

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA TROPICAL

ARTHUR ANTUNES DE SOUZA CARDOSO



ESTUDOS DE GERMINAÇÃO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE  
SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

MANAUS

2016

ARTHUR ANTUNES DE SOUZA CARDOSO

ESTUDOS DE GERMINAÇÃO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE  
SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

ORIENTADORA: MARIA TERESA GOMES LOPES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

MANAUS

2016

## FICHA CATALOGRAFICA

C268e      Cardoso, Arthur Antunes de Souza  
ESTUDOS DE GERMINAÇÃO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA  
DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.) / Arthur Antunes de  
Souza Cardoso. 2016  
74 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: MARIA TERESA GOMES LOPES  
Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal  
do Amazonas.

1. Oleaginosa. 2. germinação in vitro. 3. estaquia. 4. reguladores  
de crescimento. I. LOPES, MARIA TERESA GOMES II.  
Universidade Federal do Amazonas III. Título

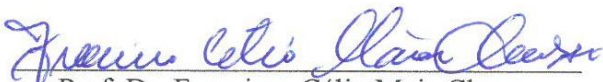
ARTHUR ANTUNES DE SOUZA CARDOSO

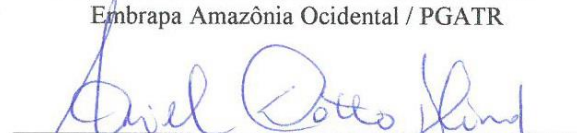
ESTUDO DE GERMINAÇÃO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE  
SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia Tropical, área de concentração em Produção Vegetal.

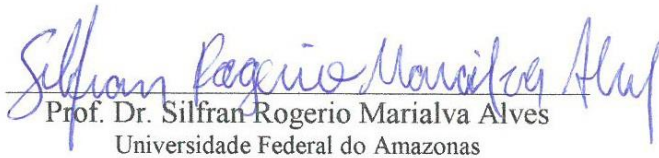
Aprovado em 15 de julho de 2016

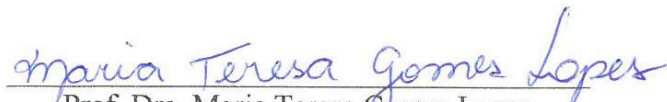
BANCA EXAMINADORA

  
Prof. Dr. Francisco Célio Maia Chaves  
Embrapa Amazônia Ocidental / PGATR

  
Dr. Ariel Dotto Blind  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

  
Profª. Dra. Luciana Souza Aguiar e Souza  
Universidade Federal do Amazonas

  
Prof. Dr. Silfran Rogerio Marialva Alves  
Universidade Federal do Amazonas

  
Prof. Dra. Maria Teresa Gomes Lopes  
Universidade Federal do Amazonas

# *Dedico*

Dedico esta tese a minha esposa e companheira da vida toda Tatiane Cardoso, e a meus filhos Gabriela Mota Cardoso e Luiz Miguel Mota Cardoso que são as heranças de Deus em minha vida, aos quais serei grato para sempre, pelo apoio, dedicação e incentivo, onde muitas vezes se privaram de várias coisas para que eu pudesse dar continuidade aos estudos e principalmente ajudando a me levantar e mostrando-me o caminho nas horas mais difíceis.

À minha mãe, Celeste Cardoso, que apesar de todas as dificuldades sempre fez o possível para que eu chegasse até aqui, pelo incentivo e motivação, pelos bons e ruins momentos vividos, pela educação que me ensinou e por mais uma etapa concluída

*Oferço*

## **AGRADECIMENTOS**

- A Deus que, sempre me guiou nas minhas conquistas me acalentando nos momentos de aflição;
- A Universidade Federal do Amazonas - UFAM, pela oportunidade de realização do Curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical;
- A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Amazônia Ocidental, pelo aporte institucional e disponibilidade da infraestrutura para a realização dos experimentos;
- A CAPES, pela bolsa que viabilizou parte dos estudos;
- A Dra. Maria Teresa Gomes Lopes, pela orientação;
- A Dra. Regina Caetano Quisen, pelo valoroso esforço e apoio disponibilizado durante a realização do projeto;
- Aos amigos e colegas de doutorado, pelo diálogo, apoio e conforto oferecido nas horas difíceis;
- As funcionárias do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da EMBRAPA, Rosimar Fernandes e Pâmela Harada pela dedicação e disposição na transmissão do conhecimento;
- Aos Professores da pós-graduação pelos ensinamentos.
- A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente para a finalização deste trabalho.
- A todos, que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Deixo aqui expresso meu muito obrigado!

# GERMINAÇÃO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)

## RESUMO

A região Amazônica é conhecida por possuir uma rica biodiversidade e ter uma gama de espécies pouco exploradas e/ou negligenciadas pela comunidade científica. Tais espécies podem apresentar um potencial econômico forte para o homem. Mesmo com uma pequena fração dessa biodiversidade conhecida, estima-se que a riqueza da flora Amazônica compreende aproximadamente 30.000 espécies, cerca de 10% das plantas de todo o planeta. Sacha inchi é uma espécie nativa da Amazônia com grande potencial de uso na indústria farmacêutica e cosmética por possui alto teor de ácidos graxos insaturados mono e poli-insaturados no óleo extraído de sua semente. No entanto, apesar de vários estudos sobre as características e benefícios desse óleo serem encontrados na literatura, algumas informações sobre a germinação e propagação vegetativa precisam ser definidas. A Embrapa Amazônia Ocidental, situada no município de Manaus, possui um Banco de Germoplasma de *Plukenetia volubilis* composto por vários acessos. E este presente trabalho tem como objetivo estudar a germinação *in vitro*, os processos germinativos de sementes de sachá inchi assim como determinar as melhores condições da propagação vegetativa.

Palavras-chave: Oleaginosa; germinação *in vitro*; estaquia; reguladores de crescimento.

**GERMINATION AND VEGETATIVE PROPAGATION inchi sachá**  
**(*Plukenetia volubilis* L.)**

**ABSTRACT**

The Amazon region is known to have a rich biodiversity, which also has a range of unexplored species and / or neglected by the scientific community, and such species may have a very strong economic potential for man. Even with a small fraction of this known biodiversity, it is estimated that the wealth of the Amazon flora comprises approximately 30,000 species, about 10% of plants from all over the planet. *Inchi* is a species native to the Amazon and with great potential for use in pharmaceutical and cosmetic industry, because it has high content of unsaturated fatty acids mono and polyunsaturated the oil extracted from its seed. However, despite several studies on the features and benefits of this oil are found in the literature, some information on the germination and planting need to be defined. Embrapa Western Amazon, located in the city of Manaus, has a Germplasm Bank of *Plukenetia volubilis* composed of several accesses. And this present work aims to study the germination process of weeding seeds *inchi* and to determine the best conditions of vegetative propagation *in vivo* and *in vitro*.

**Keywords:** Oleaginous; *In vitro* germination; propagation method; growth regulators.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Percentual de germinação de sachá inchi sob o efeito de diferentes concentrações de sacarose. T1 = tratamento controle; T2 = 1,5 % de sacarose; T3 = 3,0% de sacarose; T4 = 4,5% de sacarose; T5 = 6,0% de sacarose.....                                                     | 46 |
| Figura 2. Aspectos morfológicos de sementes de <i>Plukenetia volubilis</i> . A) semente ( <b>t</b> -tegumento, <b>ne</b> -nervura); B) embrião foliáceo ( <b>e</b> -eixo embrionário, <b>co</b> -cotilédone); C) detalhe da semente ( <b>mi</b> -micrópila, <b>ca</b> -carúncula)..... | 48 |
| Figura 3. Aspecto morfológico da germinação de sachá inchi, do 2º ao 8º dia de semeadura.....                                                                                                                                                                                          | 51 |
| Figura 4. Aspecto da germinação de sachá inchi do 10º ao 20º dia de semeadura.....                                                                                                                                                                                                     | 51 |
| Figura 5. Tipos de estacas. A (Apical); B (Mediana); C (basal).....                                                                                                                                                                                                                    | 63 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Valores médios de comprimento, largura, espessura e peso de sementes de sachá inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.).....                                                                                                                                                        | 48 |
| Tabela 2. Porcentagem de retenção foliar, estacas enraizadas, sobrevivência, mortalidade e de brotação de estaca de <i>Plukenetia volubilis</i> L. em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (CAIB) e de acordo com o tipo de estacas (TE) utilizadas. Manaus, Amazonas, 2015..... | 66 |
| Tabela 3. Número de raízes por estaca, comprimento médio das raízes (cm), Massa seca (MS) da parte aérea e raízes por estaca (%) de <i>Plukenetia volubilis</i> L. em diferentes concentrações de AIB e de acordo com o tipo de estacas utilizadas. Manaus, AM, 2015.....                   | 69 |

## SUMÁRIO

|                                              |      |
|----------------------------------------------|------|
| RESUMO .....                                 | vii  |
| ABSTRACT .....                               | viii |
| 1 INTRODUÇÃO .....                           | 12   |
| 2 OBJETIVOS .....                            | 14   |
| 2.1 Objetivo geral .....                     | 14   |
| 2.2.1 Objetivos específicos .....            | 14   |
| 3 REVISÃO DE LITERATURA.....                 | 15   |
| 3.1 <i>Plukenetia volubilis</i> Linneo ..... | 15   |
| 3.1.1 Classificação Taxonômica .....         | 15   |
| 3.1.2 Distribuição geográfica .....          | 15   |
| 3.1.3 Morfologia .....                       | 16   |
| 3.1.4 Aspectos econômicos .....              | 17   |
| 3.2 Propagação sexuada .....                 | 18   |
| 3.2.1 Germinação <i>in vitro</i> .....       | 19   |
| 3.3 Propagação assexuada .....               | 20   |
| 3.3.1 Estaquia .....                         | 22   |
| 3.3.1.1 Estacas herbáceas .....              | 23   |
| 3.3.1.2 Estacas semi-herbáceas .....         | 23   |
| 3.3.1.3 Estacas semi-lenhosas .....          | 23   |

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 3.3.1.4 Estacas lenhosas .....                      | 24 |
| 3.3.2 Fatores que afetam a formação de raízes ..... | 25 |
| 3.3.2.1 Fatores internos .....                      | 25 |
| 3.3.2.2 Fatores externos .....                      | 27 |
| 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                  | 32 |
| CAPITULO 1 .....                                    | 36 |
| Resumo .....                                        | 37 |
| Abstract .....                                      | 38 |
| Introdução .....                                    | 39 |
| Material e métodos .....                            | 42 |
| Resultados e discussão .....                        | 45 |
| Conclusão .....                                     | 53 |
| Referências .....                                   | 54 |
| CAPITULO 2 .....                                    | 57 |
| Resumo .....                                        | 58 |
| Abstract .....                                      | 59 |
| Introdução .....                                    | 60 |
| Material e métodos .....                            | 63 |
| Resultados e discussão .....                        | 66 |
| Conclusão .....                                     | 72 |
| Referências .....                                   | 73 |

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as espécies amazônicas em ascensão destaca-se *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.) que é uma planta originária da Amazônia peruana, sendo conhecida na região da Amazônia brasileira como amêndoa-lopo. É uma planta semi-perene, trepadora lenhosa, produz frutos contendo cápsulas com 3 a 5 cm de diâmetro, geralmente com quatro lóbulos, podendo variar de três a sete, contendo uma semente oleaginosa dentro de cada lóbulo (KRIVANKOVA et al., 2007).

A constituição da semente apresenta significativos índices de óleos (54%) e proteínas (36%). Sua composição é de 33 a 35% de casca e 65 a 67% de amêndoa e possuem elevado teor de óleo (35 a 60% do peso da amêndoa), contendo níveis elevados de ácido graxo  $\alpha$ -linolênico (omega-3) e linoleico (omega-6), conseqüentemente, possuindo grande potencial para aplicações nas indústrias alimentar e farmacêutica (KRIVANKOVA et al., 2007).

Os ácidos graxos considerados essenciais são o  $\alpha$ -linolênico e linoleico por não serem sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a sua ingestão a partir de fontes exógenas. A partir destes compostos são sintetizados outros ácidos graxos poliinsaturados de fundamental importância pelo corpo humano, como o ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosaexaenoico. A ingestão desses ácidos graxos é importante para a prevenção de doenças cardiovasculares, neuromusculares e durante a gravidez, mostrando também efeito hipocolesterolêmico ao ser usado como suplemento alimentar (NOVELLO et al., 2010).

Dentre os alimentos que contém esses ácidos graxos de importância ao bom desenvolvimento do organismo humano, são provenientes de peixes de água salgada, no entanto o baixo consumo desses alimentos têm provocado carência desses ácidos graxos, e como alternativa incluir *sacha inchi* na dieta alimentar poderá suprir as

necessidades nutricionais de consumo de tais óleos (NOVELLO et al., 2010), assim como os povos das civilizações pré-inca e inca já utilizavam sementes de sachá inchi em suas dietas (CIED, 2007).

Neste sentido, estudos de germinação e propagação assexuada da espécie podem auxiliar na obtenção de mudas de plantas com características desejáveis e colaborar para melhor uso e conservação da espécie.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Estudar os processos germinativos e a propagação vegetativa de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Ocidental.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Descrever os aspectos iniciais e a morfologia das sementes durante o processo de germinação;
- Determinar a melhor concentração de sacarose para a germinação *in vitro*;
- Avaliar o efeito da utilização de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de três tipos de estacas de sachá inchi.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

Um dos maiores e importantes centro de biodiversidade do mundo é a Amazônia, onde se originaram importantes culturas como mandioca, abacaxi, cacau, borracha (CLEMENT et al., 2009). No entanto, numerosas espécies de plantas amazônicas ainda são pouco exploradas, mesmo aquelas que possuem valor econômico promissor. Um exemplo dessas espécies é a *Plukenetia volubilis* L., popularmente conhecida como “sacha inchi”.

#### 3.1. *Plukenetia volubilis* Linneo

##### 3.1.1. Classificação taxonômica

O gênero *Plukenetia* pertence à família Euphorbiaceae (Euphorbiaceae), é composto por 19 espécies (GILLESPIE, 2007), e dentre elas se destaca a *Plukenetia volubilis* Linneo, que é uma trepadeira conhecida pelos incas há milhares de anos e comumente chamada de “sacha inchi” “amendoim inca”, “amendoim selvagem”, “inca inchi” ou “amendoim da montanha”.

