessa família na produção de frutas tem feito surgir uma forte demanda por novas cultivares mais produtivas e com atributos comerciais. No caso da pinheira (*Annona squamosa* L.), que há séculos vem sendo propagada sexuadamente, não existem cultivares registradas nos países produtores. Todavia, variações significativas tem sido observadas entre os tipos já cultivados no Brasil. Algumas dessas plantas possuem grande apelo comercial e, se multiplicadas vegetativamente, poderiam dar origem a novas cultivares comerciais. Em Palmeira dos Índios, Alagoas, em uma tradicional área de cultivo foi encontrada uma planta mutante com características morfológicas e agrônômicas diferentes do cultivar tipo Crioula. Essa nova cultivar tem sido provisoriamente denominada de Verdinha e apresenta como características principais a alta produtividade e frutos e folhas sem a cobertura cerosa típica da cultivar Crioula. Este trabalho objetivou determinar descritores morfológicos mínimos para distinguir genótipos de pinheiras distintas do tipo padrão Crioula. Para tanto se estabeleceu caracteres morfológicos típicos da cultivar padrão Crioula examinando-se 20 plantas cultivadas típicas e comparou-se com os caracteres morfológicos de 20 plantas da cv. Verdinha. Nos resultados constatou-se diferenças morfológicas acentuadas entre os dois tipos nos ramos, folhas e frutos. A diferença mais marcante estabelecida entre os dois tipos foi a ausência de cobertura cerosa na folhas e frutos da cv. Verdinha, o que confere uma cor verde intensa nesses órgãos. Uma lista de descritores mínimos é proposta.

Palavras-chave: anona, ata, fruta-do-conde, morfologia.

Minimum morphological descriptors to differentiate sugar apple (*Annona squamosa* L.) cultivars

ABSTRACT

The morphological characterization through visible and measurable botanical descriptors is one of the methods used to distinguish different cultivars of plant species. In the Annonaceae family morphological characterization of cultivars has been proposed only for cherimoya (*Annona cherimoya* L.) because of its large genetic variability obtained through breeding programs worldwide. Domestication of other members of this family and their growing importance in fruit production has given rise to a strong demand for new cultivars with more productive and commercial attributes. In the case of sugar apple (*Annona squamosa* L.), which for centuries has been sexually propagated, there is no cultivars established yet in Brazil, although, significant variations have been observed. Some of these plants have great commercial appeal and, if vegetatively propagated, could lead to new cultivars. In Palmeira dos Índios, Alagoas, in a traditional area of cultivation, was found a mutant plant with different morphological and agronomic characteristics of the tipic cv. Creole. This new cultivar has been provisionally named Verdinha and its main characteristics are high productivity and fruit and leaves waxless. This study aimed to establish the minimum descriptors to distinguish different genotypes of sugarapple. Therefore, some morphological characters of 20 plants of the standard cv. Creole was compared to 20 plants of the cv. Verdinha. Us results it was found differences in the morphology in the branches, leaves and fruits between the two types. The most striking difference established was the lack of wax covering the leaves and fruits of the cv. Verdinha, give induces an intense green color in these organs. A list of minimum descriptors is proposed.

Keywords: anona, ata, custard apple, morphology.

INTRODUÇÃO

A pinheira (*Annona squamosa* L.) é uma fruteira de importância econômica originária das terras baixas da América Central e México (MOSCA et al., 2006). Acredita-se que a pinheira foi introduzida pela primeira vez no Brasil no início do século XVII pelo Conde de Miranda, a partir de sementes trazidas da América Central (PINTO et al., 2005). Desde então essa espécie tem sido cultivada em quase todo o país, mas é no Nordeste que o seu cultivo tem se disseminado, sendo uma das espécies do gênero *Annona* de maior expressão econômica no Brasil (ALVES et al., 2000).

Por ter-se originado de um conjunto inicial de sementes bastante restrito, no Brasil, a pinheira tem uma população aparentemente homogênea. Porém, considerando ser uma espécie preferencialmente alógama, por apresentar nas suas flores o fenômeno da protogenia, as populações de pinheira e de outras espécies de anonáceas nativas e compatíveis tem se entrecruzado naturalmente durante séculos, influenciando assim o surgimento de algumas variações genotípicas interessantes (LEMOS et al., 2010a).

Mutações também parecem ter ocorrido ao longo dos séculos e genótipos incomuns como frutos sem sementes, de coloração variando do verde ao roxo, exocarpo liso ou pontiagudo, plantas anãs ou desprovidas de cutícula serosa, distinções na sua textura, entre outros aspectos podem ser visto entre as pinheiras cultivadas no Brasil (LEMOS et al., 2010a).

Partindo dessas diferenças, novas cultivares podem ser selecionadas, contribuindo assim para o crescimento da cultura no Brasil e no mundo. Somente com a identificação e caracterização de novos genótipos pode-se proceder a seleção e o registro de cultivares. O registro de cultivares é um processo importante para os programas de melhoramento, pois assegura a identidade genética e a qualidade varietal das cultivares, além dos direitos intelectuais dos obtentores. Adicionalmente ao registro, há a proteção das cultivares, a qual possibilita que órgãos e empresas públicas e privadas possam se beneficiar com a soma de recursos decorrentes dos direitos autorais obtidos, dando assim, sustentabilidade parcial ou total à continuidade dos programas de melhoramento (CARVALHO et al., 2009).

A pinheira típica cultivada no Brasil e explorada comercialmente desde sua introdução possui características botânicas definidas que se repetem em milhões de plantas dando-lhe assim uma identidade morfológica facilmente reconhecível. Esse genótipo típico tem sido chamado por produtores e pesquisadores de pinha “Crioula”.

Plantas com diferenças mensuráveis do tipo padrão Crioulo têm sido observadas aqui e acolá nas diferentes áreas de cultivo no Brasil e em outras partes do mundo. Em Alagoas, uma planta com algumas características morfológicas claramente diferentes do tipo Crioula foi identificada por pesquisadores da Universidade Federal de Alagoas e Secretaria de Agricultura e vem despertando o interesse de produtores. Entre as variações que mais chamam a atenção está a ausência de cera em suas folhas e casca dos frutos o que confere a estes uma coloração verde intensa bem diferente da cv. Crioula. Embora as características agrônômicas desse novo tipo ainda estejam sendo avaliadas e comparadas à cultivar típica, tem-se como certo que trata-se de um genótipo de grande potencial econômico para a cadeia produtiva da pinha.

A fixação de características genéticas de novos genótipos e a sua multiplicação em espécies de polinização cruzada como a pinheira somente é possível através de técnicas de propagação assexuada. Esse novo genótipo tem sido implantado em algumas regiões de Alagoas através do uso de mudas propagadas vegetativamente por enxertia. Contudo, é necessário a caracterização morfológica, o registro, a proteção, a multiplicação e o lançamento da primeira cultivar de pinha no Brasil.

O International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) tem proposto descritores para muitas espécies vegetais cultivadas que, em sua maioria, caracteriza-se por uma lista simples de caracteres morfológicos que podem ser identificados com facilidade quando se compara genótipos distintos. Variações na forma, tamanho, textura, cor entre outras observadas em troncos, ramos jovens, folhas, flores e frutos podem e devem ser usadas para separar cultivares de acordo com Serviço Nacional de Proteção a Cultivares (SNPC) (CARVALHO et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer descritores mínimos com as principais características morfológicas da pinheira que permitam, por comparação com o genótipo Crioulo típico cultivado, diferenciar e caracterizar novas cultivares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Características morfológicas de 20 plantas de pinheiras da cultivar típica Crioula com idade de seis anos e propagadas por sementes e 20 plantas do novo genótipo mutante (cv. Verdinha) com idade de quatro anos propagadas por enxertia, submetidas aos mesmos tratamentos culturais, foram avaliadas em um pomar comercial da Fazenda Paxiúba, localizado no Povoado Moreira, no município de Palmeira dos Índios, Alagoas (9° 26' 22,4" S, 36° 41' 2,6" W e 295 m de altitude).

Nesse trabalho cada órgão aéreo das plantas estudadas foi observado quanto a forma, o tamanho, a textura, a coloração e a presença ou ausência de estruturas associadas como cera e pelos, em trocos, ramos, folhas, flores, frutos e sementes. Pela natural dificuldade de observação, as raízes não foram consideradas nesse estudo.

Caracterização morfológica

Para o estabelecimento dos descritores mínimos utilizados na comparação dos dois genótipos de pinheira utilizou-se como base a lista de descritores morfológicos proposta pelo International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) para cherimóia (*Annona cherimola* Mill.) (CHERLA, 2008).

Amostras de 100 folhas, 100 flores, 10 frutos originários de polinização manual e 100 sementes de cada planta foram colhidas, colocadas em saco de papel e levadas ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas em Rio Largo-AL (9° 27' 57" S, 34° 50' 1" W e 127 m de altitude), tomando-se o cuidado necessário para garantir a integridade das mesmas.

Para as características morfológicas dos frutos da pinheira foram considerados os aspectos no formato, cor, textura, dimensões e presença de cera; para as folhas, avaliações foram realizadas para o quesito cor, formato, dimensões e presença de cera. Nas flores e nas sementes, as diferenças foram baseadas na coloração e dimensões das mesmas. As flores foram medidas a partir da inserção do pedúnculo no receptáculo floral até a ponta da pétala. Comprimento e largura foram realizados com o auxílio de um paquímetro.

Caracterização visual da morfologia de folhas e frutos foi realizada através da comparação da cor e textura dentro do mesmo grupo e entre grupo. A cor e a textura desses órgãos foram comparadas pondo-se amostras aleatórias de frutos dos dois

genótipos lado a lado por 20 vezes. Para se certificar de que esse era um bom critério para compor a lista de descritores mínimos, amostras de cada tipo foram examinadas separadamente para constatar se haviam divergências dentro de um mesmo genótipo.

Para o caso de troncos e ramos, um exame e descrição individual foi feita para cada genótipo separadamente e, depois, os resultados quando consistentes foram comparados entre os dois genótipos.

Somente diferenças fáceis de serem observadas e simples de serem descritas por qualquer pessoa com um mínimo de treinamento e equipamentos foram consideradas para compor a lista de descritores mínimos proposta nesse trabalho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As comparações entre os dois genótipos apontaram diferenças morfológicas que possibilitaram estabelecer um padrão de observações com consistência suficiente para se garantir que trata-se de tipos distintos e que, portanto, podem separar cultivares. O Quadro 1 propõe uma lista de 25 descritores mínimos para se comparar genótipos diferentes de pinheiras em campo. Embora alguns descritores apresentados no Quadro 1 não tenham apresentado diferenças entre os genótipos estudados, avaliações preliminares em campo com outros genótipos mostraram que estes podem sofrer variações consideráveis e, portanto, valem à pena ser fazer parte da lista.

TABELA 1 – Lista de descritores morfológicos mínimos para a caracterização de dois genótipos de pinheira (*Annona squamosa* L.) em Alagoas, 2010.

DESCRITORES	CULTIVARES	
	Crioula Típica	Verdinha
1 Cor tronco	Cinza claro	Cinza médio
2 Cor ramo jovem	Verde claro opaco	Verde escuro brilhante
3 Cor ramo adulto	Verde claro opaco	Verde escuro brilhante
4 Cor da folha jovem	Verde claro opaco	Verde escuro brilhante
5 Cor da folha adulta	Verde claro opaco	Verde intenso brilhante
6 Formato folha	Elíptica	Elíptica
7 Formato base da folha	Obtusa	Obtusa
8 Limbo foliar	Lisa	Lisa
9 Forma lamina foliar	Simétrica	Simétrica
10 Cutícula (cera)	Presente	Ausente
11 Comprimento médio da lâmina foliar*	12,5 cm	13,6 cm
12 Largura média da lâmina foliar*	6,2 cm	6,7 cm
13 Cor flor	Creme amarelado	Creme amarelado
14 Cor pétala interior	Creme	Creme
15 Cor interna da base da pétala	Púrpura	Púrpura
16 Comprimento da flor*	2,4 cm	2,9 cm
17 Cor da casca do fruto	Verde claro/cinza	Verde intenso
18 Formato fruto	Cordiforme/redondo	Cordiforme
19 Formato do gineceu	Arredondada	Cordiforme
20 Textura do exocarpo	Tuberculata com saliências suaves	Tuberculata com saliências rugosas acentuadas
21 Comprimento médio do fruto**	9,3 cm	11,5 cm
22 Largura média do fruto**	9,0 cm	9,4 cm
23 Comprimento médio da semente*	1,2 cm	1,1 cm
24 Largura média da semente*	0,6 cm	0,5 cm
25 Cor da semente	Marrom escuro	Marrom escuro

* Média de 100 dados por planta; ** Média de 10 dados por planta

Os descritores morfológicos que mais apresentaram distinções visíveis entre a cv. Crioula e a cv. Verdinha foi a coloração de ramos jovens, folhas e casca dos frutos. Nestes casos foi observado que a coloração verde mais intensa e brilhante da cv.

Verdinha estava associada a ausência de uma cobertura cerosa nesses órgãos. Por contraste, na cv. Crioula, a presença de uma camada de cera estabelece um tom de verde claro fosco quase cinza (FIGURA 1). Essa camada de cera estabelece uma reação hidrofóbica na superfície das folhas, ramos jovens e frutos que a rigor não se molham com a aspersão de água sobre esses órgãos.



FIGURA 1 – Folhas de pinheira apresentando diferenças em sua coloração. Folhas com cera e coloração verde claro fosco na cv. Crioula (A) e ausência de cera e coloração verde intenso brilhante na cv. Verdinha (B). Fotos: Eurico E. P. Lemos, 2009.

Não foi possível avaliar se a ausência de cera sobre tais órgãos produzem vantagens ou desvantagens biológicas competitivas para a cv. Verdinha em relação à cv. Crioula. Todavia, a coloração verde intensa da casca dos frutos certamente produz um contraste que chama a atenção de produtores, comerciantes e consumidores e pode se constituir em um diferencial em favor dessa cultivar. Contudo, é necessário uma análise de aceitação de mercado.

A cor da casca e da polpa dos frutos tem sido um foco importante em programa de melhoramento de frutas em todo o mundo. A atratividade da cor da casca dos frutos pode definir o sucesso ou o fracasso de uma nova variedade. De uma forma geral, cores mais intensas e brilhantes são preferidas em relação a casca mais claras e opacas (TREVISAN et al., 2006). Em espécies que não possuem possibilidades de cores entre o amarelo intenso e o roxo, a cor verde mais intensa pode ser um diferencial importante para o sucesso comercial de uma cultivar (SOUZA, 2006).

Na ausência de variações organolépticas entre os genótipos, que parece ser o caso dessas duas cultivares estudadas, a coloração dos frutos pode se constituir num importante diferencial de apelo comercial. Embora testes científicos para determinar a

preferência dos consumidores não tenham sido conduzidos no mercado local, observações preliminares espontâneas apontam nessa direção¹.