##### 3.1.2. Distribuição geográfica

O gênero tem distribuição pantropical, 12 espécies são encontradas na América do Sul e Central e outras sete são encontradas somente nos países do Velho Mundo (Eurásia e África). A *P. volubilis* é nativa da selva Amazônica, com centro de origem no Peru, Colômbia, Venezuela e Brasil (BORDIGNON et al., 2012).

### 3.1.3. Morfologia

As espécies de *Plukenetia* são trepadeiras, vinhas ou raramente herbácea perene, rasteiras. A *sacha inchi* é uma espécie semi-perene, trepadora lenhosa, monoica, decídua (MACBRIDE, 1951).

As folhas são opostas e simples; a lâmina de folha é ovado-triangular, 6 – 13 cm de comprimento e 4 – 10 cm de largura, com base truncada; a margem é crenada ou levemente serrilhada; Na face adaxial das folhas apresenta uma protuberância glandular no ápice do pecíolo.

A inflorescência é racemosa monoica alongada (bissexual), e 5 – 18 cm de comprimento; flores femininas são solitárias em nós basais, a coluna estilar é parcialmente ou completamente inata com 15 – 30 mm de comprimento, flores masculinas subglobas e numerosas, agrupadas nos nós distais; estames em número de 16 - 30 com filamentos conspícuos, cônico, de 0,5 mm de comprimento.

Os frutos são cápsulas geralmente com quatro lóbulos, podendo variar de três a sete, contendo uma semente oleaginosa dentro de cada lóbulo, glabra, 2,5 – 6 cm de diâmetro.

As sementes são lenticular e comprimidas lateralmente, marrom com manchas mais escuras, com tamanho variando de 1,5 – 2 x 0,7 – 0,8 cm. Possuem elevado teor de óleo, 35 a 60% do peso da amêndoa, com predominância dos ácidos graxos insaturados  $\alpha$ -linolênico (ômega 3), linoleico (ômega 6) e oleico (ômega 9). O óleo extraído desta espécie apresenta aplicação nas indústrias alimentar e farmacêutica (KRIVANKOVA et al., 2007).

#### 3.1.4. Aspectos econômicos

Os óleos essenciais presentes na *sacha inchi* (ômega 3, 6 e 9), não são sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a sua ingestão. Esses ácidos graxos essenciais, encontram-se principalmente na composição das células vegetais, sendo sua presença imprescindível na dieta humana, especialmente, em se tratando dos ácidos linoléico e o linolênico. A partir destes compostos são sintetizados outros ácidos graxos poli-insaturados de fundamental importância pelo corpo humano, como o ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosaexaenoico. A ingestão desses óleos essenciais é importante para a prevenção de doenças cardiovasculares, neuromusculares e durante a gravidez, mostrando também efeito hipocolesterolêmico ao ser usado como suplemento alimentar (NOVELLO et al., 2010).

CÉSPEDES (2006), relata que estudos de biologia reprodutiva de *P. volubilis* indicam que as plantas se reproduzem por polinização predominantemente cruzada e a espécie se caracteriza como alógama e tem indicativo de grande variabilidade nos indivíduos, o que ocasiona um plantio desuniforme e dificulta a expansão das áreas de cultivo.

O plantio da espécie vem se difundindo na região do Alto Solimões (AM) e nas proximidades de Manaus (AM) em parte pela produção de sementes, mas também por apresentar características favoráveis ao reflorestamento e também para proteção de encostas contra a erosão, o que poderá representar uma alternativa a áreas degradadas e a programas de agricultura familiar, já que a vida útil de seu cultivo é de aproximadamente 10 a 15 anos (BORDIGNON et al., 2012).

O grande potencial agroindustrial da *P. volubilis* é a sua adaptabilidade a diferentes altitudes e ao clima subtropical (OLIVEIRA et al., 2013). Assim, pesquisas

sobre métodos de propagação são essenciais para a expansão da cultura, e a propagação vegetativa é uma alternativa para preencher parte das informações desta espécie.

### **3.2. Propagação Sexuada**

A germinação é um processo biológico, desenvolvido por sequência bioquímica, morfológica e fisiológica que resulta na retomada do crescimento do embrião da semente, seguidamente, com emergência da radícula (BEWLEY e BLACK, 1994).

Para pesquisas de germinação, BORGHTTI e FERREIRA (2004) afirmam que o processo de germinação não é apenas o desenvolvimento das partes aérea e radicular, mas também a velocidade que a muda se desenvolve desde a semente, fator este que contribui consideravelmente na emergência da plântula. Portanto, não é somente as porcentagens finais de germinação que interessa, mas também a velocidade de germinação é fundamental para que ocorra a identificação inicial dos melhores materiais genéticos.

O processo germinativo pode ser influenciado por fatores externos ou internos, sendo que estes podem ocorrer de forma individual ou conjuntamente. (NASSIF et al., 1998). Dentre os principais fatores ambientais que afetam a germinação de sementes são oxigênio, temperatura, luz e água, sendo a água o fator que tem mais influência sobre a germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A absorção da água pelas sementes colabora com o enfraquecimento do tegumento, intensifica a atividade respiratória e induz a síntese de enzima e hormônios. Desta forma, modifica a estrutura e propriedades da parede celular do embrião, aumentando o volume da semente, entrando nos tecidos adjacentes, rompendo o tegumento, em seguida, a emissão da radícula (BEWLEY E BLACK, 1994).

A temperatura influencia a germinação de forma generalizada, conseqüentemente, irá afetar a velocidade de germinação, velocidade de absorção de água e reação bioquímicas que determinam o processo germinativo (BASKIN e BASKIN, 1998). Este fator está relacionado com a ecologia de cada espécie, sendo assim, a germinação de sementes irá ocorrer dentro de uma temperatura ou faixa de temperatura ideal, vale ressaltar que toda espécie tem seu intervalo ótimo de temperatura para germinar (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A luz também exerce função importante no processo de germinação. De acordo com NASSIF et al. (1998) um fator que influencia a germinação de sementes é luz, pois as sementes de algumas espécies germinam sob extrema exposição à luz, outras, porém sob breve exposição, mas ainda existem aquelas que são indiferentes à luminosidade. Para CARVALHO e NAKAGAWA (2000) a luz é apenas um fator de quebra de dormência, para o processo germinativo a luz não exerce efeito. Em sementes sensíveis a luz, a germinação acontece pela quebra de dormência realizada pela luz, após a quebra por este fator, a germinação irá acontecer tanto na presença como na ausência de luz.

### 3.2.1. Germinação *in vitro*

Dentre os métodos de germinação *in vitro* descritos por STANLEY e LINSKENS (1974), destaca-se o meio de germinação contendo ágar, ou gelatina, tornando-se um meio bastante empregado, pois estes meios são muito atrativo, uma vez que oferece facilidade à incorporação de açúcar ou outros estimulantes à germinação do pólen, além de proporcionar umidade relativa constante. Estes autores confirmam sobre as vantagens da preparação de quantidades que podem ser estocadas e das condições aeróbicas na superfície da lâmina requeridas no processo germinativo. FARMER JR e HALL (1975) comentam sobre a facilidade de manuseio quando se acrescenta o ágar no meio para testes de germinação “*in vitro*” de *Prunus serotina* Ehrh.

Para NUNES et al. (2008), trabalhando com sementes de pinhão-mansão, consideram importante a suplementação dos meios de cultura com fontes exógenas de carboidratos e outros aditivos, que favoreçam a germinação *in vitro* da espécie, tanto para maximizar a taxa de germinação quanto para obter plântulas com elevado potencial fisiológico para serem utilizadas como fonte de explante, em estudos sobre embriogênese somática ou organogênese. Para algumas espécies perenes, sendo algumas delas da família Euphorbiaceae, como *Jatropha podagrica* (JESUS et al., 2003), foi possível estabelecer protocolos de germinação *in vitro* de embriões zigóticos.

A espécie *J. podagrica*, verificou-se que a melhor concentração de sacarose é de até 30 g.L<sup>-1</sup>, onde foram suficientes para o bom crescimento das plântulas (SPERA, 1995). A sacarose é comumente utilizada como fonte energética e para manutenção de um potencial hídrico adequado no meio de cultura (FERREIRA et al., 2002; GARCIA et al., 2002). Embriões imaturos requerem maiores concentrações de sacarose quando comparados com embriões maduros, que podem prescindir do fornecimento exógeno (HU e FERREIRA, 1998).

### **3.3. Propagação assexuada**

A propagação assexuada, vegetativa ou agâmica é o processo de multiplicação que ocorre através de mecanismos de divisão e diferenciação celular, por meio da regeneração de partes da planta mãe.

Esta técnica consiste em multiplicar assexuadamente partes de plantas, sejam eles estacas da parte aérea ou da raiz, gemas ou outras estruturas especializadas, ou ainda de meristemas, ápices caulinares, calos e embriões. Desse modo, um vegetal é regenerado a partir de células somáticas sem alterar o genótipo, devido à multiplicação mitótica.

O uso deste método de propagação permite a formação de um clone ou grupo de plantas provenientes de uma matriz em comum, ou seja, com carga genética uniforme e com idênticas necessidades climáticas, edáficas, nutricionais e de manejo. É uma técnica que está sendo cada vez mais adotada em nível mundial, principalmente por sua maior efetividade em capturar os ganhos genéticos obtidos dos programas de melhoramento (WENDLING, 2003).

A utilização da propagação vegetativa propicia além da obtenção de plantas idênticas à planta matriz, a formação de plantios clonais de alta produtividade e uniformidade, a multiplicação de indivíduos selecionados quanto a resistentes a pragas e doenças, reduz a juvenilidade e aumenta o vigor na produção, podendo ser uma ferramenta importante para propagação de diversas espécies (WENDLING, 2003; TOSTA et al., 2012).

Vários fatores podem influenciar no grau de sucesso obtido na propagação vegetativa, que pode ser influenciado pela espécie avaliada, pela estação do ano, pelas condições fisiológicas da planta-mãe, pelas variações nas condições climáticas, pela posição da estaca na planta-mãe, pelo estado nutricional das estacas, pelo tamanho, pelo tipo e pela hora de coleta da estaca, pelo meio de enraizamento, pelas substâncias de crescimento e pelos produtos químicos aplicados entre outros (CARVALHO e SILVA, 2012).

Essas variações originam-se de uma interação de fatores externos e internos inerentes, presentes nas células das plantas, bem como de substâncias translocáveis produzidas nas folhas e gemas, como as auxinas, os carboidratos, os compostos nitrogenados, as vitaminas, entre outras, sendo tais variações ainda pouco esclarecidas em para muitas espécies (WENDLING, 2003).

Embora os relatos de propagação vegetativa de *sacha inchi* seja relativamente recente, vários métodos têm sido desenvolvidos desde seu início. Atualmente, um dos principais métodos com potencial de utilização futura, em nível comercial é a estaquia, principalmente quando se trabalha com plantas nativas, para as quais existem poucos resultados de pesquisa (CASAGRANDE et al., 2000; BORDIGNON et al., 2012; CACHIQUE et al., 2013).

### 3.3.1. Estaquia

É o termo utilizado para o processo de propagação no qual ocorre a indução do enraizamento adventício em segmentos destacados da planta mãe, que, uma vez submetidos a condições favoráveis, originam uma muda. Entende-se por estaca qualquer segmento da planta mãe, com pelo menos uma gema vegetativa, capaz de originar uma nova planta, podendo haver estacas de ramos, de raízes e de folhas (FACHINELLO et al., 1995).

O uso de estacas caulinares é uma das principais técnicas de propagação vegetativa de plantas em larga escala. Em trabalhos realizados com enxertia, a estaquia é também uma operação frequentemente necessária, uma vez que a maioria dos porta-enxertos são obtidos a partir de estacas. Na propagação por estacas caulinares utilizam-se segmentos de caules contendo gomos terminais ou laterais, que são colocados em condições adequadas à produção de raízes adventícias (HARTMANN et al., 1997).

Segundo o autor acima citado, de acordo com o grau de lenhificação do caule, as estacas caulinares são classificadas em herbáceas, semi herbáceas, semilenhosas e lenhosas.

#### 3.3.1.1. Estacas herbáceas

As estacas herbáceas são preparadas a partir de caules herbáceos, com cerca de 7 a 10 cm, frequentemente com folhas. Nas estacas herbáceas o enraizamento tende a ser mais fácil, porém exige maior controle ambiental. O enraizamento requer elevada humidade relativa. Sob condições adequadas, o enraizamento tende a ser rápido, com elevadas percentagem de sucesso. A utilização de promotores do enraizamento não é indispensável, mas melhora a uniformidade da distribuição das raízes. Exemplos de plantas ornamentais propagadas por estacas herbáceas: *Coleus*, crisântemo, craveiro, gerânio.

#### 3.3.1.2. Estacas semi-herbáceas

As estacas do tipo semi-herbáceas devem ser preparadas a partir da rebentação nova de espécies arbóreo-arbustivas de folha caduca ou persistente. As estacas semi-herbáceas são colhidas na Primavera, normalmente preparadas com 7 a 10 cm de comprimento, contendo pelo menos 2 nós e folhas. Deve-se evitar utilizar as partes dos ramos muito herbáceas e em crescimento activo e preferir material já um pouco atempado, mas que mantenha a sua flexibilidade. Se as folhas forem excessivamente grandes, deve-se cortar a meio, para reduzir a superfície de transpiração. Enraízam mais facilmente do que estacas mais atempadas, mas requerem mais atenção e melhor controlo ambiental. Respondem bem à utilização de promotores de enraizamento. Beneficiem da utilização de aquecimento do substrato (23 a 27 °C), mantendo-se o ar a uma temperatura inferior (cerca de 21 °C). Exemplos de plantas ornamentais propagadas por estacas semi-herbáceas: *Magnolia*, *Forsythia*, *Pyracantha*.

#### 3.3.1.3. Estacas semi- lenhosas

As estacas do tipo semi-lenhosas são preparadas a partir de espécies lenhosas de folha persistente (excepto coníferas) ou de material de espécies de folha caduca desde

que colhido no Verão. As estacas são preparadas com 7 a 15 cm de comprimento, com folhas. Necessitam de sistemas de *mist* (linhas de microaspersão) e beneficiam do aquecimento basal. Exemplos de plantas ornamentais propagadas por estacas semi-lenhosas: Camélia, azevinho, *Fuchsia*, *Erica*.

#### 3.3.1.4. Estacas lenhosas

As estacas lenhosas são menos perecíveis do que as anteriores, pelo que exigem menos cuidados na sua preparação e não exigem controlo ambiental durante o enraizamento. A utilização de estacas lenhosas na propagação da espécie tem sido utilizada, durante o período de repouso vegetativo, por ocasião da poda, obtendo-se uma grande quantidade de ramos para a produção de estacas, podendo maximizar a utilização do material vegetal que seria descartado (ANTUNES et al., 2000). Nas espécies de folha caduca, as estacas colhem-se entre a queda da folha e a rebentação primaveril e prepara-se a partir de madeira do crescimento da estação anterior. Deve-se descartar a ponta dos ramos, normalmente pobre em reservas, e preferir a parte central e basal. As estacas lenhosas variam muito em comprimento, podendo ir de 10 a 70 cm. No casos das espécies gimnospérmicas, as estacas lenhosas colhidas entre o final do Outono e o fim do Inverno, contêm folhas, pelo que é necessário haver algum controlo da humidade relativa do ar. Estas espécies também respondem bem ao aquecimento basal. Exemplos de plantas ornamentais propagadas por estacas lenhosas diversas árvores e arbustos ornamentais, choupo, porta-enxertos de roseira (HARTMANN et al., 1997).

As estacas caulinares lenhosas podem ainda ser simples, com talão ou em cruzeta. A estaca simples é a mais frequente e dá bons resultados na maioria dos casos. Em alguns casos o enraizamento é favorecido pela presença de um talão (pequena porção de

madeira velha) ou de uma cruzeta (secção do caule de madeira mais velha) (HARTMANN et al., 1997).

Dentre os vários tipos de estacas possíveis, a caular é a mais utilizada na propagação de plantas (XAVIER, 2002). A capacidade de regeneração depende de duas características fundamentais: totipotência que é a capacidade de qualquer célula do organismo vegetal de regeneração de uma planta completa, e a dediferenciação que é a capacidade das células diferenciadas retornarem à capacidade meristemática (GRAÇA E TAVARES, 2000).

### 3.3.2 Fatores que afetam a formação de raízes

Os fatores que afetam a formação de raízes podem indicar o porquê que algumas espécies têm mais facilidade de enraizar, além de que possibilita maior chance de sucesso na produção de mudas por estacas. Podem ser separados em dois grupos:

#### 3.3.2.1. Fatores internos

Condição fisiológica e idade da planta matriz; tipo de estaca; época do ano; potencial genético de enraizamento; fitossanidade; balanço hormonal e oxidação de compostos fenólicos.

Condição fisiológica: conjunto de características internas da planta, assim como o conteúdo de água, o teor de reservas e de nutrientes, quando as estacas forem coletadas. Quanto ao estado nutricional, pode-se dizer que os nutrientes de maior importância são o carbono e o nitrogênio. De acordo com PAIVA e GOMES (1995), a elevada relação C/N na planta matriz favorece o enraizamento. Segundo FACHINELLO et al. (2005) o conteúdo equilibrado de alguns nutrientes, como fósforo, potássio, cálcio e magnésio, também favorece o enraizamento.

Idade da planta: de um modo geral, estacas provenientes de plantas jovens enraízam com mais facilidade, pois apresentam multiplicação celular mais ativa, e isso se manifesta especialmente em espécies de difícil enraizamento (HARTMANN E KESTER, 1990). FACHINELLO et al. (2005) recomenda a obtenção de brotações jovens em plantas adultas, pela poda drástica, as quais, mesmo não caracterizando uma verdadeira condição de juvenilidade, apresentam maior facilidade de enraizamento.

Tipos de estacas: em espécies de fácil enraizamento tem pouca importância, entretanto, quanto maior a dificuldade maior a necessidade da correta escolha do tipo de estaca, o qual varia com espécie ou mesmo cultivar. No ramo a parte basal oferece maiores chances de sucesso pela maior acumulação de reservas e menor de nitrogênio, isso é válido para as plantas lenhosas, no caso das semi-lenhosas a parte mais apical, neste caso pode ser devido a um acúmulo de auxinas (FACHINELLO et al., 2005);

Época do ano: está relacionada com a consistência da estaca, condições climáticas (temperatura e disponibilidade de água) (FACHINELLO et al., 2005);

Potencial genético de enraizamento: a potencialidade de uma estaca formar raízes e variável com a espécie ou cultivar, nesse sentido pode ser feita uma classificação como espécie ou cultivar de fácil, mediano ou difícil enraizamento (FACHINELLO et al., 2005);

Fitossanidade: é influenciada pelo grau de contaminação do material propagativo, pelo substrato, pela quantidade de água de irrigação e pelos tratamentos fitossanitários que venham ser realizados neste período;

Balanço hormonal: hormônios vegetais ou fitohormônios são substâncias orgânicas naturais, biologicamente ativas em baixas concentrações, sintetizadas em células de divisão ativa do meristema, cuja função é de transportar informações e coordenar o crescimento e desenvolvimento vegetal (HINOJOSA, 2000). Os principais

grupos de hormônios vegetais encontrados são as auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e inibidores. Sendo que a menor ou menor capacidade de enraizar depende do equilíbrio entre essas substâncias promotoras e inibidoras do enraizamento que, de modo geral, é muito variável entre as espécies (FACHINELLO et al., 2005), podendo ter efeitos sinérgicos ou antagônicos de acordo com a quantidade utilizada (HINOJOSA, 2000);

Oxidação de compostos fenólicos: as substâncias fenólicas presentes nos tecidos vegetais são liberadas para o meio externo através das lesões provocadas na coleta e preparo das estacas. Ao entrarem em contato com o ar oxidam, ocasionando escurecimento da região lesionada e inibindo o processo de rizogênese, pois os produtos resultantes dessa oxidação são tóxicos ao tecido (FACHINELLO et al., 2005).

#### 3.3.2.2. Fatores externos:

Temperatura: o aumento da temperatura favorece a divisão celular para a formação de raízes; porém, especialmente em estacas herbáceas e semilenhosas, estimula a transpiração induzindo o murchamento da estaca. Para o enraizamento de estacas da maioria das espécies, são ideais temperaturas diurnas entre 21 e 27 °C e noturnas de 15 °C (HARTMANN e KESTER, 1990).

Luz: durante o período de enraizamento, a intensidade luminosa geralmente precisa ser reduzida a 50 % para evitar a insolação excessiva das estacas (PAIVA; GOMES, 1995). Na região basal das estacas é necessário que se mantenha um ambiente completamente escuro (FACHINELLO et al., 2005).

Umidade: a perda de água é uma das principais causas de morte de estacas, principalmente em espécies de difícil enraizamento. Por isso a estaquia principalmente quando utilizadas estacas com folhas, requer uma pressão de vapor na atmosfera

semelhante à da água da folha, para reduzir a transpiração e manter a turgidez necessária à divisão celular (FACHINELLO et al.,2005).

Substrato: o substrato desempenha importante função no processo da estaquia, pois dele depende vários fatores fundamentais ao enraizamento. Tem a função de sustentar as estacas enquanto enraízam, mantendo sua base num ambiente úmido, escuro e aerado. No percentual de enraizamento e qualidade das raízes, o efeito do substrato está relacionado com a porosidade, a qual afeta o teor de água retida e seu equilíbrio com a aeração (FACHINELLO et al.,2005).

Um outro fator importante que deve ser considerado no enraizamento de estacas herbáceas é a presença de folhas. Segundo MAYER E PEREIRA (2003), em trabalho realizado com umezeiro (*Prunus mume* Sieb & Zucc.), verificaram que a retenção de folhas nas estacas influencia a velocidade de enraizamento, enquanto que a ausência de folhas resultou praticamente, em estacas com calo ou mortas. Resultados estes também obtidos por SANTORO et al. (2010) que avaliaram a influência de folhas em estacas herbáceas no enraizamento de goiabeira. Estes autores constataram que a ausência de folhas resultou na morte das estacas e que a sua presença promoveu uma maior massa seca e fresca das raízes das estacas, o que comprova a necessidade da presença nas mesmas.

A manutenção das folhas nas estacas também foi avaliada por MINDÊLLO NETO e BALBINOT JÚNIOR (2004), em estudo realizado com enraizamento de estacas herbáceas de pessegueiro cv. Jubileu e, observaram que com ou sem tratamento com AIB, esta característica é condição determinante para a formação das raízes. Contudo, são poucas as informações sobre a quantidade ideal de folhas que devem estar presentes nas estacas para se obter enraizamento satisfatório.

Os fatores que permitem a sobrevivência das estacas pela presença de folhas estão relacionados à síntese de carboidratos, por meio da fotossíntese, o fornecimento de auxinas e outras substâncias importantes para a atividade cambial e a diferenciação celular (LIONAKIS, 1981). Para manter adequado suprimento de carboidratos, necessários a formação de raízes, é importante que o ambiente de enraizamento tenha uma névoa intermitente, pois as gotículas de água formam uma fina camada sobre a superfície das folhas, mantendo a sua umidade e fazendo com que estas percam calor e se refrigerem, possibilitando a fotossíntese das folhas (ONO E RODRIGUES, 1996).

Durante o processo de propagação via estaquia, é imprescindível a formação de novas raízes. O enraizamento de estacas envolve a regeneração de meristemas radiculares diretamente a partir dos tecidos associados com o tecido vascular, ou a partir do tecido caloso formado na base da estaca, sendo a indução da regeneração radicular função da espécie, do genótipo e do nível de maturação da planta doadora (WENDLING, 2003).

Para que ocorra a formação de raízes adventícias em estacas, faz-se necessário a presença de certos níveis de substâncias de crescimento natural da planta, sendo umas mais favoráveis. Dependendo da espécie, do estado de maturação, entre outros fatores, várias substâncias, quando aplicadas exogenamente, promovem ou inibem a iniciação de raízes adventícias (XAVIER, 2002).

Uma dessas substâncias são as auxinas como o ácido indolacético (AIA) que promove a indução para formação do sistema radicular, atuando em conjunto com carboidratos, compostos nitrogenados e vitaminas. Outras substâncias químicas sintéticas podem ser utilizadas e proporcionar o mesmo efeito como o ANA (ácido naftalenoacético) e o AIB (ácido indolbutírico), com o objetivo de aumentar a

porcentagem e a qualidade das raízes, além de acelerar e uniformizar o enraizamento (OLIVEIRA et al., 2001)

Tais fatos são observados principalmente quando se utiliza auxinas e citocininas. Estas parecem estar intimamente associadas à atividade dos meristemas caulinar e radicular (PERES e KERBAUY, 2000). Esses dois hormônios vegetais que atuam como “hormônios meristemáticos” proporcionam o crescimento integrado dos caules e raízes pelo seguinte mecanismo: as auxinas inibem o desenvolvimento de gemas caulinares (principalmente das gemas axilares no processo de dominância apical) e estimulam a iniciação de raízes, sendo um hormônio produzido quase que exclusivamente em órgãos do sistema caulinar, o que se traduz, na produção de auxina, nos caules e translocação para os sítios de iniciação das raízes, localizadas sempre na porção mais basal da planta. As citocininas, após sua biossíntese nas raízes, entram em fluxo ascendente do xilema e são transportadas para os sítios de iniciação de gemas nos caules (DAVIES, 1995).

GRAVE (2005) relata as peculiaridades da síntese, do transporte e a ação das auxinas e citocininas, descrevendo o crescimento integrado entre caules e raízes do seguinte modo: um intenso crescimento do sistema radicular (em locais com boa disponibilidade de água e nutrientes) implicaria num aumento da produção e transporte de citocininas, estimulando a iniciação compensatória de gemas caulinares. Por outro lado, em locais com bom suprimento de oxigênio, dióxido de carbono e luz, as novas gemas formadas garantiriam o suprimento de auxina necessária à iniciação de mais raízes.

Vários autores relatam os efeitos das auxinas na formação de calos e raízes, GRATTAPAGLIA e MACHADO (1990) salientam que quantidades excessivas de auxina estimulam a produção de calo e, WEAVER (1982) ressalta que embora o ANA possa induzir a formação de raízes, em algumas espécies, por vezes até melhor que o

AIB, pode também provocar efeitos indesejáveis por ser mais tóxico aos tecidos vegetais.

Esses efeitos também são descritos por HARTMANN et al. (1997) que explicam que aplicações exógenas de reguladores de crescimento aos propágulos vegetativos, principalmente as auxinas, proporcionam maior percentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento. Quando a auxina é aplicada nas estacas, ocorre aumento de sua concentração, o que produz efeito estimulador de raízes até um ponto máximo, a partir do qual qualquer acréscimo do nível de auxina torna-se inibitório

Outro aspecto importante a ser avaliado é o período de exposição das estacas aos hormônios vegetais, segundo PASQUAL E LOPES (1991) que estudaram o desenvolvimento da espécie *Pyrus calleryana* (pêra), as estacas devem ser transferidas de um meio com auxina para um meio sem reguladores de crescimento a fim de melhorar o alongamento das raízes após a iniciação radicular e não causar toxicidade. Os autores observaram que o AIB a 50 mg/L (concentração máxima testada) promoveu uma redução no desenvolvimento da espécie com o aumento do tempo de incubação, num tempo máximo de 48 horas.

De acordo com FACHINELLO et al. (1995), a concentração do produto ativo e o tempo de permanência no meio variam conforme a espécie e do teor de auxina existente nela. O AIB pode ser aplicado tanto por via líquido ou via talco (BLAZICH, 1987).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, L.E.C. et al. 2000. **Propagação de cultivares de amoreira-preta (*Rubus spp*) através de estacas lenhosas**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p.195-199.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. 1998. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. London: Academic Press, 625 p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. 1994. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 445 p.
- BLAZICH, F. A. 1987. **Chemicals and formulations used to promote adventitious rooting**. In: DAVIES, T. D., HAISSIG, B. E., SANKHLA, N. ADVENTITIOUS ROOT FORMATION IN CUTTINGS. Portland: Dioscorides Press, p.132-149.
- BORDIGNON, S.R.; AMBROSANO, G.M.B.; RODRIGUES, P.H.V. 2012. **Propagação *in vitro* de Sacha inchi**. Ciência Rural. Santa Maria, vol. 42 n. 7.
- BORGHETTI, F., FERREIRA, A.G. 2004. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 324 p.
- CACHIQUE, D., RODRIGUEZ, A., RUIZ-SOLSOL, H., VALLEJOS, G., SOLIS, R. 2013. **Propagación vegetativa del sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante enraizamiento de estacas juveniles em cámaras de subirrigación em la amazonia peruana**. Folia Amazónica, vol. 20, n.1, p.95-100.
- CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. DE A. 2012. **Plantas matrizes na propagação vegetativa**. Embrapa Algodão. Campina Grande, Documento 242, 36 p.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 2000. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Funep: Jaboticabal, 588p.
- CASAGRANDE JR, J.G. DUTRA, J.G; TONIETTO, L.F.; NACHTIGAL, A.; STRELOW, E. 2000. **Efeito do estiolamento de ramos e do AIB no enraizamento de estacas herbáceas de jabuticabeira**. Revista Brasileira de Agrociência, v.6, n.1, p.24-26.
- CÉSPEDES, I. E. I. M. 2006. **Situación y avances Del cultivo de sacha inchi em El Peru**. Cultivo de sacha inchi in Dirección de Investigacion Agraria. INIA Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, Estacion Experimental Agraria “El Povenir” – Tarapoto.
- CIED. 2007. **Cultivo Del Sacha inchi**. Centro de Investigación Educación y Desarrollo. Manual de Capacitación. Junin, Peru.
- CLEMENT, C.R.; BORÉM, A.; LOPES, M.T.G. 2009. **Da domesticação ao melhoramento de plantas. Domesticação e Melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa: Editora UFV, 486p.