Estudos sobre características morfológicas de plantas tem como principal objetivo ampliar o conhecimento sobre determinada espécie, expandindo assim o reconhecimento e identificação das plantas de determinada região (OLIVEIRA, 1993). O estudo da morfologia do vegetal é de fundamental importância para caracterizar a diversidade de variedades que ocorrem na região estudada (GUIMARÃES, 2005).

As avaliações mostraram diferenças visíveis também na coloração das folhas das cultivares de pinheiras avaliadas. A cv. Crioula apresenta uma coloração verde clara típica bem diferente da cv. Verdinha que confere à planta uma cor verde intensa que a distingue facilmente no meio de outras Crioulas no pomar (FIGURA 2) ou mesmo no viveiro. Andrade e Martins (2007), em trabalho realizado com caramboleira (*Averrhoa carambola* L.), verificaram que é possível diferenciar as cultivares a partir das distinções morfológicas nas folhas, permitindo classificá-las mesmo em condições de viveiro.



FIGURA 2- Genótipos distintos de *Annona squamosa* L. localizados na região de Palmeira dos Índios-Alagoas: cv. Crioula (A) e cv. Verdinha (B). Fotos: Eurico E. P. Lemos, 2008.

A pinheira possui mecanismos morfológicos e fisiológicos que permitem conviver de forma produtiva em ambientes ecologicamente diferentes quanto à disponibilidade de água. A espécie pode produzir economicamente em zonas semi-áridas onde faz uso de mecanismos de resistência ao estresse hídrico para evitar a

¹ Informação pessoal, Eurico Eduardo Pinto de Lemos.

desidratação por transpiração e, na pinheira, a cutícula serosa em suas folhas participa ativamente deste mecanismo (OLIVEIRA et al., 2005). O sucesso da cultura da pinha em zonas de baixa precipitação como o agreste de Alagoas e os sertões de Pernambuco e da Bahia mostra que essa é uma espécie com adaptações morfo-fisiológicas para estes ambientes.

A camada cerosa que recobre as folhas da pinheira é uma característica xeromórfica e tem como função reduzir a transpiração de água dos tecidos subepidérmicos (LEMOS, 1994). Apesar da ausência da cutícula serosa nas folhas da cv. Verdinha, esta falta parece não interferir no processo de crescimento e desenvolvimento da planta, assim como a formação das flores e dos frutos, pelo contrário, frutos dessa cultivar apresentam características superiores (FIGURA 3), e que vem chamando a atenção dos pesquisadores.

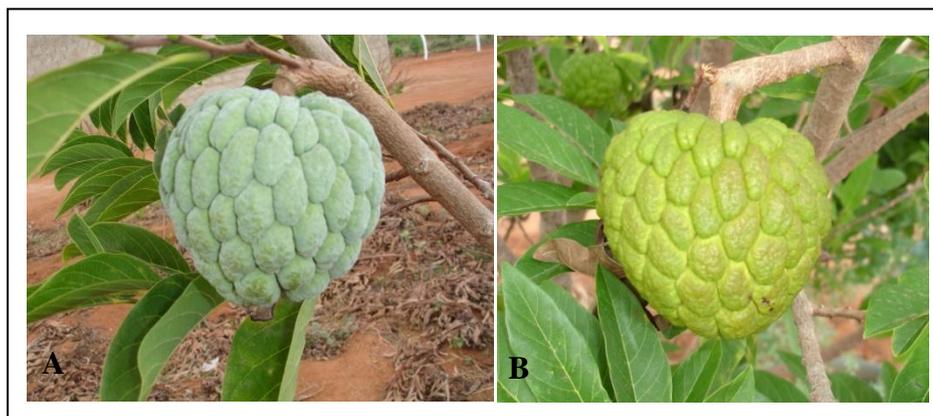


FIGURA 3 – Frutos de pinheira mostrando diferentes tons de verde (A) cv. Crioula; (B) cv. Verdinha. Fotos: Eurico E. P. Lemos, 2009.

A textura encontrada nas cascas dos frutos das pinheiras da cv. Verdinha revela saliências mais acentuadas do que a da cv. Crioula, outra característica que pode ser usada para diferenciar as duas cultivares (FIGURA 4).

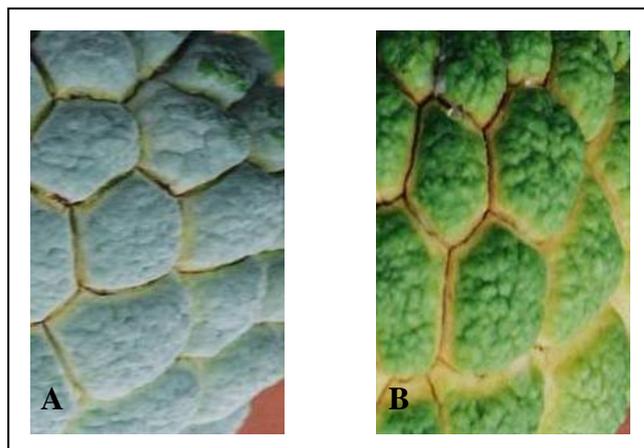


FIGURA 4 – Frutos de pinheira: cv. Crioula (A) e cv. Verdinha (B) destacando diferenças na textura da casca dos frutos. Fotos: Eurico E. P. Lemos, 2009.

As mutações espontâneas apresentam-se como uma das fontes mais importantes para introdução de variabilidade genética em programas de melhoramento que visam obter cultivares com maior produção, com frutos mais firmes, de boa aparência, resistentes a doenças e saborosos (SOARES FILHO et al., 2003). Em tomateiro (*L. esculentum*) diversos mutantes têm sido identificados, onde apresentam aspectos alterados em sua coloração e processo de amadurecimento (MOURA et al., 2004).

A comercialização no setor frutícola é dependente de apreciação positiva pelo consumidor que está relacionada principalmente com a aparência e as características sensoriais, além da garantia de segurança e qualidade, possibilitando o estabelecimento de estratégias diferenciadas de comercialização, e a orientação de programas de melhoramento genético de plantas frutíferas (ROMBALDI et al., 2007).

Rombaldi et al. (2007) em pesquisa realizada com consumidores de frutas no Sul do Brasil, afirmaram que a aparência dos frutos constitui um dos fatores de maior relevância na decisão para adquirir uma determinada fruta. Nota-se que o consumidor é atraído pela aparência do fruto, e posteriormente, outras características são observadas como a coloração, ausência de lesões e podridões, aroma e sabor.

A lista de descritores mínimos pode ser usado para descrever as diferenças na morfologia de genótipos de pinheira e representa uma importante ferramenta que pode auxiliar melhoristas na caracterização de novas cultivares de pinheira.

Estudos relacionados às características pomológicas e agronômicas como produção/safra, peso do fruto, rendimento de polpa, brix, acidez titulável etc, poderão auxiliar na obtenção de dados completos referentes a esta nova cultivar.

A avaliação de parâmetros fisiológicos decorrentes dessa variação (ausência de cera) na cv. Verdinha sob diferentes condições de estresses ambientais poderá fornecer informações relevantes para predizer a sua resistência em campo.

Sugere-se o encaminhamento de uma proposta ao SNPC do Ministério da Agricultura de reconhecimento da lista de descritores mínimos morfológicos aqui apresentada como padrão para o registro e proteção de cultivares de pinheira até que novos padrões genéticos de comparação possam ser propostos.

CONCLUSÃO

Os descritores mínimos morfológicos podem ser utilizados para descrever as diferenças na morfologia de genótipos de pinheira e representa uma importante ferramenta que pode auxiliar melhoristas na caracterização de novas cultivares de pinheira.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. E.; FILGUIERAS, H. A. C.; MOURA, C.F.H. Org. **Caracterização de frutas nativas da América Latina**. Jaboticabal: UNESP/SBF, 2000.

ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G.; **Aspectos morfológicos de folhas na diferenciação de variedades de carambola**. Comunicação Científica. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal, vol.29, n.2, p. 386-388, 2007.

Bioversity International and CHERLA. **Descriptors for Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.)**. Bioversity International, Rome, Italy; CHERLA Project, Malaga, Spain. 2008.

CARVALHO SIC; BIANCHETTI LB; REIFSCHNEIDER FJB. 2009. **Registro e proteção de cultivares pelo setor público: a experiência do programa de melhoramento de *Capsicum* da Embrapa Hortaliças**. Horticultura Brasileira, v.27, n.2, p.135-138, abr.-jun. 2009.

GUIMARÃES, W. N. R. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L., Fabaceae) da Coleção de Germoplasma do Departamento de Agronomia da UFRPE. 2005. 73f. Dissertação de mestrado (Melhoramento Genético de Plantas). Departamento de Agronomia. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2005.

LEMOS, E. E. P. **Micropropagation, leaf abscission and sugar induced shoot regeneration in sugar apple (*Annona squamosa* L.) and soursop (*Annona muricata* L.)**. London: University of London, 1994. 207p. Thesis (PhD.). University of London, 1994.

LEMOS, E. E. P. ; BARROS, P. G. ; CAMPOS, R. S. ; SALVADOR, T. L. ; SANTOS, M. Q. C. . **Essential Descriptors for Sugar Apple (*Annona squamosa* L.) cultivars**. In: 28th Internatuional Horticultural Congress, 2010, Lisboa. Book of Abstracts. Lisboa: International Society for Horticultural Science, 2010a. v. 2. p. 175-175.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. **Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006.

MOURA, M. A.; GALVÃO, H. L.; FIGERI, F. L. **Crescimento e desenvolvimento de frutos do tomateiro ‘santa clara’ e do seu mutante natural ‘firme’**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1284-1290, nov./dez., 2004.

OLIVEIRA, E.C. Morfologia de plântulas florestais. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUEZ, F.C.M. & FIGLIOLA, M.B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.175-214.

OLIVEIRA, Z.P.; QUEIROZ, M.F.; BARROS, P.G.; CAMPOS, R.S.; LEMOS, E.E.P.; SILVA NETO, J.P. **Recomendações técnicas para a cultura da pinha**. Maceió:SEAGRI-AL, 56p. 2005.

PINTO, A.C.de Q.; CORDEIRO, M.C.R.; ANDRADE, S.R.M; FERREIRA, F.H.; FILGUEIRAS, H.A.DE C.; ALVES, R.E.; KIMPARA, D.J. **Annona species. Fruits for the future, 5**. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, UK. 263p. 2005.

ROMBALDI, C. V.; TIBOLA, C. S.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. A. **Percepção de consumidores do rio grande do sul em relação a quesitos de qualidade em frutas**. Comunicação Científica. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal - SP, v. 29, n. 3, p. 681-684, Dezembro 2007.

SOARES FILHO, W. S.; SOBRINHO, A. P. C.; PASSOS, O. S.; MOITINHO, E. D. B. **‘Maravilha’: uma nova seleção de tangerina ‘Sunki’**. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal - SP, v. 25, n. 2, p. 268-271, Agosto 2003.

SOUZA, I. V. B. Produção comercial de pinheira (*A. squamosa* L.) em relação ao número de frutos por planta. 2006. 79p. Dissertação de Mestrado em Agronomia (Fitotecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2006.

TREVISAN, R.; TREPTOW, R. O.; GONÇALVES, E. D.; ANTUNES, L. E. C.; HERTER, F. G. **Atributos de qualidade considerados pelo consumidor de Pelotas/RS, na compra de pêssego *in natura***. Nota técnica. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 371-374, jul-set, 2006.

CAPÍTULO 2

Efeito do método de aplicação do ácido indolbutírico e da presença de folhas no enraizamento de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.)

RESUMO

A pinheira (*Annona squamosa* L.) é uma fruteira tipicamente de clima tropical e apresenta boas perspectivas econômicas para a fruticultura brasileira. É notório o aumento da demanda pelos seus frutos, tanto no mercado interno como no mercado externo. Tal demanda motiva os fruticultores e empresários, e tem forçado a pesquisa a desenvolver tecnologias para que o produtor possa acompanhá-la, tanto na qualidade como na quantidade de frutos ofertados. A propagação vegetativa de plantas de elite e de variedades selecionadas é o método mais recomendado para a formação de pomares uniformes e produtivos. Dentre os métodos de clonagem de plantas, a estaquia apresenta uma série de vantagens que incluem a facilidade da técnica e o seu baixo custo. Todavia, para o sucesso dessa técnica em plantas lenhosas de difícil enraizamento, como a pinheira, está a necessidade de se induzir a produção de auxinas endógenas ou fazer a aplicação de auxinas exógenas como indutoras do enraizamento. A manutenção de folhas ou parte delas em estacas lenhosas garante parte do suprimento necessário de auxinas endógenas e a aplicação de auxinas sintéticas como o ácido indol butírico (AIB) na base da estaca garante o suprimento exógeno. Este trabalho objetivou estabelecer a ação do tiosulfato de prata (STS), um conhecido inibidor da ação do etileno e conseqüentemente da abscisão foliar, associada ao método de aplicação do AIB no estímulo ao enraizamento de estacas de pinheira. Para isso, foi conduzido um experimento inteiramente casualizado com desenho fatorial 3 X 2 X 5, sendo três concentrações de tiosulfato de prata (0, 2 e 4 mM), dois métodos de aplicação do ácido indol butírico (pó ou líquido) e cinco concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg). As estacas foram avaliadas durante 10 semanas em câmara de nebulização e apresentaram grande capacidade de enraizar independente das doses de STS ou AIB utilizadas. A aplicação do AIB em pó foi significativamente mais eficiente para a formação das raízes do que na forma líquida.

Palavras-chave: AIB, fruta-do-conde, propagação, tiosulfato de prata.

**Effect of the application methods of indolbutyric acids and the presence of leaves
in the rooting cuttings of sugar apple (*Annona squamosa* L.)**

ABSTRACT

Sugar apple (*Annona squamosa* L.) is a tropical fruit tree that presents good economic perspectives for the Brazilian fruit growers. Its fruits have shown a perceptible growing demand in both internal and external tropical fruit market. Such demand has motivated growers and entrepreneurs to invest and also forced the researchers to develop new technologies to improve both quality and quantity of fruit offered. The vegetative propagation of selected cultivars is the most recommended method to establish uniform and productive orchards. Among the methods of cloning plants, stem cuttings presents a series of advantages including the simplicity of the technique and its low cost. However, to stimulate roots on difficult-to-root species such sugar apple, it is necessary to use endogenous or exogenous auxins to encourage root formation on woody cuttings. Maintaining leaves on cuttings is an way to supply at least part of the necessary endogenous auxins to stimulate rooting. Also, by applying synthetic auxins such as indole butyric acid (IBA) at the base of cuttings ensures the exogenous supply. This work aimed to establish the effect of silver thiosulphate (STS), a known inhibitor of ethylene action and leaf abscission, associated with the method of IBA application in stimulating rooting in cuttings of sugar apple. Therefore, an experiment was carried out in an entirely randomized design (factorial 3 X 2 X 5), using three concentrations of silver thiosulphate (0, 2 and 4 mM), two methods of IBA application (powder or liquid), and five concentrations of IBA (0, 1000, 2000, 3000 and 4000 mg/kg). The cuttings were evaluated during 10 weeks in a fogging unit and showed high rooting ability independent of the dosages of STS or IBA used. The application of IBA was significantly more efficient for root formation in powder than in a liquid form.

Keywords: IBA, custard apple, propagation, silver thiosulphate.

INTRODUÇÃO

A produção de pinha vem crescendo a cada ano em várias regiões do Brasil com destaque para a região Nordeste que, graças aos recursos da irrigação, tem possibilitado o cultivo de até duas safras ao ano na zona semi-árida, gerando emprego e renda para as populações de vários municípios (MENEZES et al., 2002; DIAS et al., 2004).

No Brasil, o maior produtor de pinha é o estado da Bahia, com uma área superior a 7.000 hectares e uma safra anual de aproximadamente 18 mil toneladas (MATTOS, 2007). Alagoas, que no passado foi um destaque na produção de pinha, tem perdido a competitividade principalmente por falta de áreas irrigadas e o baixo nível tecnológico dos seus plantios (OLIVEIRA et al., 2005).

Numa tentativa de reverter a situação da cultura da pinha em Alagoas, a Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e a Secretaria de Agricultura do Estado de Alagoas (SEAGRI-AL) vêm desenvolvendo uma série de tecnologias para o seu cultivo. Entre as novas tecnologias propostas pela pesquisa estadual está a seleção de uma nova cultivar de pinheira denominada de “Verdinha”. Essa cultivar tem sido testada com sucesso em algumas regiões do Estado através do uso de mudas propagadas vegetativamente por enxertia. A busca de métodos de propagação vegetativa eficientes tem sido almejada para reduzir o custo e compatibilizar a demanda de produtores por mudas clonais dessa variedade.

Para a formação dos novos pomares de pinheira em Alagoas, produtores utilizam ainda mudas oriundas de sementes, as quais nem sempre reproduzem os melhores caracteres genéticos das plantas que as originam (MARINHO et al., 2007).

O uso dos fitorreguladores do grupo das auxinas é uma prática comum entre viveiristas para o processo de enraizamento de estacas. Entre as auxinas, o ácido indol butírico (AIB) tem sido a mais utilizada por ser altamente efetiva ao enraizamento, em função da sua menor mobilidade, menor fotossensibilidade e maior estabilidade química na planta (HARTMANN et al., 2002).

Tem sido observado por diversos autores que a presença de folhas nas estacas auxilia no enraizamento das mesmas. Essa característica é sempre associada à capacidade das folhas serem fontes ativas na produção do ácido indol acético (AIA), uma auxina natural nas plantas, e à capacidade de produzir açúcares através da fotossíntese (TAIZ e ZEIGER, 2009). Estes compostos produzidos nas folhas são translocados pelo floema para a base das estacas e, ali estimulam a multiplicação e

diferenciação celular culminando na formação de raízes adventícias (HARTMANN et al., 2002).

A pinheira é uma planta decídua e sob condições de estresses ambientais perdem rapidamente suas folhas (LEMOS e BLAKE, 1996). A abscisão foliar é um processo fisiológico atribuído à ação do hormônio etileno sobre sítios específicos do pecíolo sensíveis à hidrólise da parede celular (ABELES et al., 1992). Enzimas, primariamente pectinases são responsáveis pela degradação da lamela média (ADDICOTT e WIATR, 1977). A celulase tem sido também apresentada como responsável pela degradação da camada de separação das células (WRIGHT e OSBORNE, 1974). Estudos comprovam que a maioria dos efeitos do etileno pode ser antagonizada por inibidores de sua ação, como por exemplo, o tiosulfato de prata (STS), já utilizado com sucesso na inibição da abscisão foliar em cultivo *in vitro* da pinheira (LEMOS e BLAKE, 1996).

A estaquia da pinheira foi estudada por Casas et al. (1984) e Gettys et al. (1995) que afirmaram ser uma espécie de difícil enraizamento, não obtendo sucesso mesmo com a utilização de fitoreguladores. Outros autores como Sampaio (1992), Marinho e Lemos (1996) e Silva (2003), confirmam essa hipótese. O corte e o tratamento das estacas para o enraizamento é *per si* um estresse que induz a produção de etileno nos tecidos lesionados e tem potencial suficiente para disparar o mecanismo de abscisão foliar (LEMOS e BLAKE, 1996). Portanto, a utilização de um inibidor da ação do etileno nas folhas poderia auxiliar a manutenção das mesmas nas estacas e garantir um fluxo contínuo de AIA e fotossintatos para a base das estacas favorecendo a indução de raízes adventícias.

Este trabalho objetivou viabilizar a técnica de estaquia da pinheira utilizando um inibidor da ação de etileno, tiosulfato de prata (STS) e, conseqüentemente da abscisão foliar, associada ao método de aplicação do AIB no estímulo ao enraizamento de estacas de pinheira.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de novembro de 2009 a janeiro de 2010, na estufa do Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas em Rio Largo-AL (9° 27' 57" S, 34° 50' 1" W e 127 m de altitude).

O experimento foi organizado em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2x5 [concentrações do STS (0, 2 e 4 mM) x método de aplicação do AIB (pó e líquido) x concentrações do AIB (0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg)], totalizando 30 tratamentos, três repetições e três estacas por parcela.

Estacas semilenhosas foram obtidas de brotações vigorosas de pinheiras com quatro anos de idade da cv. Verdinha (FIGURA 1), propagadas por enxertia e estabelecidas no pomar comercial da Fazenda Paxiúba, localizado no Povoado Alto Vermelho, no município de Palmeira dos Índios, Alagoas (9° 26' 22,4" S, 36° 41' 2,6" W e 295 m de altitude).



FIGURA 1. Matriz de pinheira da cv. Verdinha com quatro anos de idade. Foto: Eurico E. P. Lemos, 2010.

As estacas coletadas foram padronizadas com quatro folhas cortadas transversalmente ao meio (FIGURA 2), e reduzidas ao comprimento de 12 cm com cortes transversais nas bases. Em seguida, as estacas foram mergulhadas em solução fungicida à base de tiofanato metílico (Cercobim 700 PM) na concentração de 4g/L por cinco minutos. Após o tratamento, renovou-se o corte em bisel na base de cada estaca com o auxílio de um estilete esterilizado.

Tratamento hormonal das estacas

Para a aplicação da auxina na forma de pó, diluiu-se o sal de AIB em talco inerte nas concentrações de 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg. Em seguida, as bases das estacas cortadas em bisel foram “meladas” no pó. Para a aplicação da auxina na forma líquida, primeiramente dissolveu-se o sal do AIB em 20mL de álcool etílico 96°GL e diluiu-se em água destilada para obter-se as mesmas concentrações descritas acima. Em seguida, mergulhou-se cerca de 2 cm das bases das estacas cortadas em bisel por 5 minutos nas soluções.



FIGURA 2. Novas brotações da cv. Verdinha (A) e estaca preparada com 15 cm de comprimento com suas folhas cortadas transversalmente ao meio (B). Fotos: Taciana Lima Salvador, 2010.

Tratamento das estacas com tiosulfato de prata (STS)

A solução de STS foi preparada conforme Faragher et al. (2002) misturando-se 6,8 mmoles de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 64,3 mmoles de nitrato de prata (AgNO_3) dissolvidos em 0,5L de água destilada para formar uma solução de 4mM de STS, e dissolvidos em 1,0L de água para formar uma solução de 2mM de STS. Na solução controle foi utilizada apenas água destilada. Estas soluções foram conservadas em frascos escuros na geladeira com temperatura entre 2 e 4°C. A aplicação do STS foi feita por pulverização das folhas das estacas até o ponto de escorrimento.

Condições de cultivo na estufa

Após tratadas, as estacas foram plantadas na profundidade de 4 cm em tubetes plásticos de 150 cm³ contendo o substrato comercial Bioplant® e mantidas em bancada suspensa dentro de uma estufa com nebulização intermitente constituída por uma linha de 3 nebulizadores Netafin® modelo Coolnet® com pressão de trabalho de 3 bar, impulsionados por uma bomba Ferrari (¾ CV) atingindo diâmetro de molhadura de 2,0 m. O funcionamento do sistema de nebulização era controlado por um temporizador regulado para funcionar por 10 minutos a cada intervalo de 20 minutos durante o dia e desligado à noite (FIGURA 3). A estufa de nebulização (24 m²) era constituída por uma câmara exposta ao sol coberta na sua parte superior por uma tela do tipo Sombrite® com 50% de sombreamento e lateralmente fechado com lona agrícola plástica transparente, com o intuito de manter a umidade relativa do ar no interior superior a 90%.



FIGURA 3. Distribuição das estacas em bancadas suspensas estabelecidas em tubetes de 150 cm³ na estufa com nebulização intermitente. Fotos: Taciana Lima Salvador, 2010.

Após 60 dias na estufa, foram avaliados a porcentagem de estacas enraizadas, o número de folhas remanescentes nas estacas, a porcentagem de estacas com calos nas bases, o número e o comprimento médio de raízes.

As estacas enraizadas foram transferidas para sacolas plásticas com capacidade de 500 cm³ contendo o substrato Bioplant® e aclimatadas em viveiro telado coberto com tela de 80% por uma semana e em seguida transferidas para telado com 50% de sombreamento onde completaram a aclimatização por cerca de 4 semanas.

Os dados experimentais foram submetidos a análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O programa estatístico usado foi ASSISTAT Versão 7.5 (SILVA e AZEVEDO, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

• Efeito do Tiosulfato de prata (STS)

A aplicação do STS (0 mM, 2 mM e 4 mM) às folhas das estacas de pinheira, independente da concentração do AIB ou do método de aplicação utilizados, não influenciou a porcentagem de enraizamento, calos, número de folhas remanescentes, número médio de raízes e comprimento médio de raízes (TABELA 1).

TABELA 1- Porcentagem de enraizamento, número de folhas remanescentes, porcentagem de calo, número e comprimento médio de raízes de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.) tratadas com diferentes concentrações de STS (0, 2 e 4mM). (Maceió-AL, 2010).

Variáveis analisadas					
Doses STS (mM)	Estacas enraizadas (%)	Número de folhas remanescentes	Estacas calejadas (%)	Número médio de raízes	Comprimento médio de raízes
0	74.43 a	2.54 a	83.34 a	4.65 a	5.24 a
2	73.34 a	2.63 a	76.67 a	3.61 a	5.82 a
4	80.01 a	2.20 a	84.44 a	4.90 a	5.05 a
Teste F	0.55 ^{ns}	2.48 ^{ns}	0.97 ^{ns}	2.54 ^{ns}	0.91 ^{ns}
CV%	34.64	31.69	28.6	53.49	42.99

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

ns – Não significativo.

As doses de STS aplicadas às folhas não influenciaram significativamente a porcentagem de enraizamento que variou entre 73 e 80% entre os diferentes tratamentos, nem o número de folhas mantidas nas estacas que em todas as doses, inclusive a testemunha sem STS, foi sempre superior a duas folhas por estaca (TABELA 1). Esses dois fenômenos podem estar associados, uma vez que a presença de folhas nas estacas é fundamental no processo de enraizamento por estar correlacionada com o aumento da translocação de carboidratos para a base da estaca (HAISSIG, 1984) ou pela produção de auxinas pelas folhas e seu transporte polar em direção à base (TCHOUNDJEU et al., 2002).

No caso da pinheira, uma espécie naturalmente decídua e muito sensível a ação do etileno, experiências com STS conduzidas por Lemos e Blake (1996) inibiram a ação do etileno e evitaram a abscisão foliar da cultura *in vitro*. No experimento aqui relatado, as estacas de todos os tratamentos mantiveram pelo menos duas das quatro folhas deixadas inicialmente o que parece ter sido suficiente para estimular o seu enraizamento. Assim, a redução no número de folhas de quatro para dois não parece ter afetado substancialmente a capacidade das folhas remanescentes em estimular a iniciação de raízes adventícias nas estacas de pinheira, e que o número inicial de quatro folhas seja acima do necessário para estimular o enraizamento.

Curiosamente, as estacas utilizadas nesse experimento não apresentaram um padrão de abscisão foliar suficientemente grande para inibir o enraizamento adventício, anulando assim o uso dos íons prata nas soluções de STS. O estresse a que foram submetidas durante o processo de corte e preparação não foi suficiente para induzir a produção mais acentuada do etileno e a consequente queda das folhas. É possível que a qualidade das estacas colhidas e os cuidados tomados no seu transporte, preparo e plantio tenham sido satisfatórios para igualar os tratamentos.

Ensaio com microestacas de pinheira realizados por Lemos e Blake (1996) mostraram que quando desfolhadas elas eram incapazes de produzir raízes adventícias independentemente da concentração de AIB utilizada e somente estacas enfolhadas apresentaram essa capacidade.

Em outras situações de maior estresse, o uso do STS foi de fundamental importância para reduzir os efeitos da ação de etileno pós-trauma em estacas de pinheira (LEMOS e BLAKE, 1996), citros (BAR et al., 1998) e ingá (SANTOS et al., 2007).

Fenômeno semelhante ocorreu com a produção de calos observada nas bases das estacas. Tais tecidos aparecem após o corte das estacas quando ocorre um lesionamento dos tecidos do câmbio e do floema, resultando em posterior formação de um tecido de cicatrização, constituído por uma massa de células parenquimatosas e desorganizadas em diferentes etapas de lignificação (FACHINELLO, 2005).

O número e o comprimento médio das raízes nas estacas enraizadas não foram influenciados pelas diferentes concentrações do STS aplicadas, mostrando que essas variáveis também devem estar associadas à manutenção de folhas nas estacas o que ficou demonstrado por Silva et al. (2007).

- **Efeito da concentração do ácido indolbutírico (AIB)**

O enraizamento de estacas de pinheira tem sido descrito como difícil por Bankar (1984) que obteve taxas de 26% quando utilizou concentrações entre 2500 e 3000 mg/kg de AIB na forma líquida e taxa de apenas 4% no controle sem AIB. Da mesma maneira, Marinho e Lemos (1996) apresentaram taxas máximas de 18,6% de enraizamento quando utilizaram a concentração de 2000 mg/kg de AIB. O trabalho aqui apresentado obteve valores muito superiores a estes, chegando a um mínimo de 70,36% no controle e 79,64% na concentração de 1000 mg/kg sem diferir estatisticamente entre si (TABELA 2).

TABELA 2- Porcentagem de enraizamento, número de folhas remanescentes, porcentagem de calo, número e comprimento médio de raízes de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.) tratadas com AIB nas concentrações de 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg. (Maceió-AL, 2010).