DAVIES, P.J. 1995. **The plant hormones concept: concentration, sensitivity and transport.** In: DAVIES, P.J. PLANT HORMONES: PHYSIOLOGY, BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. Dordrecht: Kluwer Acad. Publi, p.13-38.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMMAN, A.; NACHTIGAL, J.C., KERSTEN, E.; FORTES, G.R. DE L. 1995. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado.** Pelotas: UFPEL, 179p.

FACHINELLO, J. C; HOFFMANN, A.; NACHTGAL, J. C.; KERSTEN, E. 2005. **Propagação vegetativa por estaquia.** In: \_\_\_\_\_. PROPAGAÇÃO DE PLANTAS FRUTÍFERAS. Pelotas: Embrapa Informações Tecnológicas, 221p.

FARMER JR, R. E. HALL, G. C. 1975. **In vitro testing and longterm storage of black cherry pollen.** In: NORTHEASTERN FOREST TREE IMPROVEMENT CONFERENCE, 22, Syracuse, 1974. Proceedings... Syracuse, Upper Darby, p. 19-22.

FERREIRA, M.G.R., CÁRDENAS, F.E.N., CARVALHO, C.H.S., CARNEIRO, A.A., DAMIÃO FILHO, C.F. 2002. **Resposta de eixos embrionários de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) à concentração de sais, doses de sacarose e renovação do meio de cultivo.** Revista Brasileira de Fruticultura, vol.24, p.246-248.

GARCIA, J.L., TRONCOSO, J., SARMIENTO, R., TRONCOSO, A. 2002. **Influence of carbon source and concentration on the in vitro development of olive zygotic embryos and explants raised from them.** Plant Cell, Tissue and Organ Culture, vol.69, p. 95-100.

GILLESPIE L.J. 2007. **A revision of paleotropical *Plukenetia* (Euphorbiaceae) including two new species from Madagascar.** Systematic Botany. vol. 32, n.4, p. 780-802.

GRAÇA, M.E.C.; TAVARES, F.R. 2000. **Propagação vegetativa de espécies florestais.** In: GALVÃO, A.P.M. REFLORESTAMENTO DE PROPRIEDADES RURAIS PARA FINS PRODUTIVOS E AMBIENTAIS. Brasília : EMBRAPA, cap.9, p.175-197.

GRAVE, F. 2005. **Propagação vegetativa de *Luehea divaricata* via estaquia em 4 diferentes concentrações de AIB em diferentes épocas de coleta das estacas.** In: GRAVE, F. ESTUDOS DOS ASPECTOS REPRODUTIVOS EM *LUEHEA DIVARICATA* MARTIUS (AÇOITA-CAVALO). Universidade Federal de Santa Maria. Dissertação de Mestrado. Santa Maria, RS. p. 6 – 46.

GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M. A. 1990. **Micropropagação.** In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. TÉCNICAS E APLICAÇÕES DA CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq, p.99-169.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. 1990. **Propagacion de plantas: principios y practicas.** México: Continental, 760 p.

- HARTMANN, H. T., KESTER, D. E., DAVIES JUNIOR, F. T., GENEVE, R. L. 1997. **Plant propagation: principles and practices**. 6. Ed. New Jersey : Prentice-Hall, 770 p.
- HINOJOSA, G. F. 2000. **Auxinas**. In: \_\_\_\_\_. **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 15–53.
- HU, C.Y., FERREIRA, A.G. 1998. **Cultura de embriões**. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq. p.371-393.
- JESUS, A. M. S., PASQUAL, M., DUTRA, L. F., CHAGAS, E. A. 2003. **Cultivo in vitro de embriões zigóticos de *Jatropha***. Revista Ceres, v.50, p. 183-189.
- KRIVANKOVA, B.; POLESNY, Z.; LOJKA, B.; LOJKOVA, J.; BANOUT, J.; PREININGER, D. 2007. **Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae): A Promising Oilseed Crop from Peruvian Amazon**. Resumo: Tropentag. Utilisation of diversity in land use systems: Sustainable and organic approaches to meet human needs. p.9-11.
- LIONAKIS, S. M. 1981. **Physiological studies of growth and dormancy of the kiwifruit plant (*Actinidia chinensis* Planch)**. London, Thesis (Ph.D.) – University of London, 381p.
- MACBRIDE, J.F. 1951. **Euphorbiaceae, Flora of Peru**. Field Museum of Natural History. Botanical series. vol. 13, n.3A/1, p. 3 – 200.
- MAYER, N. A.; PEREIRA, F. M. 2003. **Enraizamento de estacas herbáceas de quatro clones de umezeiro (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) durante o inverno ameno, em Jaboticabal-SP**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 505-507.
- MINDÉLLO NETO, U.R.; BALBINOT JÚNIOR, A.A. 2004. **Enraizamento de estacas herbáceas de pessegueiro, cultivar Jubileu, com imersão rápida em AIB**. Agropecuária Catarinense, Florianópolis, v.17, n.3, p.88-90.
- NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. 1998. **Germinação de sementes de amendoim – do campo (*Pterogyne nitens*) influência dos tratamentos para superar a dormência e profundidade de semeadura**. Revista Brasileira de Sementes.
- NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. 2010. **A importância dos ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 para a prevenção de doenças e na saúde humana**. Revista Salus, v.2, p.77-87.
- OLIVEIRA, S.A.G.; LOPES, M. T. G, CHAVES, F.C.M, MARTINS, C.C., ALVES, E. U. 2013. **Estimation of generic parameters of *Plukenetia volubilis* L. seed germination**. Revista de Ciências Agrárias/ Amazonian Journal of Agricultural and Environment Sciences. v. 56, p. 49-54.
- OLIVEIRA, M.C. DE; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. DA S.; REZENDE, M. E. 2001. **Enraizamento de estacas para a produção de mudas de espécies nativas de matas**

**de galeria.** Brasília: EMBRAPA Cerrados. (Recomendação Técnica n.41). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/566480>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. 1996. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares.** Botucatu: Unesp/Funep, 83p.

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

PASQUAL, M.; LOPES, P.A. 1991. **Efeitos da concentração e tempo de incubação em ácido indolbutírico sobre o enraizamento e posterior desenvolvimento de brotos de *Pyrus calleryana* L. obtidos *in vitro*.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.26, n.7, p.975-980.

PERES, L.E.P.; KERBAUY, G.B. 2000. **Controle hormonal do desenvolvimento das raízes.** Universa, v.8. p.181-195.

SANTORO, P. H.; MIKAMI, A. Y.; SOUZA, S. G. H. DE; ROBERTO, S. R. 2010. **Influência de folhas e lesões na base de estacas herbáceas no enraizamento de goiabeira da seleção 8501-9.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 2, p. 289-294.

SPERA, M.R.N. 1995. **Propagação *in vitro* de *Jatropha podagrica* Hook.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 78p.

STANLEY, R.G.; LINSKENS, H. F. 1974. **Pollen biology biochemistry marnagement.** Berlin: Springer-Verlag, 307p.

TOSTA, M. S.; OLIVEIRA, C. V. F. DE; FREITAS, R. M. O. DE; PORTO, V. C. N.; NOGUEIRA, N. W.; TOSTA, P. DE A. F. 2012. **Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de cajaraneira. (*Spondias sp*).** Semina: Ciências Agrárias, v. 33, p. 2727-2740, Suplemento.

WEAVER, R.J. 1982. **Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura.** 2. ed. Barcelona: Trillas, 540p.

WENDLING, I. 2003. **Propagação vegetativa.** I Semana de estudo universitário – Florestas e meio ambiente. Embrapa Florestas.

XAVIER, A. 2002. **Silvicultura Clonal I – Princípios e Técnicas de Propagação Vegetativa.** Viçosa: UFV, v. 92, 64p. (Caderno Didático).

## Capítulo 1

---

Germinação *in vitro* e morfometria de sementes de sachá inchi.

## Germinação *in vitro* e Morfometria de sementes de sachá inchi

Arthur Antunes de Souza Cardoso<sup>1,4</sup>; Maria Teresa Gomes Lopes<sup>2</sup>; Francisco Célio Maia Chaves<sup>3</sup>;

<sup>1</sup> Doutorando em Agronomia Tropical (Produção vegetal)

<sup>1,2</sup> Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, Departamento de Produção Animal e Vegetal, Av. General Rodrigo Otávio, Coroado, Manaus, AM, Brasil.

<sup>3</sup> Embrapa Amazônia Ocidental, km 29, Manaus, AM.

<sup>4</sup> Autor para correspondência: Arthur\_cardoso29@yahoo.com.br

### Resumo:

Sachá inchi, por ser uma espécie nativa da Amazônia, nutracêutica e oleagionosa, tornou-se uma alternativa para a agricultura na região. A espécie é pouco estudada e informações sobre a sua germinação *in vitro*, biometria de sementes e processos germinativos podem auxiliar na produção de mudas. O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor concentração de sacarose em meio de cultura, bem como mensurar e descrever os caracteres morfológicos e o processo germinativo da semente de sachá inchi. As sementes foram provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Ocidental, e as concentrações de sacarose foram de 0; 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0 %, o delineamento foi o blocos casualizado com 4 repetições e 15 plantas como unidade amostral. Foram avaliados: comprimento, largura, espessura e peso de mil sementes, além da descrição do processo germinativo das sementes de sachá inchi. Os resultados mostraram que o tratamento sem adição de sacarose obteve o percentual em torno de 70 %, significativamente superior aos demais tratamentos, sugerindo que a sacarose interferiu no potencial osmótico do meio de cultura e, consequentemente, na disponibilidade de água para o processo de embebição da semente na germinação. As sementes são lenticuladas, endospermicas com suaves estrias, a biometria obteve as seguintes médias : 17,45; 15,05 e 8,18 mm para comprimento, largura e espessura, respectivamente, e massa de 0,867 g/sementes. A germinação é do tipo epígea, com embrião foliáceo, em que dois dias após o entumescimento da semente ocorre a protusão da radícula com o rompimento do tegumento e posterior desenvolvimento da raiz. O hipocótilo se desenvolve simultaneamente à formação das raízes. A partir do oitavo dia ocorre o desprendimento do tegumento e entre o 12º e 15º dia ocorre a degradação total do endosperma, e posterior desenvolvimento das folhas cotiledonares e da região do epicótilo. Todo processo germinativo durou entre 20 a 25 dias, finalizando com a formação da plântula.

**Palavras-chave:** 1.Sacarose, 2.Biometria, 3. Plântula

## **Germination in vitro and morphometry of sacha inchi seeds**

The Sacha inchi, due to its potential in the production of unsaturated fatty acids, especially omega 3 and 6, and for being a native species, it is an alternative to agriculture in the region. In search of new information related to the species, such as in vitro germination, seed biometry and germination processes that can assist in the production of seedlings, therefore, this study aims to determine the optimal concentration of sucrose in the culture medium, and how to measure and describe the morphological and the germination process of sacha inchi seed. The seeds were from the germplasm bank of Embrapa Western Amazon, and sucrose concentrations were 0; 1.5; 3.0; 4.5 and 6.0%, the design was a randomized block with four replications and 15 plants as sample unit also evaluated the length, width, thickness and weight of a thousand seeds, beyond the description of the germination of seed sacha inchi. The results showed that without the addition of sucrose treatment obtained the percentage of around 70%, significantly higher than others, suggesting that sucrose interfere with the osmotic potential of the culture medium and, consequently, the availability of water for the process of imbibition seed germination. The seeds are lenticuladas, endosperm with soft streaks, biometrics obtained the following averages: 17.45; 15.05 and 8.18 mm for length, width and thickness, respectively, and mass of 0.867 g / seeds. Germination is the epigeal, with pemphigus embryo, wherein two days after the seed swelling occurs radicle protrusion with the integument disruption and subsequent root development. The hypocotyl develops to the formation of roots. From the eighth day is the detachment of the seed coat and between the 12th and 15th day is total degradation of the endosperm, and further development of the cotyledons and epicotyl region. All germination process lasted between 20 to 25 days, ending with the formation of seedling.

**Key words:** 1.Sucrose, 2. Biometrics, 3. Seedling

## INTRODUÇÃO

A *Plukenetia volubilis* Linneo é uma planta nativa da Amazônia, com centro de origem no Peru, Colômbia, Venezuela e Brasil. Os incas usaram a espécie na alimentação a milhares de anos atrás, tendo iniciado o processo de domesticação e agricultura.

A planta é uma trepadeira da família das Euforbiáceas conhecida comumente como sacha inchi (BORDIGNON et al., 2012). É rica em óleos insaturados, ácido graxo  $\alpha$ -linolénico (omega-3) e linoleico (omega-6), que são ácidos graxos essenciais e não são sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a sua ingestão, consequentemente, a espécie possui grande potencial para aplicações nas indústrias alimentar e farmacêutica (KRIVANKOVA et al., 2007). Vale ressaltar que outras espécies pertencentes à família são ótimos exemplares da alta capacidade de obtenção de óleo, através da matéria orgânica, para a produção de biodiesel, destacando o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) e a mamona (*Ricinus communis* L.) (SANTOS et al., 2011).

*Plukenetia volubilis* destaca-se pelo fácil cultivo, e boa produção de frutos e sementes para extração de óleo, porém pesquisas relacionadas à germinação, biometria de sementes e processos germinativos da espécie podem auxiliar na produção de mudas. NUNES (2007) demonstrou a importância do conhecimento sobre a biometria, processo germinativo e desenvolvimento de plântulas de *Jatropha curcas* L. (pinhão manso) para estudos de identificação da espécie nos estágios iniciais.