Variáveis analisadas					
Concentração AIB (mg/kg)	Estacas enraizadas (%)	Número de folhas remanescentes	Estacas calejadas (%)	Número médio de raízes	Comprimento médio de raízes
0	70,36 a	2.73 a	85,19 a	3,72 a	5.20 a
1000	79,64 a	2.18 a	64,81 a	5,80 a	4.92 a
2000	74,08 a	2.70 a	88,89 a	4,57 a	5.26 a
3000	77,79 a	2.19 a	92,60 a	3,72 a	5.41 a
4000	77,78 a	2.49 a	75,92 a	4.14 a	6.05 a
Teste F	0.36 ns	2.09 ns	4,15 ns	2.43 ns	0.60 ns
CV%	34.64	31.69	28.6	53.49	42.99

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Valores de enraizamento também elevados foram obtidos por Ferreira et al. (2008) com estacas de atemoieira (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) cv. 'Gefner' tratadas com 0,5% de AIB. Eles obtiveram cerca de 80% de enraizamento no tratamento controle, não diferindo das estacas tratadas com 0,5% do hormônio (96,67%). Santos (2010), trabalhando com estacas de graviola (*Annona muricata* L.), apresentou uma média de 81,66% de estacas enraizadas quando utilizou concentrações superiores a 2000 mg/kg de AIB.

Valores superiores a 70% de enraizamento são considerados comercialmente satisfatórios por Oliveira et al. (2003); Mindêllo Neto et al. (2006); Marinho et al. (2009); Santos (2010). Nesse experimento tais valores foram obtidos em todos os tratamentos não sendo possível, portanto, estabelecer diferenças estatísticas significativas entre as estacas controle e as estacas que receberam AIB (TABELA 2).

Scaloppi Júnior et al. (2003) afirmam que o sucesso no enraizamento de estacas em *Annonaceae* (*Annona glabra* L., *Annona montana* Macfad, *Rollinia emarginata* e *Rollinia mucosa* Baill.) é dependente da espécie e da época do ano, havendo assim, um período favorável à realização da estaquia. Os mesmos autores alegam que o momento ideal para enraizamento dessas espécies está no período posterior ao inverno e anterior ao início do outono, período este que coincidiu com o período do experimento aqui apresentado, o que pode ter sido um fator contribuinte para o sucesso do enraizamento das estacas de pinheira.

Nesse trabalho, a presença de calos não variou significativamente entre os tratamentos e deve ter sido induzida como resposta à cicatrização dos tecidos e não à aplicação da auxina AIB (TABELA 2).

O aparecimento de calos na base de estacas durante o processo de enraizamento é um fenômeno bem conhecido. Os calos podem surgir com ou sem a aplicação de auxinas como resposta das células do parênquima vizinhas ao tecido lesionado que no processo de cicatrização recuperam a atividade meristemática adormecida. Em algumas espécies o padrão de formação de raízes parece estar relacionado diretamente com a presença de calo na base das estacas, pois a desdiferenciação dos tecidos pode contribuir para uma posterior reorganização em um novo padrão radicular (HARTMANN et al., 2002).

O número e o comprimento médio de raízes das estacas também não foram influenciados pela aplicação exógena do AIB (TABELA 2). Esses dados divergem daqueles obtidos por Scaloppi Júnior (2007), quando observou que estacas jovens de araticum-mirim (*Rollinia emarginata*) apresentaram maior número de raízes (duas) e comprimento de raízes (1,7cm) quando receberam AIB na concentração de 100 mg/L. Da mesma maneira, a aplicação do AIB exógeno na concentração de 12,50 mM favoreceu um maior comprimento médio de raiz de Ingá - *Inga fagifolia* (L.) Willd. Ex Benth e de estacas jovens de araticum-mirim (*Rollinia emarginata*) (SANTOS et al., 2007).

As diferentes concentrações de AIB também não influenciaram o número de folhas remanescentes nas estacas variando de 2,18 a 2,73, o que corresponde a menos de duas folhas caídas por estaca (TABELA 2).

- **Efeito do método de aplicação (pó ou líquido) do ácido indolbutírico (AIB)**

O método de aplicação do AIB utilizado (pó ou líquido) influenciou significativamente a porcentagem de estacas enraizadas, o número médio de raízes e o comprimento médio de raízes das estacas enraizadas, mas não influenciou nem na formação de calos nem na manutenção das folhas (TABELA 3).

TABELA 3- Porcentagem de enraizamento, número de folhas remanescentes, porcentagem de calo, número e comprimento médio de raízes de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.) tratadas com diferentes formas de aplicação e concentrações de AIB: 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg/kg. (Maceió-AL, 2010).

Variáveis analisadas					
Forma de aplicação (AIB)	Estacas enraizadas (%)	Número Folhas remanescentes	Estacas calejadas (%)	Numero médio de raízes	Comprimento médio de raízes
Pó	85.92 a	2.48 a	85.92 a	5.25 a	6.09 a
Líquido	65.92 b	2.43 a	77.04 a	3.52 b	4.64 b
Teste F	13.01**	0.12 ^{ns}	3.27 ^{ns}	12.18**	8.86**
CV%	34.64	31.69	28.60	53.49	42.99

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

ns – Não significativo.

** – Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

O método de aplicação do AIB na forma de pó mostrou-se significativamente superior ao método por via líquida apresentando uma porcentagem de enraizamento das estacas de 86% contra 66%, independentemente da concentração do AIB utilizada (TABELA 3) (FIGURA 4). Resposta similar foi obtida por Bortolini et al. (2008) onde verificaram que o AIB aplicado na forma de pó se mostrou mais eficaz do que a aplicação líquida, sendo que a maior porcentagem de enraizamento foi encontrada para a concentração de 3000 mg/kg de AIB (32,50%) em estacas de quaresmeira (*Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., Melastomataceae) e Yamamoto et al. (2010), que

constatarem enraizamento superior em 16% das estacas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), tratadas com o hormônio via pó na concentração de 2000 mg/kg.

A maior eficiência da via sólida na aplicação do AIB para as estacas de pinheira pode estar relacionada a uma exposição mais longa e moderada do AIB sobre os tecidos-alvo, uma vez os cristais da auxina são insolúveis em água e, em contato com a base ferida da estaca, vão sendo dissolvidos somente à medida que as células reagem com ao produto.

Por outro lado, a exposição das estacas ao AIB durante 5 minutos por via líquida pode ter provocado um forte pulso de contato das células-alvo com a auxina acima da necessária à indução ao enraizamento e, conseqüentemente, alguma toxidez moderada aos tecidos. As auxinas têm sido relatadas como fundamentais apenas na primeira fase de indução ao enraizamento. A sua presença contínua sobre as células provoca inibição de raízes e estimula o aparecimento de calos de diversos tipos (HINOJOSA, 2005). Outra possibilidade também plausível para uma resposta inferior da indução de raízes em meio líquido é a possibilidade de toxicidade da solução aos tecidos da base da estaca em decorrência de no seu preparo terem sido adicionadas gotas de NaOH 1N + álcool 96° GL para facilitar a dissolução dos cristais de AIB em água.

De acordo com Fachinello et al. (2005), a exposição por um tempo mais prolongado em soluções concentradas podem ocasionar efeitos fitotóxicos, como a inibição do desenvolvimento das gemas, o amarelecimento e a queda de folhas e até mesmo a morte das estacas. Ainda, de acordo com o mesmo autor, o uso de AIB na forma de pó, mesmo em concentrações maiores, parece ser mais seguro e prático por não necessitar da adição de nenhum outro componente e evitar a morte de células da base das estacas.

Almeida et al. (2007) utilizando as mesmas duas formas de aplicação do AIB para o enraizamento de mini-estacas de eucalipto (*Eucalyptus cloeziana*), encontraram resultados semelhantes com superioridade para a forma em pó.

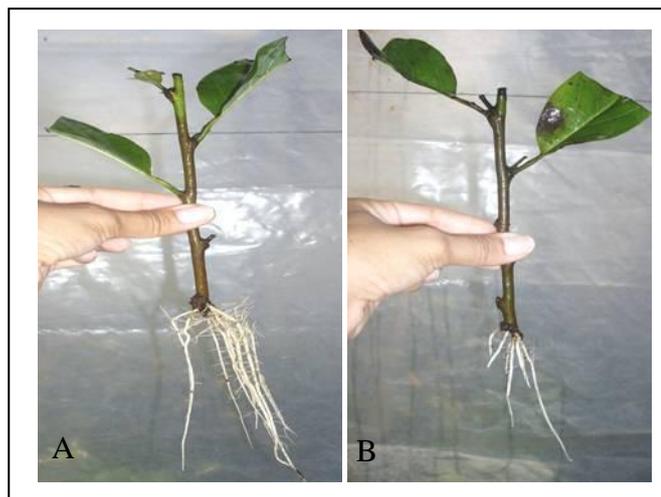


FIGURA 4. Estacas enraizadas de pinheira (*Annona squamosa* L.) tratadas com AIB na forma de pó (A) e AIB na forma líquida (B), após dez semanas. Fotos: Taciana Lima Salvador, 2010.

O número e o comprimento médio das raízes produzido pelas estacas foram significativamente influenciados pelo método de aplicação do AIB, independente da concentração utilizada (TABELA 3). Essas variáveis são importantes como balizadoras da qualidade das raízes e vigor das futuras mudas. Dessa forma, raízes maiores e em maior número em geral indicam melhor conexão com os vasos de xilema e floema e, conseqüentemente, melhor transporte de nutrientes minerais e orgânicos entre fonte e dreno (JESUS et al., 2006).

Avaliando a influência da forma de aplicação do AIB no comprimento de raízes de estacas de goiabeira 'Século XXI', Yamamoto et al., (2010) verificaram que as médias obtidas pela auxina na forma de pó (2,89 cm) foram significativamente superiores à forma líquida (0,20 cm) nas estacas tratadas com a concentração de 1000 mg/kg de AIB.

Tratando-se do número de raízes formadas, Bortolini et al. (2008), verificaram que as estacas de quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) tratadas com AIB na forma de pó, apresentaram um maior número de raízes (7,2 cm), mostrando-se superior a forma líquida.

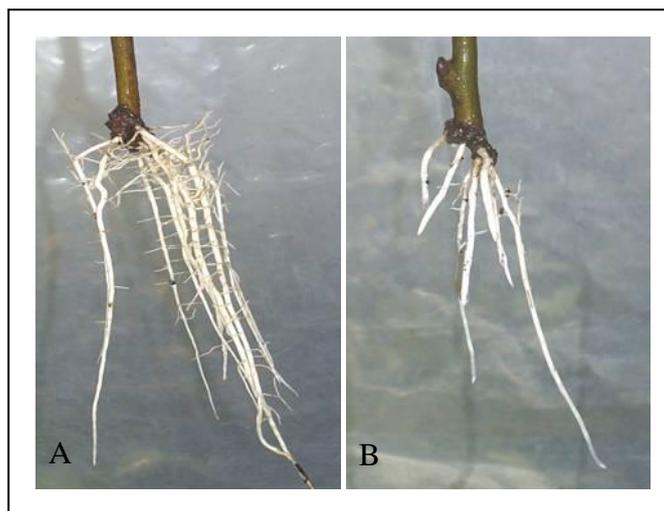


FIGURA 5. Presença de raízes em estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.) tratadas com: (A) AIB na forma de pó; (B) AIB na forma líquida após dez semanas. Fotos: Taciana Lima Salvador, 2010.

Zietemann e Roberto (2007) afirmam que a emissão de raízes em maior número e comprimento é fundamental quando o objetivo é a produção de mudas em escala comercial, visto que essas variáveis indicam mudas de melhor qualidade na constituição do pomar. Isso porque um sistema radicular bem formado aumenta o volume de solo a ser explorado, favorecendo a absorção de nutrientes e água, e proporciona um melhor desenvolvimento da muda quando levada a campo (FRACARO e PEREIRA, 2004; CARVALHO JUNIOR, 2009).

- **Análise das Interações**

A análise das interações entre a concentração de STS x concentração de AIB foi significativa somente para a variável porcentagem de calos formados, o que explica que os fatores foram dependentes. No desdobramento realizado da interação STS X AIB, verifica-se que houve diferença significativa ao nível de 5% e 1% para as concentrações de STS em relação às concentrações de 1000 mg/kg e 4000 mg/kg de AIB respectivamente. A manutenção das folhas, as quais fornecem quantidades de auxinas endógenas aos tecidos, associada às concentrações de AIB exógeno aplicado à base das estacas após o ferimento, pode ter estimulado a formação do calo (SILVA, 2007); o método de aplicação (AIB) x concentração (AIB) e a concentração (STS) x método de aplicação (AIB) x concentração (AIB), para o enraizamento, porcentagem de calo, número de folhas remanescentes, comprimento e número de raízes das estacas de

pinheira não apresentaram nenhuma diferença significativa segundo a análise de variância.

CONCLUSÃO

As concentrações de STS ou AIB utilizadas nesse trabalho não influenciaram o enraizamento das estacas de pinheira em nenhuma das variáveis estudadas, mostrando que o estabelecimento de um sistema de produção comercial de mudas de pinheira por estaquia depende muito mais da qualidade da estaca e do método de aplicação do AIB do que da sua concentração.

REFERÊNCIAS

ABELES, F. B.; MORGAN, P. W.; SALTIVEIT JR, M. E. **Ethylene in plant biology**. 2. ed. New York: Academic Press, 1992. 414 p.

ADDICOT, F. and WIATR, S.M. 1977. **Hormonal Controls of Abscission: Biochemical and Ultrastructural Aspects. Plant Growth Regulation**. New Cork, Springer – Verlag. p. 249-257.

ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A. DIAS, J. M. M.; PAIVA, H. N. **Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de Eucalyptus cloeziana F. Muell**. Revista Árvore vol.31, n.3, Viçosa, 2007.

BANKAR, G.J. **Vegetative propagation in annonas (Annona squamosa L.)**. Journal of Horticultural Science. Ashford, v. 18. n. 1-2. p . 10-13. 1984.

BAR, Y.; APELBAUM, A.; KAFKAFI, U.; GOREN, R. **Ethylene association with chloride stress incitrus plants**. Scientia Horticultura v. 73, p. 99-109. 1998.

BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, C.; KOEHLER, H. S.; CARPANEZZI, A. A.; DESCHAMPS, C.; OLIVEIRA, M. C.; BONA, C.; LISCHKA, J.; MAYER, S. **Tibouchina sellowiana (cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano**. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 159-171, abr.-jun. 2008.

CARVALHO JÚNIOR, W. G. O.; MELO, M. T. P.; MARTINS, E. R. **Comprimento da estaca no desenvolvimento de mudas de alecrim-pimenta**. Ciência Rural, Santa Maria v.39, n.7, out, 2009.

CASAS, M. H.; VICTÓRIA, S. M. A.; ZARATE, R. R. D. **Preliminary triais on sexual and assexual propagation of sousop (Annona muricata)**. Palmira, v. 4, p. 66-81, 1984.

DIAS, N. O.; SOUZA I. V. B.; SILVA, J. C. G.; SILVA, K. S.; BOMFIM, M. P.; ALVES, J. F.T.; REBOUÇAS, T. N. H.; VIANA, A. E. S.; SÃO JOSÉ, A.R. **Desempenho vegetativo e reprodutivo da pinheira (Annona squamosa L.) em função de diferentes comprimentos de ramos podados**. Revista Brasileira de Fruticultura., Jaboticabal - SP, v. 26, n. 3, p. 389-391, Dezembro 2004.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. 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.

FARAGHER, J.; SLATER, T.; JOYCE, D. WILLIAMSON, V. **Postharvest handling of Australian flowers – from Australian native plants and related species: a practical workbook**. Victoria: RIRDC, 2002. p. 215.

FERREIRA, G.; FERRARI, T. B.; PINHO, S.Z.; SAVAZAKI, E. T. **ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ATEMOIEIRA ‘GEFNER’ TRATADAS COM AUXINAS**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 4, p. 1083-1088, Dezembro 2008.

FRACARO, A. A.; PEREIRA, F. M. **Efeito do ethephon sobre a brotação e vigor dos ramos da videira 'Niágara Rosada' (Vitis labrusca L.)**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 399-402, 2004.

GETTYS, L.; DUKE, E.; COX, A. **Vegetative propagation of a native pawpaw - Asimina tetramera**. In: ANNUAL MEETING OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY, 108., 1995. Orlando. Proceedings. Orlando: 1995, p. 369-391.

HAISSIG, B. E. **Carbohydrate accumulation and partitioning in Pinus banksiana seedlings and seedling cuttings**. Physiologia Plantarum, v. 61. P.13-19, 1984.

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

HINOJOSA, G. F. Auxinas. In: CID, B.P.L., **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2005. p. 44-45.

JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; SOARES, A. M. **COMPARAÇÃO ENTRE SISTEMAS RADICULARES DE MUDAS DE Coffea arabica L. OBTIDAS POR ESTAQUIA E POR SEMENTES**. Coffee Science, Lavras, v. 1, n. 1, p. 14-20. 2006.

LEMOS, E. E. P.; BLAKE, J. **Control of leaf abscission in nodal cultures of Annona squamosa L**. Journal of Horticultural Science, Ashford, v. 71, n. 5, p. 721-728, 1996.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V.; **Propagação da goiabeira por miniestaquia.** Comunicação científica. Revista Brasileira de Fruticultura. vol.31 n.2, Jaboticabal, 2009.

MARINHO, G.A.; LEMOS, E.E.P.; SANTIAGO, A.D.; MOURA FILHO, G.; REZENDE, L.P. **Enraizamento de estacas de gravioleira (*Annona muricata* L.).** Ciência Agrícola, Rio Largo-AL, v.8, n.1, p.19-23, 2007.

MARINHO, A.G.; LEMOS, P.E.E. **Efeito da aplicação de auxinas no enraizamento de estacas adultas de pinha (*Annona squamosa* L.), graviola (*Annona muricata* L) e atemóia (*Annona cherimola* L. x *Annona squamosa* L.).** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, v.10, 1996. Fortaleza. Anais... Fortaleza-CE, UFC, p.134, 1996.

MATTOS, L. **Cultura da pinha gera emprego e renda.** 2007. Jornal A Tarde. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/noticias.asp?qact=view¬id=11054>>. Acesso em: 28 ago. 2010.

MENEZES, L. S.; CARDOSO, E. A.; PIRES, G. S.; AMARAL FILHO, J. 2002. **Efeito de substratos na produção de mudas de pinheira (*Annona squamosa* L) em bandejas de isopor.** In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 17°, 2002, Belém, Brasil, CD-Rom.

MINDÊLO NETO, U. R.; TELLES, C. A.; BIASI, L. A. **Enraizamento de estacas lenhosas de ameixeiras tratadas com ácido indolbutírico.** Ciência Rural v.36, n.2, Santa Maria, 2006.

OLIVEIRA, A. P.; NIENOW, A. A.; CALVET, E. O. **Capacidade de enraizamento de estacas semilenhosas e de cultivares de pessegueiro tratadas com AIB.** Revista Brasileira de Fruticultura, vol.25, n.2, Jaboticabal, 2003.

OLIVEIRA, Z.P.; QUEIROZ, M.F.; BARROS, P.G.; CAMPOS, R.S.; LEMOS, E.E.P.; SILVA NETO, J.P. **Recomendações técnicas para a cultura da pinha.** Maceió:SEAGRI-AL, 56p. 2005.

SAMPAIO, V.R. Propagação das frutíferas tropicais. In: DONADIO, L.C. (Ed). **Fruticultura tropical.** Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.233-245.

SANTOS, M. Q. C. Enraizamento de estacas de gravioleira (*Annona muricata* L.) cv. "Gigantes das Alagoas". 2010. 83f. Dissertação de Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, 2010.

SANTOS, C. M.; MARROQUIM, P. M. G.; ENDRES, L. **Propagação por estaquia lenhosa de *Inga fagifolia* (L.) Willd. Ex Benth. (Ingá)**. In: XI Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 2007, Gramado Brazilian Journal of plant Physiology, 2007. V. 19.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. **Clonagem de quatro espécies de *Annonaceae* potenciais como porta-enxertos**. Revista Brasileira de Fruticultura. vol.25, n.2, Jaboticabal, 2003.

SILVA, F. DE A. S.; AZEVEDO, C. A. V. **Programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows Versão 7.5 beta (2008)**. Disponível em <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 01 out. 2009.

SILVA, C.P. Enraizamento de estacas de aceroleira (*Malpighia glabra* L.) pinheira (*Annona squamosa* L.) e gravioleira (*Annona muricata* L.) tratadas com ácido indolbutírico e ácido naftalenoacético sob nebulização intermitente. 2003. 105f. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção) Ilha Solteira, UNESP/FEIS, 2003.

SILVA, M. O. C. C. B. Estaquia caulinar de *Ateleia glazioveana* Baillon, Leguminosae – Papilionoideae. 2007. 116f. Dissertação de Mestrado (Ciências Biológicas - Botânica). Universidade Federal do Paraná, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TCHOUNDJEU, Z. et al. **Vegetative propagation of *Prunus africana*: effects of rooting medium, auxin concentrations and leaf area**. Agroforestry Systems, v.54, p.183-192, 2002.

WRIGHT, M., OSBORNE, D.J. **Abscission in *Phaseolus vulgaris*. The positional differentiation and ethylene-induced expansion growth of specialized cells**. Planta: 120, 1974. p. 163-170.

YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, R. S.; SORACE, M.; RACHID, B. F.; RUAS, J. M. F.; SATO, O.; ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R. **Enraizamento de estacas de *Psidium guajava* L. 'Século XXI' tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco e álcool**. Ciência Rural, Santa Maria, v.40, n.5, p.1037-1042, mai, 2010.

ZIETEMANN, C.; ROBERTO, S.R. **Efeito de diferentes substratos e épocas de coleta no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira, cvs. paluma e século XXI.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.29, n.1, p.31-36, 2007.

CAPÍTULO 3

Estudo histológico da formação de raízes adventícias em estacas caulinares de pinheira (*Annona squamosa* L.) cv. Verdinha

RESUMO

A estaquia é o método de propagação vegetativa mais utilizado e um dos mais eficazes para clonagem de plantas. Estudos têm sido realizados em diversas espécies vegetais buscando respostas quanto às zonas preferenciais para o surgimento das raízes. Os tecidos cambiais e tecidos adjuntos aos vasos de floema são considerados as regiões alvo para a formação de centros meristemáticos onde os primórdios radiculares ocorrem. A estrutura anatômica da estaca pode interferir no processo de enraizamento de algumas espécies. As auxinas frequentemente são utilizadas como indutores do enraizamento adventício em estacas, porém, em muitas espécies, o surgimento das raízes parece estar mais associado às auxinas endógenas naturais produzidas pelas folhas e gemas da própria estaca do que pela aplicação exógena de auxinas sintéticas na base. No presente trabalho, avaliou-se anatomicamente o surgimento de raízes adventícias em estacas de pinheiras (*Annona squamosa* L.) tratadas ou não com a auxina sintética AIB. As estacas foram cortadas com 12 cm de comprimento e deixadas com quatro folhas cortadas à metade. O experimento foi conduzido em estufa com nebulização intermitente. As estacas foram avaliadas em 15, 20, 25, 30 e 35 dias após o tratamento, quando já era possível visualizar as raízes adventícias emergidas das bases das estacas. Cortes histológicos foram feitos na região da base da estaca para se observar a formação dos centros meristemáticos originadores das raízes adventícias. Os resultados mostraram que as raízes adventícias se iniciaram a partir dos calos originados nas bases das estacas em decorrência do corte das mesmas. As estacas analisadas apresentaram potencial para desenvolver calos e, destes, raízes adventícias mesmo sem a aplicação do AIB.

Palavras-chave: anatomia, anonácea, calos, enraizamento.

**Histological study of adventitious root formation in stem cuttings of sugar apple
(*Annona squamosa* L.) cv. Verdinha**

ABSTRACT

Stem cuttings is one of vegetative propagation methods most used and most effective for plant cloning. Several studies have been carried out in several plant species seeking for cells and tissues that are able to respond for rooting stimuli. Cambium tissues and adjuncts tissues to phloem vessels are considered target regions for the initiation of meristematic centers where the root primordia should occur. The anatomical structure of the cuttings may interfere with the rooting ability of some species. Auxins are often used as inducers of adventitious rooting in cuttings, but in many species, the emergence of roots appears to be associated much more with natural endogenous auxin produced by the leaves and buds of the cutting itself than by exogenous application of synthetic auxins at its base. In this work, cuttings of sugar apple (*Annona squamosa* L.) were evaluated anatomically for evidence of adventitious roots, in treatments with and without the synthetic auxin IBA. The stems were trimmed to 12 cm long and left with four leaves cut in half. The experiment was carried out in a greenhouse with intermittent mist. Cuttings were evaluated at 15, 20, 25, 30 and 35 days after planting and histological sections were collected from the base of the cuttings to see the formation of meristematic centers originators of adventitious roots. The results showed that the adventitious roots were initiated from callus tissues formed at the bases of the cuttings due to the injury. The cuttings evaluated showed high potential to develop calluses and, from these, adventitious roots even without the application of IBA.

Keywords: anatomy, Annonaceae, callus, rooting.

INTRODUÇÃO

O sucesso para o surgimento de raízes adventícias em estacas está relacionado aos cuidados especiais como o manuseio do material, o tratamento com reguladores de crescimento, a utilização de estufas com condições de manter altos níveis de umidade relativa do ar impedindo a desidratação das folhas e um substrato capaz de sustentar e aquecer a base das estacas, criando assim as melhores condições para a formação de um sistema radicular adventício funcional (PEIXE et al., 2007).

A importância do conhecimento da estrutura interna do caule da espécie utilizada na propagação por estaquia pode permitir revelar sucesso ou o insucesso do enraizamento que, em alguns casos, ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiciais (ONO e RODRIGUES, 1996).

Durante o processo de iniciação das raízes, quatro etapas de modificações morfológicas são observadas: a) desdiferenciação de algumas células adultas na base do corte; b) diferenciação dos primórdios de raízes próximas aos feixes vasculares; c) formação de primórdios radiculares e d) desenvolvimento dos primórdios e sua emergência, através do córtex e epiderme da casca, das raízes adventícias, acompanhadas de sua conexão com o sistema vascular da estaca (HARTMANN et al., 2002).

Quando a auxina é aplicada às plantas, o aumento de sua concentração produz um efeito estimulante na indução ao enraizamento até um ponto máximo, a partir do qual passa a ser inibitório, assim, a resposta da planta à auxina endógena ou exógena depende da natureza do tecido e da concentração da substância presente, sendo variável em raízes, caules e gemas (FACHINELLO et al., 2005).

Algumas mudanças morfológicas estão associadas à formação de raízes adventícias em estacas, como a formação ou não de um tecido caloso na base, o desenvolvimento do primórdio radicular e a emergência da raiz (THOMAS e SHIEFELBEIN, 2002).

Os aspectos anatômicos do enraizamento adventício em estacas compreendem a capacidade das células do parênquima de reiniciarem a função meristemática proporcionando a regeneração de tecidos e órgãos, através de sucessivas divisões e, posterior, diferenciação (ALVARENGA e CARVALHO, 1983).

O local da emissão dos primórdios radiculares é variável conforme a espécie e o tipo de estaca utilizada. Em estacas lenhosas, elas podem surgir a partir do xilema secundário, câmbio, floema, medula (FACHINELLO, 2005) ou periciclo (RAVEN et al., 2007). As raízes adventícias também podem ser formadas a partir dos calos presentes nas bases das estacas, embora a formação de calos e a formação de raízes sejam processos independentes, mas que deve ser considerado um fator importante, pois, em muitas espécies, as primeiras raízes surgem a partir do tecido caloso formado em suas bases (HARTMANN et al., 2002).

Estudos histológicos sobre os tecidos que estão envolvidos diretamente no processo de diferenciação das raízes adventícias, tem sido desenvolvidos por autores como Biricolti et al. (1994) e Rodriguez et al. (1988). No entanto, não há como apresentar uma conclusão generalizada sobre a formação das raízes em estacas lenhosas, pois cada espécie em estudo poderá apresentar comportamentos histológicos e bioquímicos distintos no processo de enraizamento, mas que poderá fornecer informações importantes para a sua compreensão (PEIXE et al., 2007).

Em pinheira, diversos autores afirmam o baixo percentual de enraizamento em estacas (CASAS et al., 1984; SAMPAIO, 1992; GETTYS et al., 1995; MARINHO e LEMOS, 1996; SILVA, 2008), porém, não se sabe se há barreiras anatômicas nessas estacas que possam impedir a emissão das raízes adventícias. Assim, estudos anatômicos nas bases de suas estacas, tratamentos específicos com a utilização de hormônios sintéticos e cuidados no manuseio durante a execução do experimento podem sugerir o provável sucesso na formação das raízes adventícias.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar anatomicamente as bases das estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.) tratadas ou não com AIB e postas para enraizar para identificar a origem dos seus primórdios radiculares.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de outubro de 2010 a dezembro de 2010, na estufa do Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas em Rio Largo-AL (9° 27' 57" S, 34° 50' 1" W e 127 m de altitude).

Cinquenta estacas semilenhosas foram obtidas de brotações vigorosas de pinheira da cv. Verdinha propagadas por enxertia, com quatro anos de idade, em uma propriedade rural localizada no Povoado Alto Vermelho, no município de Palmeira dos Índios- AL (9° 26' 22,4" S, 36° 41' 2,6" W e 295 m de altitude).

As estacas coletadas foram mantidas com quatro folhas cortadas transversalmente ao meio, e reduzidas ao comprimento de 12 cm com cortes transversais nas bases. Em seguida, as estacas foram mergulhadas em solução fungicida à base de tiofanato metílico (Cercobim 700 PM) na concentração de 4g/L por cinco minutos. Após o tratamento, renovou-se o corte em bisel na base de cada estaca com o auxílio de um estilete esterilizado.

Tratamento hormonal das estacas e condições de cultivo

Dois tratamentos foram aplicados às estacas: AIB na forma de pó na concentração de 2000 mg/kg e a testemunha, sem a adição do hormônio. Para a aplicação da auxina, diluiu-se o sal de AIB em talco inerte. Em seguida, as bases das estacas foram “meladas” no pó. As estacas do tratamento testemunha tiveram suas bases lavadas com água destilada.