A germinação *in vitro*, segundo GOMES (1999), pode fornecer explantes livres de contaminações que muitas vezes são difíceis de serem obtidos nos cultivos tradicionais. E durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de culturas não exercem apenas efeito nutritivo, mas influenciam o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas. Porém, dependendo da

espécie, não há necessidade de suplementação do meio com sacarose (SOUZA, 2003), ao mesmo tempo especula-se que a adição de sacarose ao meio de cultura favoreça a manutenção das plântulas *in vitro* por mais tempo. Alguns autores como PEREIRA et al. (2006) e BRAUN et al. (2010), verificaram que embriões de murmuru, em estágio maduro, e sementes de beterraba, respectivamente, necessitam de até 15g/L no meio de cultura para aumentar a taxa de germinação. Estudos sobre a demanda por sacarose podem contribuir para maior conhecimento sobre o status nutricional e de maturação dos embriões e fornecer subsídios para entendimento do processo germinativo.

A biometria da semente está relacionada às características da dispersão e do estabelecimento de plântulas, sendo também utilizada para diferenciar espécies pioneiras e não pioneiras (CRUZ et al., 2001). Trabalhos têm demonstrado a importância da biometria na diferenciação de gêneros e espécies (CARPANEZZI e MARQUES, 1981; FONTENELLE et al., 2007). Dessa forma, o peso específico e o tamanho das sementes, em muitas espécies, são indicativos de sua qualidade fisiológica. Dentro do mesmo lote, as sementes leves e pequenas podem apresentar menores percentuais de germinação e vigor em relação às sementes mais pesadas e de tamanho superior. O conhecimento da biometria das sementes é essencial para o desenvolvimento de máquinas agrícolas eficientes e para o dimensionamento de instalações destinadas ao armazenamento da produção (FERNANDES et al., 2009), além disso, estudos envolvendo análises morfológicas de sementes podem auxiliar no entendimento do processo de germinação e na caracterização do vigor e da viabilidade da cultura (MATHEUS e LOPES, 2007).

PINHEIRO (1986) descreve, que em geral, que é difícil a identificação de plântulas no estágio inicial, pois essas características morfológicas iniciais podem diferir daqueles observados no indivíduo adulto. Além do que, espécies e gêneros afins,

que normalmente, são semelhantes morfológicamente, dificulta ainda mais a identificação. Para DAMIAO FILHO (1993), a interpretação das estruturas da planta jovem é de fundamental importância, quando se faz necessária à mensuração dos diferentes estágios de crescimento da planta.

GUERRA et al. (2006) reforça que entre os diversos procedimentos adotados para a caracterização de uma espécie vegetal, destaca-se a diagnose morfológica. O estudo da morfologia de frutos, sementes e plântulas nos estágios iniciais de desenvolvimento contribui para melhorar o conhecimento do processo reprodutivo das espécies vegetais e dá subsídio para a produção de mudas, além de ser fundamental à compreensão do processo de estabelecimento da planta em condições naturais.

As obtenções de dimensões de frutos e sementes podem ser informações importantes para a diferenciação de espécies do mesmo gênero, e segundo VIEIRA E GUSMÃO (2008), esses dados de biometria de frutos e sementes podem ser utilizados em programas de melhoramento genético servindo de subsídio para avaliação da variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie. As relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais, bem como para a conservação e exploração dos recursos de valor econômico.

Mediante a importância alimentícia, farmacológica e econômica da espécie, e da necessidade de produção de mudas de qualidade, torna-se necessário um maior conhecimento fisiológico da espécie. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar a melhor concentração de sacarose, bem como mensurar e descrever os caracteres morfológicos da semente e do processo germinativo *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no município de Manaus, Estado do Amazonas. O material vegetal foi coletado de plantas matrizes selecionadas de *P. volubilis* pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma, localizado no Setor de Plantas Medicinais da mesma empresa.

### Germinação *in vitro* de sasha inchi

Os frutos maduros de coloração marrom escuro foram coletados de plantas matrizes selecionadas e beneficiados no Laboratório de Plantas Medicinais da Embrapa Amazônia Ocidental, sendo descartadas as sementes defeituosas e com perfurações.

Após o beneficiamento, as sementes foram lavadas em água e detergente neutro e submetidas à desinfestação, que foi de 30 minutos em hipoclorito de sódio 2,5% de cloro ativo, posteriormente, retiradas os tegumentos e mais 5 minutos em hipoclorito de sódio 2,5% de cloro ativo. Decorrido esse período as sementes foram lavadas com água deionizada e seguiram-se as práticas de inoculação de semente em meio de cultura para germinação.

Em seguida foram inoculadas, em capela de fluxo laminar, em frascos de vidro (250ml) vedados com tampas de polietileno contendo 30 ml de meio MS (MURASHIGUE e SKOOG, 1962) com concentração original de sais, vitaminas de MS, suplementado com sacarose e geleificado com 6,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado a 5,8, previamente autoclavados à 121°C por 15 minutos e 1,3 atm de pressão. Os tratamentos avaliados foram as diferentes concentrações de sacarose, sendo as dosagens as seguintes: 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0% e mais o tratamento controle sem adição de sacarose.

Após inoculação em meio de cultura, os frascos foram conduzidos à sala de crescimento com temperatura de  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de 70%, luminosidade de  $52 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  de irradiância e fotoperíodo de 16 horas/luz.

Foram avaliadas ao final de 30 dias o percentual de sementes germinadas completas com desenvolvimento de raízes e parte aérea com início de brotações, e sementes que germinaram apenas inicialmente com o prolongamento da radícula, não passando deste estágio de crescimento.

Os valores obtidos das variáveis foram transformados pela função  $\sqrt{x + 0,5}$ , onde x é o valor observado. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, com quatro repetições e 15 unidades amostrais para cada repetição. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância para a comparação das médias dos tratamentos.

#### Biometria das sementes

Os frutos foram colocados em bandejas plásticas para a secagem em ambiente de laboratório por um período médio de 48 horas, onde os frutos sofriam uma ruptura natural à medida que secavam, e posteriormente as sementes eram retiradas e armazenadas em sacos plásticos e colocados em local adequado para armazenamento.

Foram escolhidas, aleatoriamente, 100 sementes nas quais foram realizadas medições das seguintes características morfológicas: aspectos externos (envoltórios, textura, forma, posição do hilo, micrópila e rafe), aspectos internos (endosperma, embrião-cotilédone, eixo hipocótilo-radícula, tipo e forma), e biometria (comprimento, largura, espessura e peso fresco de 1000 sementes para determinação da pureza física).

O peso de mil sementes foi determinado a partir da contagem de oito subamostras de 100 sementes tomadas ao acaso, sendo os valores expressos em gramas,

conforme BRASIL, (2009). Comprimento, largura e espessura de 200 sementes foram determinados com auxílio de paquímetro digital (0,01 mm) e a massa individual das sementes foi determinada por meio de balança de precisão (0,0001 g). Considerou-se como comprimento a região compreendida entre a porção basal e a apical da semente e a largura e a espessura foram tomadas na parte intermediária da semente. As características morfológicas da semente foram descritas de acordo com BARROSO et al. (1999).

#### Descrição da germinação

Para facilitar a interpretação do teste de germinação, as estruturas das sementes foram descritas com auxílio de lupa (4x). A descrição envolveu características externas (dimensões, cor, textura, consistência, forma e posição do hilo e da micrópila) e internas das sementes através de cortes longitudinais e transversais com lâminas (presença ou ausência de endosperma, tipo, forma, cor e posição dos cotilédones, do eixo hipocótilo-radícula e da plúmula em relação à semente) de acordo com NASSIF e PEREZ (2000), MACHADO (2002), ABREU et al. (2005).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Germinação *in vitro* de sasha inchi

O percentual de germinação foi influenciado significativamente pela adição de sacarose (Figura 1). O tratamento sem adição de sacarose obteve maiores percentuais de germinação e desenvolvimento completo de plântulas (em torno de 70% de germinação), demonstrando que a presença de maior concentração de sais no meio de cultura interferiu no potencial osmótico e, conseqüentemente, na disponibilidade de água para o processo de embebição da semente na germinação. Tais constatações, provavelmente, devem-se ao fato de que a semente já possua em sua reserva nutritiva um teor de sacarose que lhe permita a emissão da plúmula e da radícula. Adicionalmente, a maior concentração de sacarose presente no meio extracelular pode ter provocado maior perda de água devido à pressão osmótica exercida sobre a semente. NETO E OTONI (2003) confirmam que a contribuição osmótica da fonte de carbono (sacarose) tem relação inversa com a concentração da fonte de carbono.

Este fato também é confirmado por GEORGE (1993), em que há diminuição da percentagem de germinação com o aumento da concentração de sacarose, visto que concentrações elevadas de sacarose fazem com que o meio de cultura não possua água disponível para a embebição das sementes, impossibilitando o início do processo de germinação.

Mesmo com trabalhos reduzidos em cultura de tecidos vegetais, algumas Euforbiáceas apresentam resposta positiva à incorporação de aditivos ao meio de cultivo. É o caso de trabalhos de suplementação dos meios de cultura com fontes exógenas de carboidratos, que favorecem a germinação *in vitro* de *Jatropha curcas* em frutos imaturos (NUNES et al., 2008). Essa suplementação é importante tanto para maximizar a taxa de germinação dessa espécie quanto para obter plântulas com elevado

potencial fisiológico para serem utilizadas como fonte de explante, em estudos sobre embriogênese somática ou organogênese. Para várias espécies perenes, inclusive algumas da família Euphorbiaceae, como *Jatropha podagrica* (JESUS et al., 2003), foi possível estabelecer protocolos de germinação *in vitro* de embriões zigóticos. LOPES et al. (2012) avaliou diferentes concentrações de sacarose para germinação de pinhão manso (*Jatropha curcas*), e obteve melhores respostas nas concentrações de 1,5 a 3% de adição de sacarose no meio.

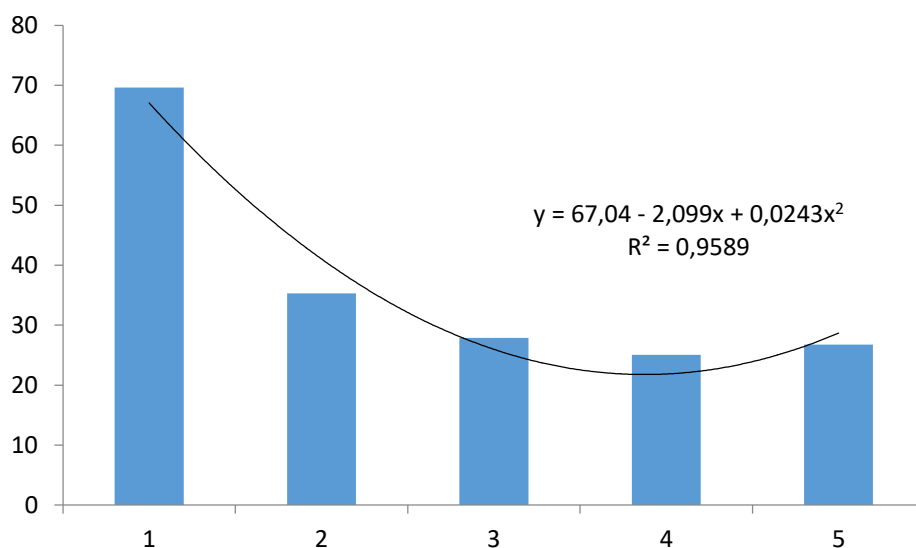


Figura 1. Percentual de germinação de sachá inchi (eixo y) sob o efeito de diferentes concentrações de sacarose. T1 = tratamento controle; T2 = 1,5 % de sacarose; T3 = 3,0% de sacarose; T4 = 4,5% de sacarose; T5 = 6,0% de sacarose (eixo x).

Diferentemente do encontrado na presente pesquisa, YAMADA e SATO (1978) relataram ser essencial à presença da sacarose no crescimento das culturas *in vitro*, mas o seu excesso pode ser prejudicial, pelo efeito inibitório na síntese de clorofila, que reduz a capacidade fotossintética dos tecidos. No desenvolvimento de plântulas *in vitro*, SPERA (1995) trabalhou com *Jatropha podagrica* Hook. e verificou que concentrações de sacarose até 3% foram suficientes para o bom desenvolvimento do material estudado.

Os resultados diversos evidenciam a importância da realização de mais estudos da curva de resposta, em função do aumento da concentração de sacarose para o *sacha inchi*, assim como para outras espécies de interesse.

Apesar da espécie se propagar, geralmente por via seminal, o que ocasiona um plantio desuniforme e dificulta a expansão das áreas de plantio (CÉSPEDES, 2006). A propagação *in vitro* pode ser essencial para o desenvolvimento da cultura. É clara a existência de grandes desafios para que a *sacha inchi* possa se tornar viável para o cultivo em larga escala e produção de óleos. Assim, a biotecnologia, aliada a programas de melhoramento, poderá auxiliar no desenvolvimento de cultivares agronômicas e na produção comercial de mudas com alta qualidade fitossanitária em menor período de tempo. Assim, é importante conhecer os fatores que afetam a germinação de sementes de cada espécie para se obter sucesso no processo de estabelecimento de plântulas *in vitro*.

#### Aspectos morfológicos da semente

A semente de *Plukenetia volubilis* apresenta forma lenticulada, comprimida lateralmente, de dorso convexo, endospermica, de envoltório liso, coloração marrom, marcadas por suaves estrias, sendo mais evidenciada quando as sementes encontram-se úmidas. A rafe é pouco evidente, e não há presença de carúncula, estrutura comum em algumas euforbiáceas, tais como a mamona.

Na parte interna aos tegumentos encontra-se um endosperma de coloração branca a creme, tenro e rico em óleo. O embrião possui dois cotilédones foliáceos, muito largos, porém, pouco espessos. O contorno dos cotilédones é ovalado a reniforme, com as nervuras bem visíveis, contendo também o eixo hipocótilo-radícula de forma cilíndrica e reta (Figura 2).

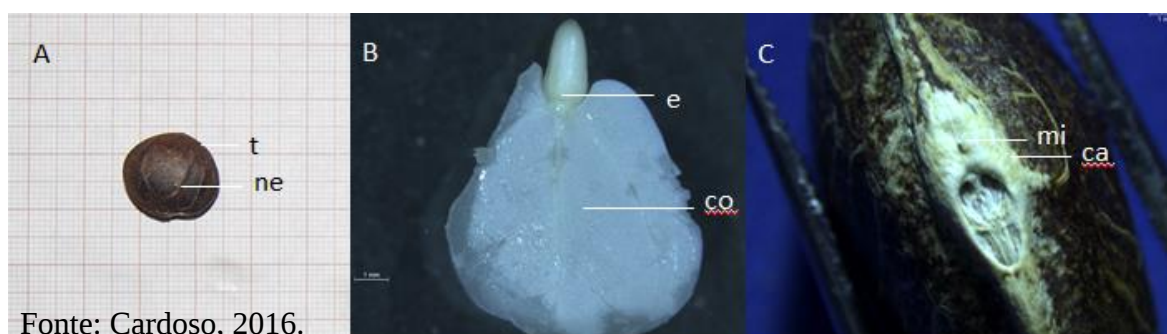


Figura 2. Aspectos morfológicos de sementes de *Plukenetia volubilis*. A) semente (**t**-tegumento, **ne**-nervura); B) embrião foliáceo (**e**-eixo embrionário, **co**-cotilédone); C) detalhe da semente (**mi**-micrópila, **ca**-carúncula)

Quanto à biometria das sementes de sachá inchi (Tabela 1), observou-se que o comprimento médio de 17,45mm (variando de 13,28 a 20,30 mm), largura média de 15,05 mm (variando de 11,94 a 17,71 mm), e espessura média de 8,18 mm (variando de 6,58 a 9,83 mm). O peso médio de 1000 sementes foi de 0,812 kg, sendo o peso de cada semente variando de 0,752 a 0,867 g.

**Tabela 1.** Valores médios de comprimento, largura, espessura e peso de sementes de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

| Variáveis             | Média | Desvio padrão | CV (%) | mínimo | Máximo |
|-----------------------|-------|---------------|--------|--------|--------|
| Comprimento (mm)      | 17,45 | ±1,31         | 7,51   | 13,28  | 20,30  |
| Largura (mm)          | 15,05 | ±1,14         | 7,57   | 11,94  | 17,71  |
| Espessura (mm)        | 8,18  | ±0,65         | 8,00   | 6,58   | 9,83   |
| Massa de sementes (g) | 0,812 | ±0,036        | 4,44   | 0,752  | 0,867  |

As sementes tem formato lenticular e permanecem dentro dos lóculos das cápsulas, e segundo CAI (2011) apresenta sementes com largura variando entre 15 a 20 mm e 7 a 8 mm de espessura, além de peso de cada semente podendo variar de 0,8 a 1,4g com percentual de 33 a 35% de casca e 65 a 67% da amêndoa. De maneira similar KRIVANKOVA et al. (2007) apresentou peso de sementes variando entre 0,8 a 1,4 g e contendo em torno de 54% de óleos e 27% de proteínas, e com elevados níveis de

ácidos graxos  $\alpha$ -linolénico (omega-3) e linoleico (omega-6). Os valores obtidos no presente estudo estão dentro da faixa encontrado pelos autores acima citados.

Outras espécies pertencente à família das euforbiáceas, tais como a mamona (*Ricinus communis* L.) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), e com grande potencial na extração de óleo apresentam as seguintes dimensões e massas médias: comprimento 16,31 e 18,09 mm; largura 14,17 e 10,85 mm; espessura 6,50 e 8,64 mm; e massa 0,452 e 0,694 g, respectivamente (VASCONCELOS et al., 2010; SANTOS et al., 2011; EICHOLZ e SILVA, 2011).

OLIVEIRA e PEREIRA (1987) afirmam que estudos sobre a morfologia de sementes são necessários devido à importância dessas estruturas na identificação botânica. DAMIÃO FILHO (1993) relata que a forma dos cotilédones também auxilia na identificação da plântula, mesmo sendo muito variada, mas, constante para cada espécie e/ou até para gêneros de plantas. E segundo FERRI (1983), cotilédones foliáceos podem funcionar como órgãos de reserva por um tempo, sendo esta particularidade encontrada no albúmen ou endosperma, ao redor do embrião.

#### Descrição da germinação de sasha inchi

A germinação é um processo que, como todos os outros biológicos, consome energia. A energia utilizada na germinação é proveniente da degradação de substâncias de reserva da própria semente, utilizando o oxigênio para “queimar” esses produtos. Em outras palavras, a germinação faz uso da energia proveniente da respiração, e como uma semente, por mais baixo que seja seu teor de água, nunca deixa de respirar, pode-se, então, dizer que o processo maturação/germinação é ininterrupto; o que ocorre entre essas duas etapas aparentemente distintas é apenas uma redução da intensidade do

fenômeno a tal ponto que parece nada estar ocorrendo (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

A germinação das sementes de sachá inchi é epígea, do tipo fanerocotiledonar, no qual a parte aérea é elevada para fora do substrato envolvida ainda pelos cotilédones, num mecanismo rápido e vigoroso de crescimento inicial do eixo hipocótilo-radicular, ao passo que o epicótilo e as folhas primárias, no interior dos cotilédones, praticamente não crescem. Posteriormente, à medida que o eixo hipocótilo-radicular cresce, forma-se, próximo do nó cotiledonar, uma alça, que é a primeira parte da plântula a atingir a superfície do substrato. Essa alça fica ereta assim que a plântula prossegue seu desenvolvimento. Em uma extremidade desta alça está o sistema radicular, crescendo ativamente; na outra, estão os cotilédones, trazendo, em seu interior o epicótilo e a plúmula. Posteriormente esta alça eleva os cotilédones acima do nível do substrato, e conseqüentemente há um maior desenvolvimento do epicótilo em relação ao hipocótilo, originando a parte aérea (Figura 3, 4).



Figura 3. Aspecto morfológico da germinação de sachá inchi, do 2º ao 8º dia de semeadura



Figura 4. Aspecto da germinação de sachá inchi do 10º ao 20º dia de semeadura.

O processo de germinação de *sacha inchi* inicia-se com a embebição da semente, que proporciona um aumento de volume após 2 dias de contato com substrato umedecido, com posterior ruptura do tegumento e surgimento da radícula próximo a região micropilar e consequente desenvolvimento da raiz. Posteriormente, quatro a cinco raízes são formadas, sendo uma central e as outras periféricas, sendo que estas últimas desenvolvem-se a partir do colo.

A raiz central é curta, espessa, glabra e de coloração verde-clara e demonstra rápido desenvolvimento, forma cilíndrica, tenra, esbranquiçada e, à medida que ocorre seu alongamento, a base torna-se mais espessa, afunilando-se em direção a coifa de coloração mais clara. As raízes periféricas apresentam características semelhantemente à raiz central. O coleto é bem definido pela diferença de cor e a dilatação que ocorre entre hipocótilo e as raízes.

O hipocótilo desenvolve-se simultaneamente à formação do sistema radicular, sendo tenro, glabro, espesso na inserção com as raízes e tendendo a afinar-se em direção da inserção com os cotilédones. Os cotilédones são envolvidos inteiramente pelo endosperma (Figura 3). Em torno do 8º dia após a semeadura ocorre o desprendimento do tegumento entre o 12º e 15º dia ocorre a degradação total do endosperma, e posteriormente o desenvolvimento das folhas cotiledonares, onde as mesmas encontram-se totalmente expandidas. A duração do processo germinativo nas condições estudadas variou entre 20 a 25 dias. Espécie como *pinhão manso* obteve o processo germinativo entre 15 e 30 dias (NUNES, 2007), estando a *sacha inchi* dentro da faixa encontrada para outras espécies da mesma família.

## CONCLUSÕES

Tratamento sem a adição de sacarose permitiu a obtenção de maiores índices de germinação *in vitro* para sachá inchi.

As sementes de sachá inchi são lenticuladas, endospermicas de envoltório liso, com suaves estrias e o embrião é composto por um par de cotilédones foliáceos, esbranquiçados e com eixo hipocótilo radícula, cilíndrico e reto.

Possui germinação do tipo epígea.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; KUNIYOSHI, Y. S.; NOGUEIRA, A. C.; MEDEIROS, A. C. S. 2005. **Caracterização morfológica de frutos, sementes e germinação de *Allophylus edulis***. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 27, n. 2, p. 59-66.
- BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. 1999. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 443 p.
- BORDIGNON, S.R.; AMBROSANO, G.M.B.; RODRIGUES, P.H.V. 2012. **Propagação *in vitro* de *Sacha inchi***. Ciência Rural, Santa Maria, vol.42, n.7.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2009. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 395p. <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Laborat%C3%B3rio/Sementes/Regras%20para%20Análise%20de%20Sementes.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Laborat%C3%B3rio/Sementes/Regras%20para%20Análise%20de%20Sementes.pdf)> Acesso em: 18 de janeiro de 2016.
- BRAUN, H.; LOPES, J. C.; SOUZA, L. T. ; SCHMILDT, E. R. ; CAVATTE, R. P. Q. ; CAVATTE, P. C. 2010. **Germinação *in vitro* de sementes de beterraba tratadas com ácido giberélico em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura**. Ciências Agrárias, Londrina. vol. 31, n. 3, p. 539 – 546.
- CARPANEZZI, A.A.; MARQUES, L.C.T. 1981. **Germinação de sementes de jutaí-açu (*Hymenaea courbaril* L.) e de jutaí-mirim (*H. parvifolia* Huber) esclarificadas com ácido sulfúrico comercial**. Embrapa – CPATU, Belém, (Circular Técnica 19).
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. 2012. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. FUNEP: Jaboticabal, 590p.
- CÉSPEDES, I. E. I. M. 2006. **Situación y avances Del cultivo de *sacha inchi* em El Peru**. Cultivo de *sacha inchi* in Dirección de Investigacion Agraria. INIA Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, Estacion Experimental Agrária “El Povenir” – Tarapoto..
- CRUZ, E.D.; MARTINS, F. O.; CARVALHO, J. E. U. de. 2001. **Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae - Caesalpinioideae)**. Revista Brasileira de Botânica, vol.24, n.2, p.161-165.
- DAMIÃO FILHO, C. F. 1993. **Morfologia vegetal**. Funep/Unesp, Jaboticabal.
- EICHOLZ, E. D.; SILVA, S. D. A. 2011. **Qualidade de sementes de mamona em função da época de semeadura e ordem de racemo**. Revista Brasileira de sementes, Pelotas-RS, vol. 33, n. 2 p. 261 – 271.

FERNANDES, J. D.; CHAAVES, L. H. G.; DANTAS, J. P.; SILVA, J. R. P. 2009. **Análise biométrica de frutos e grãos de pinhão manso cultivado sob diferentes fontes de adubação.** In: I Congresso Brasileiro de Pesquisas de Pinhão Manso, Brasília-DF, p.1 – 5.

FERRI, M. G. 1983. **Botânica: morfologia externa das plantas (organografia).** 15.ed. São Paulo: Nobel, 149p.

FONTENELLE, A. C. F.; ARAGÃO, W. M.; RANGEL, J. H. A. 2007. **Biometria de frutos e sementes de *Desmanthus virgatus* (L) Willd Nativas de Sergipe.** Revista Brasileira de Biociências (Nota Científica), v.5, n.1, p. 252-254.

GEORGE, E. F. 1993. **Plant propagation by tissue culture: part 1 – The technology.** 2 ed. Edington, Exegetics Limited, 1574 p.

GOMES, G. A. C. 1999. **Propagação *in vitro* de amoreira (*Maclura tinctoria*).** Dissertação (Mestrado), Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GUERRA, M. E. C.; MEDEIROS FILHO, S.; GALLÃO, M. I. 2006. **Morfologia de sementes, de plântulas e da germinação de *Copaifera langsdorfii* Desf. (Leguminosae Caesalpinioideae).** Cerne, v. 12, n. 04, p. 322-328.

JESUS, A. M. S.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F.; CHAGAS, E. A. 2006. **Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Jatropha*.** Revista Ceres, v.50, p.183-189.

KRIVANKOVA, B.; POLESNY, Z.; LOJKA, B.; LOJKOVA, J.; BANOUT, J.; PREININGER, D. 2007. **Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae): A Promising Oilseed Crop from Peruvian Amazon.** Resumo: Tropentag. Utilisation of diversity in land use systems: Sustainable and organic approaches to meet human needs. p.9-11.

LOPES, L. C.; MACHADO, I. S.; MAGOGA, E. C.; ANDRADE, J. G.; PENNA, H. C.; MORAES, L. E. F. 2012. **Cultura de embrião e indução de brotos *in vitro* para micropropagação do pinhão-manso.** Pesq. agropec. bras., Brasília, v.47, n.7, p.900-905.

MACHADO, C. F. 2002. **Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-x para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira branca (*Lithraea molleoides* (vell.) Engl.).** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior Luiz de Queiroz Piracicaba, Piracicaba, 51p.

MATHEUS, M. T.; LOPES, J.C. 2007. **Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L.** Revista Brasileira de Sementes, vol. 29, n.3, p.8-15.

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

NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. 2000. **Efeitos da temperatura na germinação de sementes de amendoindo-campo (*Pterogyne nitens* tul).** Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 22, n. 1, p. 1-6.

NETO, V.B. P.; OTONI, W. C. 2003. **Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?** Scientia Horticulturae, v. 97, p. 193-202.

NUNES, C. F. 2007. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.).** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 78p.

NUNES, C. F.; PASQUAL, M.; SANTOS, D. N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAÚJO, A. G. 2008. **Diferentes suplementos no cultivo in vitro de embriões de pinhão-manso.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.43, p.9-14.

OLIVEIRA, E. C.; PEREIRA, T. S. 1987. **Euphorbiaceae - Morfologia da germinação de algumas espécies.** Revista Brasileira de Sementes, v 9, p 9-51.

PEREIRA, J. E. S; MACIEL, T. M. S; COSTA, F. H. S.; PEREIRA, M. A. A. 2006. **Germinação in vitro de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*).** Ciênc. Agrotec., Lavras, v. 30, n. 2, p. 251 – 256.

PINHEIRO, A. L. 1986. **Estudos de características dendrológicas, anatômicas e taxonômicas de Meliaceae na microrregião de Viçosa.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 192p.

SANTOS, H. R. B.; RIBEIRO, M. S.; MEDEIROS, D. B.; NOGUEIRA, R. J. M. C. 2011. **Morfometria de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.).** Revista Scientia Plena, Pernambuco. v 8, n. 4, 4 p.