Após tratadas, as estacas foram plantadas na profundidade de 4 cm em tubetes plásticos de 150 cm³ contendo substrato comercial Bioplant® e mantidas em bancada suspensa na câmara de nebulização intermitente (FIGURA 1). O funcionamento do sistema de nebulização era controlado por um temporizador regulado para funcionar por 10 minutos, a cada intervalo de 10 minutos, durante o dia e desligado à noite a fim de manter a umidade relativa do ar sempre próxima de 90%.



FIGURA 1 – Estacas de pinheiras tratadas com AIB na forma de pó e dispostas em tubetes de 150 cm³ em bancada suspensa. Fotos: Taciana Lima Salvador, 2010.

Seleção das estacas para análise histológica

Cinco estacas foram coletadas do experimento aos 15, 20, 25, 30 e 35 dias e tiveram os últimos 10 cm das bases removidos, lavados em água destilada e transferidas para frascos contendo álcool 70% (FIGURA 2 - A), e conservadas no período de um mês até a análise histológica.

Para a análise histológica, foram retiradas amostras dos últimos 2 cm das bases das estacas (FIGURA 2 - B) e levadas ao Laboratório de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade de Pernambuco (UPE). A observação do local de origem das raízes adventícias foi realizada por meio de secções anatômicas longitudinais em cinco estacas para cada tratamento dentro de cada tempo de coleta. O preparo de lâminas histológicas foi feito de acordo com a metodologia proposta por Ribeiro et al. (2011).

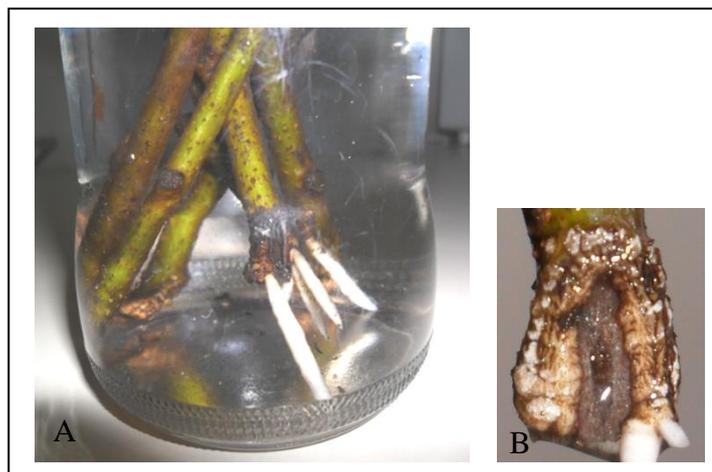


FIGURA 2 – Estacas de pinheiras com e sem raízes em frasco contendo álcool 70% (A); base da estaca selecionada para os cortes anatômicos (B). Fotos: Taciana Lima Salvador, 2011.

Metodologia para desidratação e diafanização

No processo de desidratação foi utilizado álcool em concentrações crescentes (70% - 100%) com o objetivo de extrair a água tecidos vegetais. No processo de diafanização, foi utilizado o xilol, retirando as impurezas do material e deixando os cortes translúcidos, prontos para receber a parafina.

Metodologia para infiltração (impregnação da parafina)

Após o processo de desidratação e diafanização, os materiais foram transferidos para o borel contendo parafina líquida pura e levados para estufa com temperatura de $\pm 65^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, repetindo o processo com a troca da parafina por mais 24 horas (FIGURA 3). Com este procedimento, a parafina penetra nos tecidos, dando-lhes, depois de solidificada, certa dureza, permitindo a obtenção de cortes finos a serem observados em microscópio.



FIGURA 3 - Bases das estacas de pinheiras imersas em parafina líquida. Foto: Taciana Lima Salvador, 2011.

Metodologia para inclusão

A inclusão foi feita através da passagem dos materiais que estavam na estufa para uma forma (Barra de Leucart) (FIGURA 4-A) onde receberam parafina líquida através do dispensador de parafina da marca Lupe, e transferidos para refrigeração abaixo de 0°C para serem resfriados mais rapidamente, solidificando a parafina e dando origem aos chamados “blocos de parafina” (FIGURA 4-B).

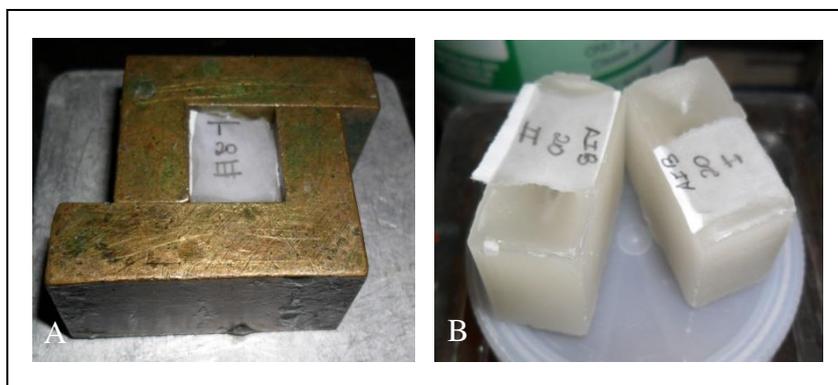


FIGURA 4 - Confeção dos blocos na Barra de Leucart (A); blocos prontos para serem cortados em micrótomo (B). Fotos: Taciana Lima Salvador, 2011.

Metodologia para os cortes em micrótomo

Cortes com espessuras de 7 μ m (0,007 mm) foram obtidos em micrótomo de rotação do tipo Leica RM 2125RT com navalha descartável (FIGURA 5). Posteriormente, os cortes foram distendidos em água previamente aquecida a $\pm 38^{\circ}\text{C}$ em banho-maria do tipo Lupe, e pescados sobre lâmina histológica.



FIGURA 5 - Micrótomo do tipo Leica RM 2125RT. Foto: Taciana Lima Salvador, 2011.

Metodologia para extensão dos cortes anatômicos

As lâminas com os cortes fixados foram transferidas para a placa aquecedora (Vertex DBII), para dissolução da pequena parafina restante nas placas e extensão do material (FIGURA 6).



FIGURA 6 - Lâminas histológicas colocadas em placa aquecedora (Vertex DBII) para a dissolução da parafina. Foto: Taciana Lima Salvador, 2011.

Metodologia para coloração

A coloração possui a finalidade de dar contraste aos componentes dos tecidos, tornando-os visíveis e destacados uns dos outros. Após o processo de extensão, o material vegetal foi preparado para receber a coloração em Azul de Astra e Safranina (IWAZAKI et al., 2006).

Os tecidos corados em azul (corante azul de Astra) são os que apresentam células com paredes celulares mais finas. Os tecidos cujas células apresentam paredes celulares mais espessas coram em vermelho (corante Safranina).

Feita a coloração, as lamínulas foram fixadas nas lâminas com resina sintética Entellan®. Este processo impede que haja a hidratação do material cortado pela umidade do ambiente, permitindo que estas permaneçam estáveis por tempo indefinido.

Após a fixação das lamínulas, as lâminas ficaram prontas para a visualização no microscópio óptico de marca Opton e fotografado por uma câmera digital do tipo CCD Samsung acoplada a ele.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independente do tratamento com a aplicação do AIB ou testemunha, todas as estacas de pinheira foram capazes de formar calos e dar origem as raízes adventícias, confirmando os resultados encontrados no capítulo 2 deste trabalho.

Os cortes histológicos longitudinais realizados nas bases das estacas de pinheira revelaram que as raízes adventícias surgem dos tecidos parenquimatosos do calo que se iniciam a partir da região do floema (FIGURA 7). O tecido caloso meristematicamente ativo é representado por diversas camadas de células com aparência parenquimática distribuídas em toda a extensão da estrutura do tecido. Na maioria dos casos, essas camadas celulares originam-se nas áreas floemáticas (PACHECO et al., 1998), o que foi verificado nas bases das estacas de pinheira (FIGURA 7).

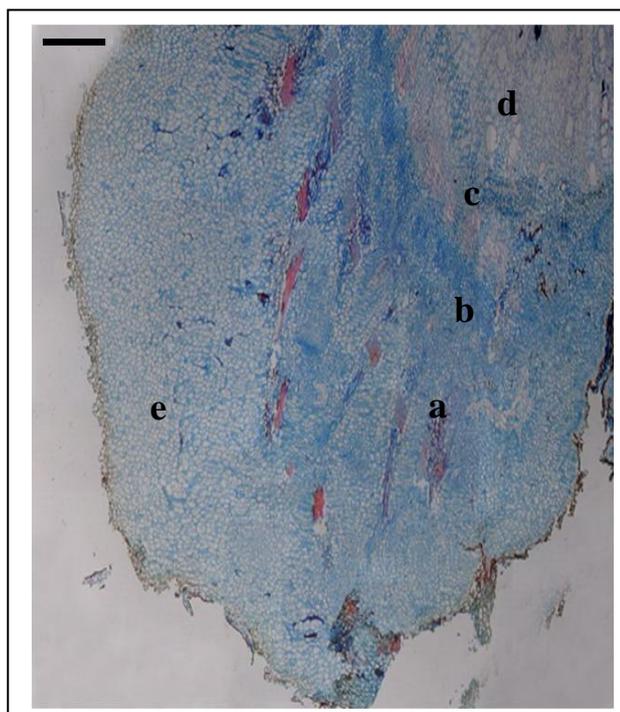


FIGURA 7 – Seção longitudinal da base de estacas caulinares de *Annona squamosa* L. aos 25 dias: (a) tecido parenquimático do calo; (b) floema secundário; (c, d) xilema secundário; (e) calo. Barra=200 μ m. Foto: Rejane M. M. Pimentel, 2011.

Segundo Hartmann et al. (2002), os tecidos responsáveis pelo surgimento das raízes adventícias parecem estar relacionados com a espécie e as técnicas de propagação utilizadas. Apesar do vegetal em si já apresentar a potencialidade para a formação de raízes, estudos mostram que há mudanças na capacidade de gerar raízes adventícias

(BOEGER et al., 2004) e esta capacidade pode variar de acordo com a idade da planta e a posição do ramo coletado (HARTMANN et al., 2002).

Aos 15 dias, as bases das estacas de pinheiras apresentavam uma massa de tecido parenquimático, típico de calo de cicatrização (FIGURA 8).

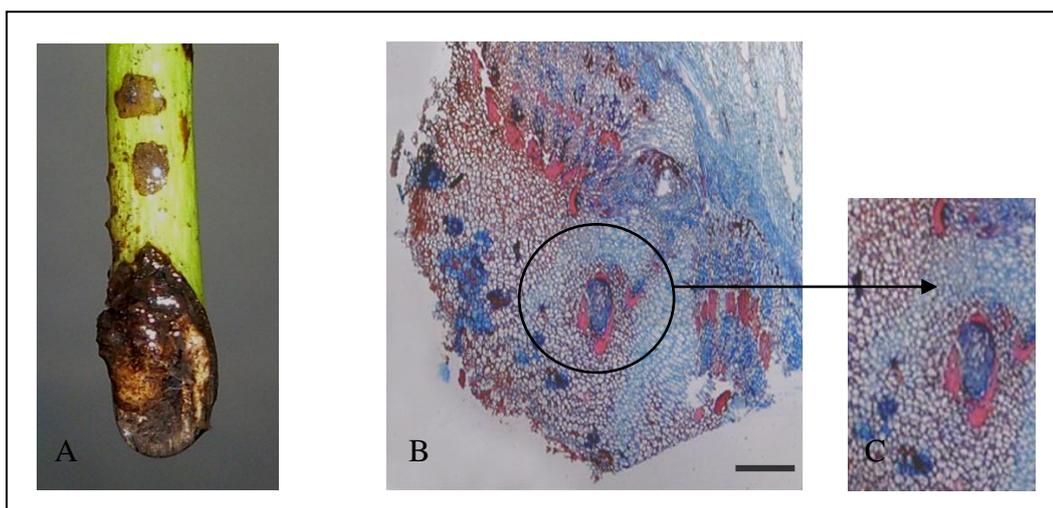


FIGURA 8 – Base de uma estaca de pinheira aos 15 dias (A). Seções longitudinais da base de estacas caulinares de *Annona squamosa* L (B). Detalhe da região do início do desenvolvimento do calo de cicatrização (C). Barra=200µm. Fotos: (A) Taciana Lima Salvador; (B,C) Rejane M. M. Pimentel, 2011.

Aos 20 dias, nota-se uma maior proliferação das células no local do corte em bisel das estacas (FIGURA 9), uma tendência esperada, já que as células vivas estão em constante diferenciação para suprir a lesão feita pelo corte.

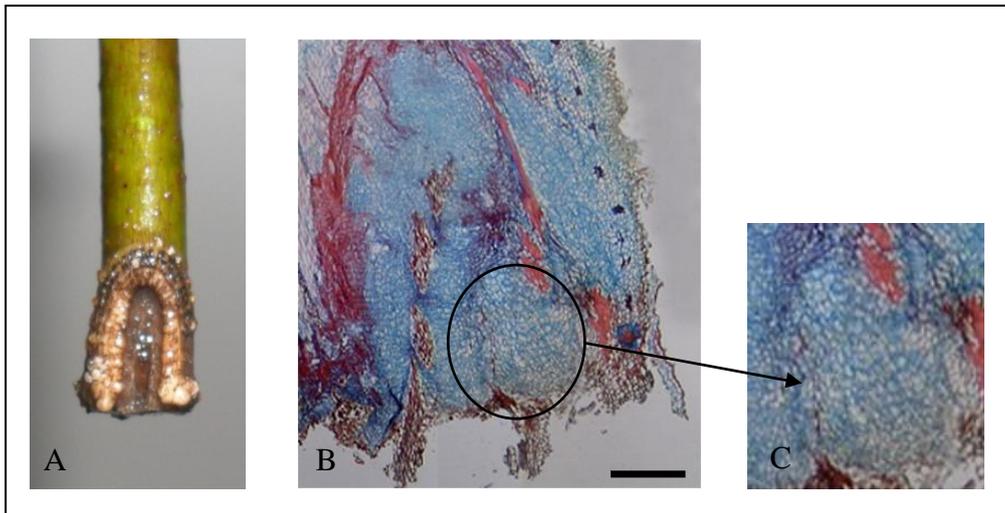


FIGURA 9- Estaca de pinheira aos 20 dias após plantio em substrato. Estrutura calosa em desenvolvimento em sua base (A); Seções longitudinais da base de estacas caulinares de *Annona squamosa* L. (B) e detalhe do corte anatômico (C). Barra=200 μ m. Fotos: (A) Taciana Lima Salvador; (B,C) Rejane M. M. Pimentel, 2011.

A presença de calos na base das estacas indica a possibilidade de estímulo natural de enraizamento, a qual pode ser potencializada, dependendo da espécie utilizada, com a utilização de fitorreguladores (SILVA et al., 2004). O mesmo autor, trabalhando com enraizamento de estacas herbáceas de nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindl), verificaram que as raízes se originaram das bases das estacas, na região calosa no local onde foi realizado o corte em bisel.

Aos 25 dias, as estacas coletadas para análise anatômica, já apresentavam raízes emergidas a partir dos calos nas bases das mesmas (FIGURA10).

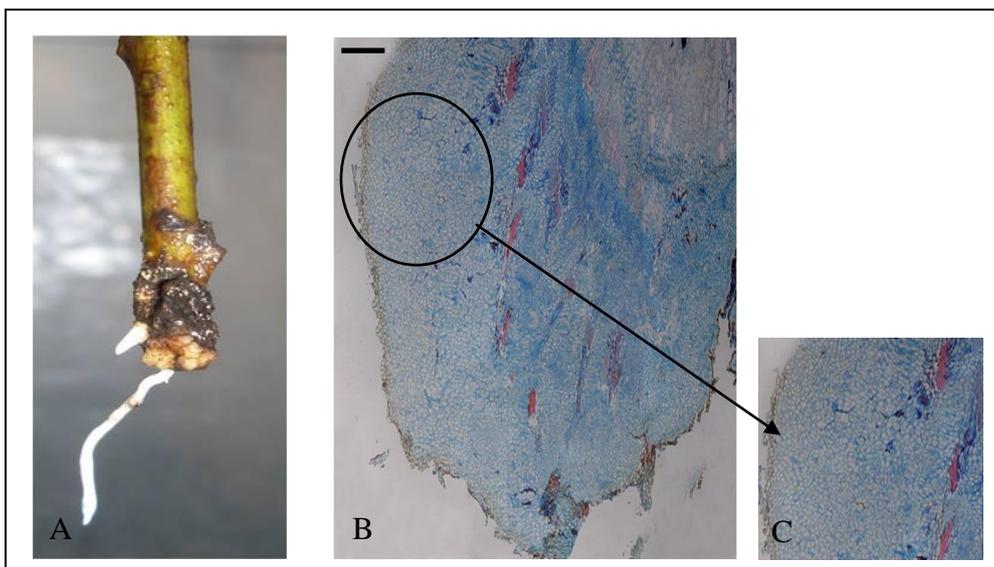


FIGURA 10- Estaca de pinheira aos 25 dias. Estrutura calosa bem desenvolvida e surgimento das raízes adventícias (A). Seção longitudinal da base de estacas caulinares de *Annona squamosa* L. (B). Detalhe do corte anatômico (C). Barra=200 μ m. Fotos: (A) Taciana Lima Salvador; (B,C) Rejane M. M. Pimentel, 2011.

Raízes formadas a partir de calos também foram encontradas por autores como Hamann (1998) e Ono et al. (1992) em ensaios realizados em *Coffea* Sp., e Pérez-Francés et al. (2001) em trabalhos desenvolvidos com *Leucadendron discolor*, que confirmam ser característica comum em espécies de difícil enraizamento.

Apesar da formação do calo habitualmente ser um processo independente da formação de raízes (HARTMANN et al., 2002), no trabalho realizado por Peixe et al. (2007) com estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.) verificou-se que a correlação entre os dois fatores mostrou dependência, ou seja, a formação do calo pareceu estar intimamente ligada a formação de raízes adventícias, isto porque, ocasionalmente, as raízes aparecem após a formação de calos por meio da diferenciação das células parenquimatosas formadas dele.

As estacas coletadas nos respectivos dias 30 e 35 apresentaram a mesma tendência: calos em desenvolvimento em suas bases e um acentuado surgimento e desenvolvimento de raízes adventícias nas bases a partir dos calos em formação (FIGURAS 11 e 12).

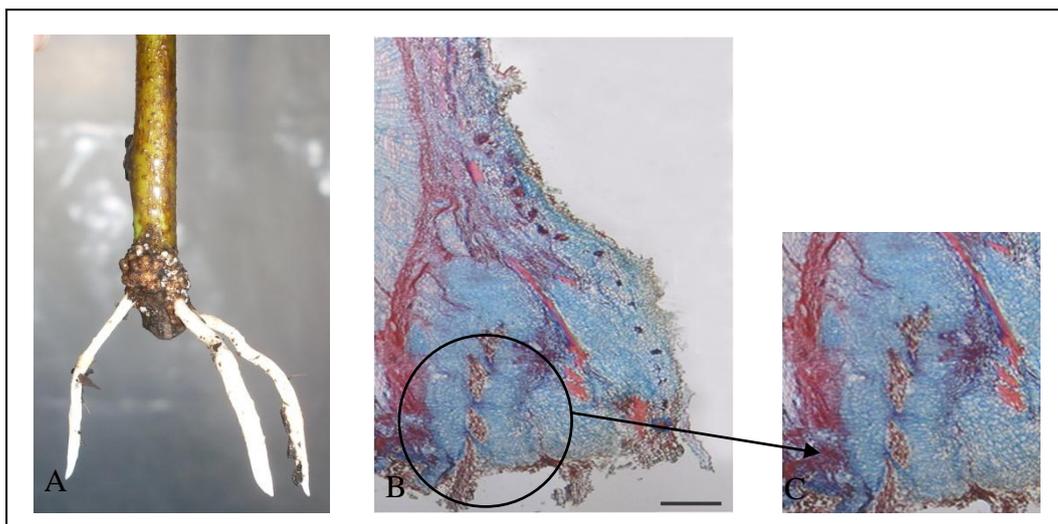


FIGURA 11- Estaca de pinheira aos 30 dias. Estrutura calosa bem desenvolvida e surgimento das raízes adventícias a partir dos calos de cicatrização (A). Seção longitudinal da base de estacas caulinares de *Annona squamosa* L. (B). Detalhe do corte anatômico (C). Barra=200 μ m. Fotos: (A) Taciana Lima Salvador; (B,C) Rejane M. M. Pimentel, 2011.

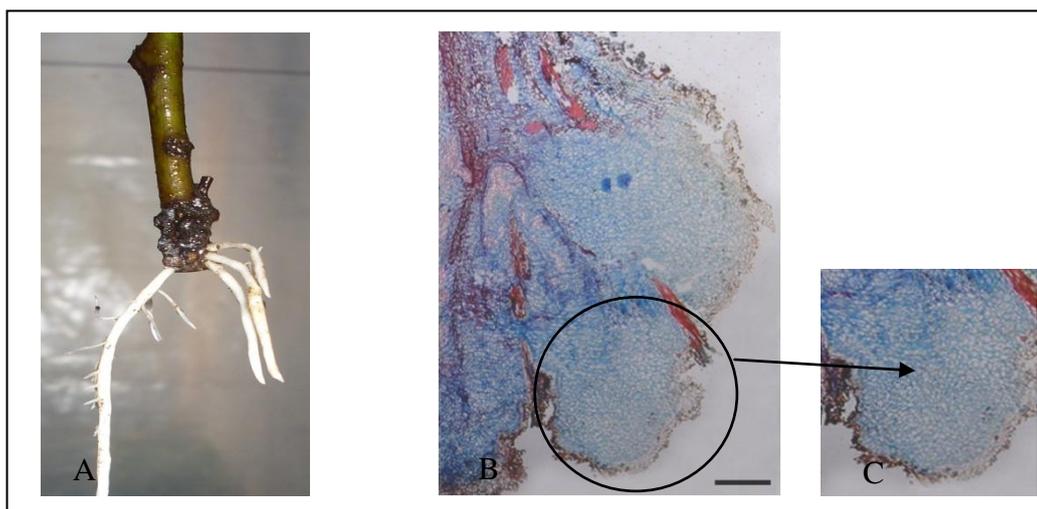


FIGURA 12- Estaca de pinheira aos 35 dias (A). Estrutura calosa bem desenvolvida e surgimento das raízes adventícias a partir dos calos de cicatrização (B). Seção longitudinal da base de estacas caulinares de *Annona squamosa* L. Detalhe do corte anatômico (C). Barra=200 μ m. Fotos: (A) Taciana Lima Salvador; (B,C) Rejane M. M. Pimentel, 2011.

Flygh et al. (1993) e Shwarz et al. (1999), trabalhando com estacas de *Acacia baileyana* e *Pinus sylvestris*, respectivamente, verificaram que os primórdios radiculares surgiram de calos adjacentes após conexão com o floema, associado à proliferação dos raios vasculares.

Ferriani et al. (2008), mostraram que estacas de vassourão branco (*P. Angustifolia*) formaram primórdios radiculares a partir dos calos nas bases e apresentaram evidências de uma conexão vascular posterior à sua formação.

CONCLUSÕES

As estacas caulinares de pinheira são capazes de formar calos e raízes, independentes de serem ou não tratadas com a auxina AIB.

A formação de raízes adventícias em pinheira ocorre de forma indireta sendo os seus primórdios iniciados dos calos cicatriciais formados nas bases das estacas, e tendo a sua conexão vascular ocorrido na sequência do seu crescimento.

Os primeiros sinais visíveis do surgimento exterior das raízes podem ser observados a partir de 25 dias após o plantio das estacas no substrato e aos 35 dias as raízes emersas, apresentam completa conexão vascular com o xilema e floema.

REFERÊNCIAS

ALVARENGA, L.R.; CARVALHO, V.D. **Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.9, n.101, p.47-55, maio. 1983.

BIRICOLTI, S. FABBRI, A. **Adventitious rooting in chestnut: Na anatomical investigation.** Scientia Horticulturae. Amsterdam, 197-205. 1994.

BOEGER, M.R.T.; ALQUINI, Y.; NEGRELLE, R.R.B. **Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases de desenvolvimento de guaco (*Mikania glomerata sprengel* – Asteraceae) e formação de raízes adventícias.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.6, n.2, p.1-6, 2004.

CASAS, M. H.; VICTÓRIA, S. M. A.; ZARATE, R. R. D. **Preliminary trials on sexual and asexual propagation of sousop (*Annona muricata*),** Palmira, v. 4, p. 66-81, 1984.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. 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.

FERRIANI, A. P.; MAYER, J. L. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; KOEHLER, H. S.; DESCHAMPS, C.; CARPANEZZI, A. A.; OLIVEIRA, M. C. **Estaquia e anatomia de Vassourão-branco.** Scientia Agraria, v.9, n.2, p.159-166, 2008.

FLYGH, G.; GRIJNROOS, R.; GULIN, L.; ARNOLD, S. V. **Early and late root formation in epicotyl cuttings of *Pinus sylvestris* after auxin treatment.** Tree Physiology 12,s 1-92, 1993 Heron PuhlishinR-Victoria, Canada.

GETTYS, L.; DUKE, E.; COX, A. **Vegetative propagation of a native pawpaw - *Asimina tetramera*.** In: ANNUAL MEETING OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY, 108., 1995. Orlando. Proceedings. Orlando: 1995, p. 369-391.

HAMANN, A. **Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation.** Trees, 175-180. 1998.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880p.
 IWAZAKI, M. C.; SOUZA, L. A.; OLIVEIRA, J. H. G.; **Morfo-anatomia comparativa da flor de *Peperomia dahlstedtii* C. DC., *Ottonia martiana* Miq. e *Piper gaudichaudianum* Kunth (Piperaceae)**. Hoehnea. V. 33; P. 545-558. 2006.

MARINHO, A.G.; LEMOS, P.E.E. **Efeito da aplicação de auxinas no enraizamento de estacas adultas de pinha (*Annona squamosa* L.), graviola (*Annona muricata* L) e atemóia (*Annona cherimola* L. x *Annona squamosa* L.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, v.10, 1996. Fortaleza. Anais... Fortaleza-CE, UFC, p.134, 1996.

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

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S.Z. **Interações entre auxinas e ácido bórico, no enraizamento de estacas caulinares de *Coffea arabica* L. CV. Mundo Novo**. Scientia Agrícola, Piracicaba – SP, vol. 49, p. 23-27, 1992.

PACHECO, A.C.; CASTRO, P.R.C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. **Aspectos anatômicos do enraizamento da videira muscadínia (*Vitis rotundifolia* Michx.) através de alporquia**. Sci. agric. vol. 55 n. 2, Piracicaba Mai/Ago. 1998.

PEIXE, A., SERRAS, M., CAMPOS, C. **Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.)**. Revista de Ciências Agrárias, jan. 2007, nº1, vol.30.

PERÉZ-FRANCÉS, J.F.; MELIÁN-CAPOTE, M.N.; MARTIN-PERÉZ, R.; RODRIGUEZ-PERÉZ, J.A. **An anatomical study of adventitious root development in wounded cuttings of *Leucadendron discolor* and *Leucadendron* “Safari Sunset” (Proteaceae)**. Acta Horticulturae p. 191-194. 2001.

RAVEN P. H.; EVERT R. F.; EICHHORN S. E. **Biologia Vegetal**. 7th ed. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2007.

RIBEIRO, A. L. T.; COSTA, A. C.; DENADAI, C. R.; FONSECA, E. M. A.; PEGHIM, F.; PENTINO, J. A.; RODRIGUES, L. A.; ANTONINI, P. M.; CARVALHO, P. M.; MAZZI, V. C. **PREPARO DE LÂMINAS HISTOLÓGICAS**. Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos Disponível em: <www.cdcc.sc.usp.br/ciencia/artigos/art.../Aprendendo_laminas.doc>. Acesso em: 10 mai. 2011.

RODRIGUEZ, A.; ALBUERNE, M. **Rooting ability of *Corylus avellana* L.: Macromorphological and histological study.** *Scientia Horticulturae*. v.35, p. 131-142. 1988.

SAMPAIO, V.R. Propagação das frutíferas tropicais. In: DONADIO, L.C. (Ed). **Fruticultura tropical.** Jaboticabal: FUNEP, p.233-245. 1992.

SCHWARZ, J. L.; GLOCKE, P. L. SEDGLEY, M. 1999. **Adventitious root formation** In: *Acacia baileyana* F. Muell. *Jornal of Horticultural Science e Biotechnology*. v.74, p.561-565.1999.

SILVA, C. P. Enraizamento de estacas de pinheira (*Annona squamosa* L.), gravioleira (*Annona muricata* L.) e atemoeira (*Annona squamosa* L. x *Annona cherimola* L.) tratadas com ácido indolbutírico (iba), ácido naftalenoacético (naa) e bioestimulante. 2008. 154f. Tese Doutorado (Horticultura). Faculdade de ciências agronomicas. Universidade estadual paulista “júlio de mesquita filho”. 2008.

SILVA, J. A. A.; PEREIRA, F. M.; **ENRAIZAMENTO DE ESTACAS HERBÁCEAS DE NESPEREIRA (*Eriobotrya japonica* Lindl). COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA.** *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 2, p. 369-371, 2004.

THOMAS, P.; SCHIEFELBEIN, J.; **Cloning and characterization of na actin depolymerizing factor gene from grape (*Vitis vinifera* L.) expressed during rooting in stem cuttings.** *Plant Science.*, vol. 162, n^o2, p. 283-288. 2002.

APÊNDICES

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - Análise de variância da porcentagem de enraizamento de estacas de pinheira tratadas com diferentes concentrações de STS, AIB e Formas de aplicação (FA) do AIB.