SOUZA, A. V. 2003. **Propagação in vitro e aspectos anatômicos de arnica *Lychnophora pinaster* (Mart.).** Dissertação (Mestrado) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SPERA, M.R.N. 1995. **Propagação in vitro de *Jatropha podagrica* Hook.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 78p.

VASCONCELOS, G. C. L.; MEDEIROS, K. A. A. L.; MEDEIROS, O. S.; RIBEIRO, V. V.; ARRIEL, N. H. C. 2010. **Qualidade fisiológica de sementes e**

**biometria de plântulas de mamona.** IV Congresso Brasileiro de Mamona, João Pessoa, p. 2144-2148.

VIEIRA, F. A.; GUSMÃO, E. 2008. **Biometria, armazenamento de sementes e emergência de plântulas de *Talisia esculenta* Radlk. (Sapindaceae).** Ciência Agrotécnica, Lavras, v.32, n.4, p.1073-1079.

YAMADA, Y.; SATO, F. 1978. **The photoautotrophic culture of chlorophyllous cells.** Plant and Cell Physiology, v.19, p.691-699.

## Capítulo 2

---

Enraizamento em estacas herbáceas de sasha inchi.

## Enraizamento em estacas herbáceas de sachá inchi

Arthur Antunes de Souza Cardoso<sup>1,4</sup>; Maria Teresa Gomes Lopes<sup>2</sup>; Francisco Célio Maia Chaves<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doutorando em Agronomia Tropical, Universidade Federal do Amazonas

<sup>1,2</sup> Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, Departamento de Produção Animal e Vegetal, Av. General Rodrigo Otávio, Coroado, Manaus, AM, Brasil.

<sup>3</sup> Embrapa Amazônia Ocidental, km 29, Manaus, AM.

<sup>4</sup> Autor para correspondência: Arthur\_cardoso29@yahoo.com.br

### Resumo:

O enraizamento adventício em estacas de sachá inchi pouco foi estudado, devido sua propagação ser principalmente por sementes, no entanto estudos de indução de raízes promovidas por reguladores de crescimento em estacas herbáceas de sachá inchi para as diferentes regiões da Amazônia devem ser exploradas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da utilização de AIB no enraizamento adventício de três tipos de estacas de sachá inchi. O experimento foi conduzido no delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial com 3x5 (três tipos de estacas (apical, mediana e basal) e cinco doses de AIB (0; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20 %), com 4 repetições e 10 estacas por parcela. Nas condições testadas, os três tipos de estacas de ramos de sachá inchi apresentam capacidade satisfatória de enraizamento adventício, sendo que as estacas apicais se mostraram mais eficientes para enraizamento em relação às demais com 67% de estacas enraizadas. As estacas também foram capazes de enraizar sem aplicação de AIB, porém o número de raízes por estacas e o comprimento destas raízes foram significativamente menor do que nas estacas tratadas. Dentre as concentrações testadas destacaram-se as doses de 0,10; 0,15 e 0,20 mg.L<sup>-1</sup> de AIB para a propagação vegetativa desta espécie, não havendo diferenças significativas para as variáveis avaliadas para estas concentrações.

**Palavras-chave:** 1. *Plukenetia volubilis*, 2. estaquia, 3. ácido indol-3-butírico.

### **Adventitious rooting in cuttings Sacha inchi**

The adventitious rooting in cuttings hoeing little inchi was studied because its spread is mainly by seed, but root induction studies promoted by growth regulators in softwood cuttings of sachá inchi to the different regions of the Amazon should be explored. This study aims to evaluate the effect of the use of IBA on the adventitious rooting of three types of hoeing stakes inchi. The experiment was conducted in the design of randomized blocks in a factorial design with 3x5 (three types of cuttings (apical, median and basal) and five doses of IBA (0, 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20 %), with 4 replications and 10 cuttings per plot. In the conditions tested, the three types of cuttings of hoeing branches inchi have satisfactory capacity of adventitious rooting and apical cuttings were more efficient for rooting compared to other 67 % of rooted cuttings. The cuttings were also able to take root without the application of AIB, but the number of roots of cutting and length of these roots were significantly lower than in the treated cuttings. Among the tested concentrations stood out the doses of 0, 10, 0.15 and 0.20 mg L<sup>-1</sup> IBA for vegetative propagation of this species, with no significant differences for the variables evaluated for these concentrations.

**Key words:** 1. *Plukenetia volubilis*, 2. cutting, 3. indole-3-butyric acid.

## INTRODUÇÃO

*Plukenetia volubilis* possui centro de origem e diversidade no Peru, Colômbia, Venezuela e Brasil. A planta era usada pelos povos incas, os quais também iniciaram o processo de domesticação desta espécie, assim como de muitas outras nativas da região. É uma trepadeira da família das Euforbiáceas conhecida comumente como sachá inchi (BORDIGNON et al., 2012).

Esta espécie é semi-perene, trepadora lenhosa que produz frutos contendo cápsulas com 3 a 5 cm de diâmetro, geralmente com quatro lóbulos, podendo variar de três a sete, contendo uma semente oleaginosa dentro de cada lóbulo. A sua semente contém elevado teor de óleo, 35 a 60% do peso da amêndoa, com predominância dos ácidos graxos insaturados  $\alpha$ -linolênico (ômega 3), linoleico (ômega 6) e oleico (ômega 9). O óleo extraído desta espécie apresenta aplicação nas indústrias alimentar e farmacêutica (KRIVANKOVA et al., 2007).

Os óleos essenciais presentes na sachá inchi (ômega 3, 6 e 9), não são sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a sua ingestão. Esses ácidos graxos essenciais, encontram-se principalmente na composição das células vegetais, sendo sua presença necessária na dieta humana, especialmente, em se tratando dos ácidos linoléico e o linolênico (NOVELLO et al., 2010). O óleo de sachá inchi é uma fonte significativa, principalmente de ômega-3 e ômega-6, sendo estes compostos importantes para a prevenção de doenças cardíacas, por possuir um efeito hipocolesterolêmico quando utilizado como suplemento (RODRIGUES, 2013).

Nos países Sul Americanos, como Colômbia, Equador e Peru, o cultivo de sachá inchi tem se intensificado pelo seu alto valor nutricional e conteúdo de ácidos graxos. Economicamente se constitui em uma alternativa de produção para mercados locais, nacional e principalmente internacionais (Europa, Estados Unidos e Japão), aos quais se

exporta para sua industrialização, permitindo desta maneira a geração de empregos na agricultura e agroindústria (ORLANDO, 2012).

O plantio da espécie vem se difundindo na região do Alto Solimões no estado do Amazonas e nas proximidades de Manaus em parte pela produção de sementes, mas também por apresenta características favoráveis ao reflorestamento e também para proteção de encostas contra a erosão, que poderá representar uma alternativa a áreas degradadas e a programas de agricultura familiar, já que a vida útil de seu cultivo é de aproximadamente 10 a 15 anos (BORDIGNON et al., 2012). Dada a importância do cultivo da espécie, torna-se necessário a seleção de material de propagação para incrementar a produção.

Um dos métodos de propagação que pode ser utilizado é a propagação vegetativa que, propicia a obtenção de plantas idênticas à planta matriz, a formação de plantios clonais de alta produtividade e uniformidade, a multiplicação de indivíduos selecionados quanto a resistentes a pragas e doenças, reduz a juvenilidade e aumenta o vigor na produção (TOSTA et al., 2012).

Embora os relatos de propagação vegetativa de *sacha inchi* seja relativamente recente, vários métodos têm sido desenvolvidos desde seu início. Atualmente, um dos principais métodos com potencial de utilização futura, em nível comercial é a estaquia, principalmente quando se trabalha com plantas nativas, para as quais existem poucos resultados de pesquisa (BORDIGNON et al., 2012; CACHIQUE, et al., 2013).

Neste método, o fator mais importante na produção das mudas a partir da estaca é o enraizamento, mais também estão relacionados os princípios anatômicos e fisiológicos inerentes a espécie avaliada. Segundo FACHINELLO et al. (2005), as raízes que são formadas em estacas derivam de uma resposta ao corte produzido, sendo assim, a desdiferenciação e a totipotência são fundamentais neste processo. O mesmo autor

define a dediferenciação como um processo aonde um tecido que já é diferenciado volta a possuir atividades meristemáticas originando, portanto um novo ponto decrescimento e define a totipotência como a capacidade em que uma célula possui em originar um novo indivíduo.

A interação entre fatores existentes nos tecidos e a translocação de determinadas substâncias encontradas tanto em folhas como em gemas, onde os reguladores vegetais, em especial a auxina, têm influência no processo de enraizamento também está ligada com a formação de raízes adventícias.

As auxinas podem ser obtidas através de substâncias químicas sintéticas e proporcionam o mesmo efeito como o AIB (ácido indolbutírico), induzindo a formação do sistema radicular, atuando em conjunto com carboidratos, compostos nitrogenados e vitaminas, além de promover o aumento da porcentagem e da qualidade das raízes, acelerar e uniformizar o enraizamento (OLIVEIRA et al., 2001). A partir do momento em que a auxina é aplicada na base da estaca ocorre um aumento de sua concentração, sendo assim, quando houver um balanço entre todos os fatores relacionados, haverá a indução de formação de raízes adventícias (FACHINELLO et al., 2005).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da utilização de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento adventício de três tipos de estacas de sachá inchi.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação com nebulização intermitente com temperatura de  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e 90% de umidade relativa, pertencente à Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no município de Manaus, Estado do Amazonas. Os ramos utilizados para a retirada de estacas foram coletados de plantas matrizes selecionadas de *P. volubilis* pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma, localizado no Setor de Plantas Medicinais da mesma empresa.

Os ramos foram coletados nas primeiras horas da manhã, sendo selecionados e cortados com tesouras de poda desinfetadas com álcool 96% aqueles mais vigorosos com 30 a 50 cm de comprimento, e transportados em caixa térmica com temperatura entre 14 e 16 °C, e assim evitar desidratação do material.

Os ramos foram divididos em três porções, apical, mediana e basal (Figura 5), das quais foram confeccionadas as estacas com 8 cm de comprimento com corte em bisel na base e reto no ápice, além da redução da área das folhas à metade na porção mediana e basal, e manutenção das folhas inteiras na porção apical. Durante o processo de confecção, as estacas foram mantidas em baldes com água, para evitar a desidratação.

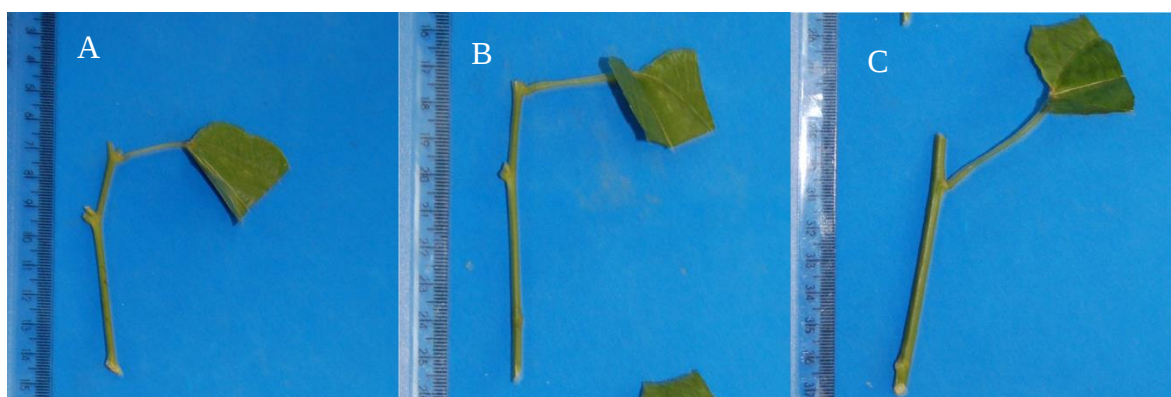


Figura 5. Tipos de estacas. A (apical); B (mediana); C (basal)

Seguido à limpeza e desinfecção, cerca de 1,0 cm da base das estacas foram mergulhadas por 10 segundos em solução hidroalcoólica a 50% (v/v) de ácido

indolbutírico (AIB) nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 mg. L<sup>-1</sup>. O tratamento testemunha consistiu somente na utilização de água e álcool (1:1), sem adição de AIB. Em seguida as estacas foram plantadas em tubetes contendo substrato areia e vermiculita na proporção 1:1.

O delineamento experimental adotado foi blocos ao acaso em esquema fatorial com 3x5 (três tipos de estacas e cinco concentrações de AIB), com quatro repetições e dez estacas por unidade experimental, totalizando 600 estacas.

Ao final de 30 dias foram avaliadas as seguintes variáveis:

- porcentagem de estacas com emissão de raízes adventícias – estacas vivas que apresentaram raízes de no mínimo 2mm de comprimento, podendo ou não apresentar calos;
- porcentagem de estacas com formação de calos – estacas vivas, sem raízes com formação de massa celular indiferenciada na base;
- número total raízes por estaca;
- comprimento da maior raiz por estaca (cm);
- Porcentagem de brotações – estacas vivas, com ou sem formação de raízes e calos, que apresentavam brotações de folhas novas;
- porcentagem de retenção foliar – estacas vivas, com ou sem formação de raízes e calos, que manteve a folha original no momento da instalação da estaquia;
- porcentagem de mortalidade – estacas que se encontravam com tecidos necrosados;
- Materia seca de raiz e parte aérea -

Anterior às análises estatísticas, os dados expressos em porcentagem foram transformados pela fórmula  $\arccos(\sqrt{x}/100)$  e então submetidos à análise de variância, sendo as médias com diferenças estatísticas pelo teste de F comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística apresentada na Tabela 2 revelou que não houve diferença significativa para as variáveis, ao nível de 5% de probabilidade, para a interação tipo de estaca (TE) e concentração de ácido indolbutírico (CAIB), demonstrando que os fatores testados foram independentes, com exceção da variável retenção foliar, onde houve significância para a interação.