Fonte de Variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	Significância
STS	2	767.53622	383.76811	0.5547	--
FA	1	9000.00000	9000.00000	13.0097	**
AIB	4	991.23933	247.80983	0.3582	--
STS x FA	2	965.26067	482.63033	0.6977	Ns
STS x AIB	8	2568.76933	321.09617	0.4642	Ns
FA x AIB	4	3654.93889	913.73472	1.3208	Ns
STS x FA x AIB	8	2866.10044	358.26256	0.5179	Ns
Resíduo	60	41507.44000	691.79067		
CV (%)	34,64				

-- Os tratamentos são quantitativos. O Teste F não se aplica.

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$).

ns não significativo ($p \geq .05$).

TABELA 2 - Análise de variância do número de folhas remanescentes das estacas de pinheira tratadas com diferentes concentrações de STS, AIB e Formas de aplicação (FA) do AIB.

Fonte de Variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	Significância
STS	2	3.01867	1.50933	2.4820	--
FA	1	0.07511	0.07511	0.1235	Ns
AIB	4	5.10378	1.27594	2.0982	--
STS x FA	2	1.13156	0.56578	0.9304	Ns
STS x AIB	8	6.93356	0.86669	1.4252	Ns
FA x AIB	4	5.25489	1.31372	2.1603	Ns
STS x FA x AIB	8	5.13178	0.64147	1.0549	Ns
Resíduo	60	36.48667	0.60811		
CV (%)	31,69				

-- Os tratamentos são quantitativos. O Teste F não se aplica.

ns não significativo ($p \geq .05$).

TABELA 3 - Análise de variância da porcentagem de calos formados nas estacas de pinheira tratadas com diferentes concentrações de STS, AIB e Forma de aplicação (FA) do AIB.

Fonte de Variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	Significância
STS	2	1060.718	530.35900	0.9762	--
FA	1	1776.889	1776.8890	3.2707	Ns
AIB	4	9020.249	2255.0622	4.1509	--
STS x FA	2	1407.926	703.96300	1.2958	Ns
STS x AIB	8	11294.349	1411.7937	2.5987	*
FA x AIB	4	3531.50711	882.87678	1.6251	Ns
STS x FA x AIB	8	6249.60622	781.20078	1.4380	Ns
Resíduo	60	32596.3200	1184.18086		
CV (%)	28,61				

-- Os tratamentos são quantitativos. O Teste F não se aplica.

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < .01$).

ns não significativo ($p \geq .05$).

TABELA 4 - Análise de variância com desdobramento da interação Forma de aplicação (FA) X AIB, para estudar o comportamento da formação dos calos nas estacas de pinheira.

Fonte de Variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	Significância
STS dentro do AIB (0 mg/kg)	2	495.80444	247.9022	0.456	ns
STS dentro do AIB (1000 mg/kg)	2	5314.3244	2657.1622	4.891	*
STS dentro do AIB (2000 mg/kg)	2	370.7411	185.3705	0.341	ns
STS dentro do AIB (3000 mg/kg)	2	123.2100	61.6050	0.113	ns
STS dentro do AIB (4000 mg/kg)	2	6050.9877	3025.4938	5.569	**
Resíduo	60	32596.3200	543.2720		
CV (%)	28,61				

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$).

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < .01$).

ns não significativo ($p \geq .05$).

TABELA 5 - Análise de variância para o número médio de raízes das estacas de pinheira tratadas com diferentes concentrações de STS, AIB e Forma de aplicação (FA) do AIB.

Fonte de Variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	Significância
STS	2	28.11898	14.05949	2.5483	--
FA	1	67.20192	67.20192	12.1804	**
AIB	4	53.69640	13.42410	2.4331	--
STS x FA	2	13.21751	6.60875	1.1978	ns
STS x AIB	8	23.21712	2.90214	0.5260	ns
FA x AIB	4	55.57568	13.89392	2.5183	ns
STS x FA x AIB	8	24.91437	3.11430	0.5645	ns
Resíduo	60	331.03327	5.51722		
CV (%)	31,69				

-- Os tratamentos são quantitativos. O Teste F não se aplica.

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$).

ns não significativo ($p \geq .05$).

TABELA 6 - Análise de variância do comprimento médio de raízes das estacas de pinheira tratadas com diferentes concentrações de STS, AIB e Forma de aplicação (FA) do AIB.

Fonte de Variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	Significância
STS	2	9.71822	4.85911	0.9117	--
FA	1	47.23378	47.23378	8.8626	**
AIB	4	12.85511	3.21378	0.6030	--
STS x FA	2	10.25156	5.12578	0.9618	ns
STS x AIB	8	80.43289	10.05411	1.8865	ns
FA x AIB	4	51.18844	12.79711	2.4012	ns
STS x FA x AIB	8	20.43956	2.55494	0.4794	ns
Resíduo	60	319.77333	5.32956		
CV (%)	31,69				

-- Os tratamentos são quantitativos. O Teste F não se aplica.

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$).

ns não significativo ($p \geq .05$).

CAPÍTULO 3

Metodologia para desidratação e diafanização

Sequência de tempos utilizados no processo de desidratação e diafanização do material:

- Álcool 80% (30 minutos)
- Álcool 90% (30 minutos)
- Álcool 100% (30 minutos)
- Álcool 100% (30 minutos)
- Xilol 3:1 (30 minutos)
- Xilol 1:1 (30 minutos)
- Xilol 1:3 (30 minutos)
- Xilol puro (30 minutos)
- Xilol puro (30 minutos)

Metodologia para coloração

Sequência de tempos utilizados no processo de coloração do material:

- Xilol I (5 minutos)
- Xilol II (5 minutos)
- Álcool Absoluto I (5 minutos)
- Álcool Absoluto II (5 minutos)
- Álcool 90% (5 minutos)
- Álcool 70% (5 minutos)
- Água (5 minutos)
- Safranina + Azul de Astra (10 minutos)
- Álcool 70% (5 minutos)
- Álcool 90% (5 minutos)
- Álcool Absoluto I (5 minutos)

- Álcool Absoluto II (5 minutos)
- Xilol I (5 minutos)
- Xilol II (5 minutos)

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE FRUTICULTURA

INSTRUÇÕES PARA AUTORES

1. A Revista Brasileira de Fruticultura (RBF) destina-se à publicação de artigos e comunicações técnico-científicos na área da fruticultura, referentes a resultados de pesquisas originais e inéditas, redigidas em português, espanhol ou inglês e/ou 1 ou 2 revisões por número, de autores convidados.
2. É imperativo que todos os autores assinem o ofício de encaminhamento, mencionando que: “OS AUTORES DECLARAM QUE O REFERIDO TRABALHO NÃO FOI PUBLICADO ANTERIORMENTE, OU ENCAMINHADO PARA PUBLICAÇÃO A OUTRA REVISTA E CONCORDAM COM A SUBMISSÃO E TRANSFERÊNCIA DOS DIREITOS DE PUBLICAÇÃO DO REFERIDO ARTIGO PARA A RBF.” Trabalhos submetidos como artigo não serão julgados ou publicados na forma de Comunicação Científica, e vice-versa.
3. A RBF só aceitará trabalhos com no máximo cinco autores.
4. Os trabalhos (*on line*) devem ser encaminhados em 1 via (uma via completa com o nome do(s) autor(es) sem abreviações e notas de rodapé para nosso arquivo), e as submissões no papel devem ser enviadas em 4 vias, sendo uma completa (nomes sem abreviações e notas de rodapé) e 3 vias sem nomes dos autores e notas de rodapé; Em papel tamanho A4 (210 x 297mm), numerando linhas e páginas, margens de 2 cm, em espaço entre linhas de um e meio, fonte Times New Roman, no tamanho 13 e impressos em uma única face do papel. O texto deve ser escrito corrido, separando apenas os itens como Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos e Referências, as Tabelas e Figuras em folhas separadas, no final do artigo após as Referências.
5. O Custo para publicação para Artigo ou Comunicação é de R\$ 250,00 por trabalho de até 12 ou 8 páginas respectivamente, será cobrado R\$ 50,00 por página adicional, ou seja, trabalhos submetidos (no formato Word) que excederem ao limite de 12 páginas para Artigo e 8 páginas para Comunicação Científica (incluso tabelas e figuras), este valor será calculado no aceite do trabalho.

TAXA DE PUBLICAÇÃO:

- a. No encaminhamento inicial, efetuar o pagamento de R\$ 100,00, e com a aprovação do trabalho, o restante da taxa, incluindo páginas adicionais se for o caso;
- b. R\$ 150,00 para sócios (PRIMEIRO AUTOR DEVERÁ SER SÓCIO);
- c. R\$ 300,00 para não sócios;
- d. DEPÓSITO no Banco do Brasil, agência nº 0269-0 e Conta-Corrente nº 8356-9 (enviar cópia do comprovante juntamente com o trabalho submetido no papel ou para

submissões *on line* anexar por e-mail, ou encaminhar como documento suplementar);
OBS: Para trabalhos denegados ou encerrados, não será devolvido o pagamento inicial.

6. Para as submissões impressas, os trabalhos devem ser encaminhados para o Editor-chefe da RBF, Prof. Carlos Ruggiero/ REVISTA BRASILEIRA DE FRUTICULTURA; endereço: Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n – Unesp/FCAV - CEP 14884-900 – Jaboticabal-SP.

1. e-mail para dúvidas e contato: rbf@fcav.unesp.br ;

1. = Instruções das submissões **on line**, acessar a home Page: <http://www.rbf.org.br/>, item RBF **on line** (clique aqui), abrirá um link com todas as instruções pertinentes aos autores.

* Sistema ScIELO de Publicação: <http://submission.scielo.org/index.php/rbf/index> (home page).

7. Uma vez publicados, os trabalhos poderão ser transcritos, parciais ou totalmente, mediante citação da RBF, do(s) autor (es) e do volume, número, paginação e ano. As opiniões e conceitos emitidos nos artigos são de exclusiva responsabilidade do(s) autor (es).

8. Os artigos deverão ser organizados em Título, Nomes dos Autores COMPLETOS (sem abreviações e separados por vírgula, e no caso de dois autores, separadas por &), e no Rodapé da primeira página deverão constar a qualificação profissional de cada autor, cargo seguido da Instituição pertencente, endereço (opcional), E-MAIL DE TODOS OS AUTORES (imprescindível) e menções de suporte financeiro; Resumo (incluindo Termos para Indexação), Title, Abstract (incluindo Index Terms), Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos (opcional), Referências, Tabelas e Figuras (vide normas para tabelas e figuras). O trabalho deve ser submetido à correção de Português e Inglês, por profissionais habilitados, antes de ser encaminhado à RBF.

9. As Comunicações Científicas deverão ter estrutura mais simples com 8 páginas, texto corrido, sem destacar os itens (Introdução, Material, Resultados e Conclusões), exceto Referências.

10. As Legendas das Figuras e Tabelas deverão ser autoexplicativas e concisas. As Figuras coloridas terão um custo adicional de R\$ 400,00 em folhas que as contenham (por página). As legendas, símbolos, equações, tabelas, etc. deverão ter tamanho que permita perfeita legibilidade, mesmo numa redução de 50% na impressão final da revista; a chave das convenções adotadas deverá ser incluída na área da Figura; a colocação de título na Figura deverá ser evitada, se este puder fazer parte da legenda; as fotografias deverão ser de boa qualidade.

11. Nas Tabelas, devem-se evitar as linhas verticais e usar horizontais, apenas para a separação do cabeçalho e final das mesmas, evitando o uso de linhas duplas.

12. Apenas a VERSÃO FINAL do trabalho deve ser acompanhada por cópia em CD (para submissões impressas), usando-se preferencialmente os programas Word for

Windows (texto) e Excel (gráficos), as figuras, gráficos e fotos deverão ser gravadas em arquivos separados no formato JPG (vide normas de tabelas e figuras abaixo).

13. As Citações de autores no texto deverão ser feitas com **letras minúsculas, quando fora dos parênteses; e separadas por "e", quando dois autores, e se dentro dos parênteses as citações devem ser em letras maiúsculas separadas por ponto e vírgula; quando mais de dois autores, citar o primeiro seguido de “et al.” (não use “itálico”).**

REFERÊNCIAS:

NORMAS PARA REFERENCIA (ABNT NRB 6023, Ago. 2002)

As referências no fim do texto deverão ser apresentadas em ordem alfabética nos seguintes formatos:

ARTIGO DE PERIÓDICO

AUTOR (es). Título do artigo. Título do periódico, local de publicação, v., n., p., ano.

ARTIGO DE PERIÓDICO EM MEIO ELETRONICO

AUTOR(es). Título do artigo. Título do Periódico, cidade, v., n., p., ano. Disponível em:<endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). Ano.

AUTOR(es). Título do artigo. Título do Periódico, local de publicação, v., n. p., ano. CD-ROM.

LIVRO

AUTOR(es). Título: subtítulo. edição (abreviada). Local: Editora, ano. p. (total ou parcial).

CAPÍTULO DE LIVRO

AUTOR. Título do capítulo. In: AUTOR do livro. Título: subtítulo. Edição (abreviada). Local: Editora, ano. páginas do capítulo.

LIVRO EM MEIO ELETRÔNICO

AUTOR(es). Título. Edição (abreviada). Local: Editora, ano. p. (total ou parcial). Disponível em<endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). Ano.

AUTOR (es). Título. edição(abreviada). Local: Editora, ano. p. CD-ROM.

EVENTOS

AUTOR.Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização. Título... Local de publicação: editora, ano de publicação. p.

EVENTOS EM MEIO ELETRÔNICO

AUTOR. Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização. Título...Local de publicação: Editora, data de publicação. Disponível em: <endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano.

AUTOR. Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização. Título...Local de publicação: Editora, ano de publicação. CD-ROM.

DISSERTAÇÃO, TESES E TRABALHOS DE GRADUAÇÃO

AUTOR. Título. ano. Número de folhas ou volumes. Categoria da Tese (Grau e área de concentração)- Nome da faculdade, Universidade, ano.

14. NORMAS PARA TABELAS E FIGURAS:

TABELA - Microsoft Word 97 ou versão superior; Fonte: Times New Roman, tamanho 12; Parágrafo/Espaçamento simples; Largura da tabela em 10 ou 20,6 cm; título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

GRÁFICO - Microsoft Excel/ Word 97 ou versão superior; Fonte: Times New Roman, tamanho 12; Parágrafo/Espaçamento simples; Largura da em 10 ou 20,6 cm; **Além de constar no FINAL do ARTIGO, o arquivo do gráfico deverá ser enviado separadamente, como imagem (na extensão jpg, tif ou gif com 300 dpi de resolução)**. No caso de uma figura com 2,4,6 ou mais gráficos/figuras, estes deverão ser enviados em um único arquivo de preferência gravados em JPG. O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

FOTOS - Todas as fotos deverão estar com 300 dpi de resolução em arquivo na extensão: jpg, jpeg, tif ou gif; Além de estarem no corpo do trabalho, as fotos devem estar em arquivos separados; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.

FIGURAS OU IMAGENS GERADAS POR OUTROS PROGRAMAS – As imagens geradas por outros programas que não sejam do pacote Office Microsoft, devem estar com 300 dpi na extensão: jpg, tif ou gif; Largura de 10 ou 20,6 cm; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word.