**Tabela 2:** Porcentagem de retenção foliar, estacas enraizadas, sobrevivência, mortalidade e de brotação de estaca de *Plukenetia volubilis* L. em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (CAIB) e de acordo com o tipo de estacas (TE) utilizadas. Manaus, Amazonas, 2015.

| Amazônias, 2015.          |    |                 |                    |          |             |
|---------------------------|----|-----------------|--------------------|----------|-------------|
| Tratamento                |    | Retenção foliar | Estacas Enraizadas | Brotação | Mortalidade |
| Estacas                   |    | (%)             | (%)                | (%)      | (%)         |
| Apical                    |    | 51 a            | 67 a               | 13 a     | 33 a        |
| Mediana                   |    | 43 ab           | 53 b               | 21 a     | 44 a        |
| Basal                     |    | 38 b            | 51 b               | 19 a     | 46 a        |
| AIB (mg.L <sup>-1</sup> ) |    |                 |                    |          |             |
| 0                         |    | 39 a            | 60 a               | 30 a     | 34 a        |
| 0,05                      |    | 41 a            | 51 a               | 18 ab    | 45 a        |
| 0,1                       |    | 53 a            | 65 a               | 16 ab    | 34 a        |
| 0,15                      |    | 42 a            | 58 a               | 17 ab    | 43 a        |
| 0,2                       |    | 43 a            | 50 a               | 7 b      | 50 a        |
| Causa de Variação         | GL |                 |                    |          |             |
| TE                        | 2  | 4,0 *           | 5,7**              | 2,63 ns  | 3,36 ns     |
| CAIB                      | 4  | 1,5 ns          | 1,6 ns             | 6,9 **   | 2,45 ns     |
| TE x CAIB                 | 8  | 3,1 *           | 1,8 ns             | 0,8 ns   | 2,07 ns     |
| Bloco                     | 3  | 6,9 *           | 6,3 **             | 2,1 ns   | 6,15 **     |
| Resíduo                   | 42 |                 |                    |          |             |
| CV %                      |    | 25,3            | 20,8               | 47,8     | 28,2        |

\*\* = Significativo com  $p < 0,01$ ; \* = Significativo com  $p < 0,05$ ; n.s = No significativo com  $p = 0,05$  pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey.

Quanto a retenção foliar de estacas de sachá inchi, houve diferença significativa quanto ao tipo de estaca, porém as doses de AIB não influenciaram neste fator. Houve diferença estatística significativa na interação entre estes dois fatores, ou seja, pode-se afirmar que o fator B (concentração de AIB) influenciou o fator A (tipos de estacas).

Além das óbvias diferenças de idade das folhas e do grau de incidência de luz ao

longo do tempo, não há outra série de gradientes no teor de água, força, reservas, e outros que afetam diferencialmente as folhas e são responsáveis por essas diferenças na retenção foliar. Neste caso, aparentemente, por serem folhas mais velhas as estacas medianas e basais, e, possivelmente, combinando com todos os outros fatores mencionados acima, reduziu a capacidade das folhas permanecerem na estaca. Sendo assim, estacas de folhas apicais reteram o suficiente para afetar positivamente o enraizamento adventício.

Este presente estudo corroborou com dados obtidos por RUÍZ e MESÉN (2010) em que as estacas apicais de *sacha inchi* apresentaram menor porcentagem de perda de folhas com apenas 6,5% de desfolhação, sendo significativamente superior aos demais tipos de estacas. Ainda neste estudo, os autores afirmam que o número de raízes emitidas e a capacidade de reiniciar o crescimento da parte aérea são influenciados pela quantidade de reservas presente na estaca e a quantidade de assimilados produzidos pelas folhas.

Em relação aos tipos de estacas e as diferentes concentrações de AIB avaliadas, podemos verificar as diferenças significativas entre estas, sendo que a porcentagem de retenção foliar e de enraizamento das estacas apicais foi superior às estacas do tipo mediana e basal. Resultados semelhantes foram verificados por RUÍZ e MESÉN (2010) que obtiveram um enraizamento de 73,1% de estacas apicais produzidas em câmaras de subirrigação. Um fato relacionado ao enraizamento adventício de estacas é que dentro do balanço hormonal presente nos ramos das plantas quanto mais próximo das regiões apicais do ramos maior é a produção de auxinas, e conseqüentemente a indução maior de raízes em estacas oriundas desta parte do ramo.

A etapas de desenvolvimento das raízes adventícias seguiram o mesmo padrão descrito por HARTMAN et al., (2011), onde indicam que o desenvolvimento de raízes

adventícias seguem três etapas como: diferenciação celular seguida inchaço de células meristemáticas iniciais; a diferenciação desse grupo celular (meristemáticas) em primórdios da raiz reconhecida; e, crescimento e emergência das novas raízes, incluindo ruptura do tecido da estaca, e a conexão vascular com os tecidos condutores.

As porcentagens de brotações nas estacas obtidas com as concentrações de AIB apresentaram diferenças estatísticas significativas, porém da testemunha até a dosagem de  $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$  de AIB não diferiram estatisticamente, sendo apenas a concentração de  $0,20 \text{ mg.L}^{-1}$  de AIB inferior as demais, demonstrando que o regulador exerceu influência sobre esta variável.

A ausência de AIB ( $0 \text{ mg.L}^{-1}$ ) foi a que proporcionou uma maior taxa de brotação (30%). A ausência de uma fonte de auxina exógena em *sacha inchi* propiciou essa maior taxa de brotação e isso criou uma atração de assimilados para as brotações, este comportamento também foi observado por RUÍZ e MESÉN (2010) trabalhando com a mesma espécie.

A variável mortalidade não diferiu significativamente para nenhum dos fatores analisados isoladamente. No entanto, para esta variável, o trabalho como de CACHIQUE et al. (2011) obtiveram mortalidade que variou de 0 a 31,25% para *sacha inchi*, da mesma forma RUÍZ e MESÉN (2010) em trabalho com a mesma espécie não apresentaram diferenças significativas para este fator quando comparados aos tipos de dosagens de AIB (variou de 3,7 a 16% de mortalidade), porém o fator tipos de estacas significou estatisticamente sendo a estaca apical a que apresentou maior mortalidade (19,4%). Nestes dois trabalhos acima citados, foi considerada baixa a mortalidade quando comparados ao presente estudo que numericamente apresentou mortalidade variando de 33 a 50%. Um fator a ser considerado é que as condições ambientais deste trabalho foi realizado em casa de vegetação e os trabalhos citados utilizou-se câmaras

de subirrigação, que se torna mais fácil de manipular, e controlar os efeitos ambientais.

**Tabela 3:** Número de raízes por estaca, comprimento médio das raízes (cm), Massa seca (MS) da parte aérea e raízes por estaca (%) de *Plukenetia volubilis* L. em diferentes concentrações de AIB e de acordo com o tipo de estacas utilizadas. Manaus, AM, 2015.

| Tratamento                | Raízes/<br>Estaca | Comprimento de<br>raízes | MS aérea/<br>Estaca | MS raiz/<br>Estaca |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| Estacas                   | (Nº)              | (cm)                     | (g/kg)              | (g/kg)             |
| Apical                    | 12 a              | 6,1 a                    | 8,2 c               | 4,8 a              |
| Mediana                   | 11 ab             | 7,5 a                    | 11,1 b              | 5,5 a              |
| Basal                     | 9 b               | 7,2 a                    | 12,6 a              | 5,0 a              |
| AIB (mg.L <sup>-1</sup> ) |                   |                          |                     |                    |
| 0                         | 5 c               | 7,6 a                    | 10,7 a              | 2,3 b              |
| 0,05                      | 9 b               | 6,8 a                    | 11,2 a              | 4,9 ab             |
| 0,1                       | 12 ab             | 7,6 a                    | 10,0 a              | 5,8 a              |
| 0,15                      | 13 a              | 7,1 a                    | 10,1 a              | 7,0 a              |
| 0,2                       | 14 a              | 5,7 a                    | 11,3 a              | 5,7 a              |
| Causa de Variação         | GL                |                          |                     |                    |
| Estacas                   | 2                 | 49 **                    | 11,7 ns             | 36,0 **            |
| AIB                       | 4                 | 165 **                   | 7,4 ns              | 1,6 ns             |
| Estacas x AIB             | 8                 | 12 ns                    | 8,5 ns              | 7,6 **             |
| Bloco                     | 3                 | 11 ns                    | 11,0 ns             | 2,5 ns             |
| Resíduo                   | 42                |                          |                     | 0,02 **            |
| CV %                      |                   | 25,7                     | 16,7                | 15,6               |
|                           |                   |                          |                     | 77,7               |

\*\* = Significativo com  $p < 0,01$ ; \* = Significativo com  $p < 0,05$ ; n.s = No significativo com  $p = 0,05$  pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste Tukey.

O número de raízes adventícias das estacas apicais pode ser verificado na Tabela 3, e se mostrou superior às estacas do tipo mediana e basal. Esse padrão pode ser explicado por VEIERSKOV (1988), que descreve uma relação positiva com capacidade de enraizamento e o número de raízes formadas em diferentes estacas lenhosas e herbáceas, acrescentando que é comum que exista um gradiente na concentração de hidratos de carbono desde o ápice até à base dos ramos. Por sua vez, HARTMANN e KESTER (1996) observam que os cortes mais espessos da porção basal dos ramos, acumulam mais reservas de carboidratos e, possivelmente sob a influência de substâncias que promovam o enraizamento, apresentam uma maior probabilidade de induzir raízes. Fato este que não foi observado para *sacha inchi* onde o processo se deu ao inverso, e as estacas mais herbáceas (região apical) propiciaram esse melhor enraizamento, possivelmente por ser uma região de maior crescimento, as maiores

concentrações de assimilados estejam presentes nesta parte da planta.

Com o aumento das doses de AIB, o número médio de raízes por estacas mostrou a tendência de crescimento típico, como tem sido observado em muitas outras espécies tropicais (BITENCOURT et al., 2011; RUÍZ e MESÉN 2010).

O número de raízes produzidas por estacas é altamente influenciada pela capacidade da estaca de fornecer carboidratos, seja reserva ou produzidos através da fotossíntese, a área onde surgem as raízes (MOE e ANDERSEN, 1988). Portanto, uma vez que as estacas enraizam, com o aumento das doses de AIB, mediante seu reconhecido efeitos sobre a divisão e o transporte de substâncias à base da estaca, permitem o desenvolvimento de um maior número de raízes, como apresentado no presente estudo. Segundo RAMOS et al. (2003), o fornecimento exógeno de auxina, em certas quantidades, pode promover uma alteração hormonal, favorecendo ou não o enraizamento de estacas.

Este padrão de resposta foi encontrado em muitas outras espécies (RAMOS et al. 2003, FERREIRA 2002) em que, normalmente, há um aumento na capacidade de enraizamento conforme se eleva as doses de auxina até se atingir uma dose ótima, a partir da qual, qualquer aumento nesta dose provoca uma diminuição no enraizamento devido aos efeitos tóxicos do AIB. Como observado, os efeitos positivos das auxinas de enraizamento têm sido associados com os seus efeitos sobre a divisão celular.

JARVIS (1986) explica que o sucesso da aplicação exógena de auxina e de seus efeitos irá depender de vários fatores como o ramo de onde as estacas foram coletadas, do tempo entre a coleta do material e o tratamento, tipo de auxina usada, da concentração e da duração de exposição em cada tratamento.

Em relação ao comprimento das raízes de estacas de *sacha inchi*, não houve diferença estatística significativa nas diferentes concentração de AIB nem quanto ao

tipo de estacas utilizadas, tampouco interação entre estes dois fatores.

A variável massa seca da parte aérea mostrou-se significativa através do teste F para o fator tipos de estacas e para a interação entre os fatores, em contrapartida o fator tipos de doses de AIB não obteve diferença estatística. Levando em consideração que as estacas basais obtiveram os menores percentuais de enraizamento e números de raízes, é possível que este tipo de estaca tenha uma maior predisposição em redirecionar os assimilados para a parte aérea, fato esse que pode ser explicado pelo maior acúmulo de carboidratos em tecidos mais velhos que é o caso das estacas basais. No entanto, houve interação significativa para esta variável, demonstrando que os maiores incrementos para massa seca da parte aérea foi na combinação de estaca basal com adição de 0,20% de AIB conferindo uma massa de 15,3 g/Kg.

Enquanto que a massa seca de raiz, a significância ocorreu somente para o fator concentrações de AIB, sendo o fator tipo de estaca e a interação entre fatores não significativo, ou seja, a medida que foram adicionadas doses crescente de AIB houve um incremento no percentual da massa seca de raiz, onde as concentrações 0,10; 0,15 e 0,20% mostraram-se superiores às concentrações menores. Demonstrando a importância da adição exógena de auxina para o aumento de enraizamento e consequentemente um maior volume de raízes.

## CONCLUSÕES

As estacas de *Plukenetia volubilis* L. da porção apical, mediana e basal de ramos de sachá inchi apresentaram capacidade satisfatória de enraizamento adventício, sendo que as estacas apicais se mostraram mais eficientes para enraizamento em relação às demais.

As estacas foram capazes de enraizar sem aplicação de AIB, porém o número de raízes por estacas e o comprimento destas raízes foram significativamente menor do que nas estacas tratadas.

As concentrações de 0,10; 0,15 e 0,20 mg.L<sup>-1</sup> de AIB foram as mais eficientes para a propagação vegetativa desta espécie, não havendo diferenças significativas para as variáveis avaliadas para estas concentrações.

## REFERÊNCIAS

- BITENCOURT, G. DE A., BRUM, G. R., FAREVO S. 2011. **Uso do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de espiroleira-branca**. Campo Grande-MS. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas. v. 5, n. 3, 39p. <<http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/download/135/385>> Acesso em: 08 de Janeiro de 2016.
- BORDIGNON, S.R.; AMBROSANO, G.M.B.; RODRIGUES, P.H.V. 2012. **Propagação in vitro de Sacha inchi**. Ciência Rural. Santa Maria, v.42 n.7.
- CACIQUE, I. S., DOMICIANO, G. P., MOREIRA, W. R., RODRIGUES, F. A., CRUZ, M. F. A., SERRA, N. S., CATALÀ, A. B. 2013. **Effect of root and leaf applications of soluble silicon on blast development in rice**. Bragantia, v. 72, p 304-309. <<http://dx.doi.org/10.1590/brag.2013.032>> Acesso em: 08 de janeiro de 2016.
- CACHIQUE, D.; RODRIGUEZ, A.; RUIZ-SOLSOL, H.; VALLEJOS, G.; SOLIS, R. 2011. **Propagación vegetativa del sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante enraizamiento de estacas juveniles en cámaras de subirrigación en la Amazonia Peruana**. Folia Amazónica. San Martín, Perú, v. 20 n 1-2, p 95-100.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. 2005. **Propagação Vegetativa por Estaquia**. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. Propagação de plantas frutíferas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 221p.
- FERREIRA, L.; KERSTEN, E.; FACHINELLO, J. C. 2002. **Época de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro**. Scientia Agrícola, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 327-333.
- HARTMANN T., KESTER E. 1996. **Propagación de plantas: principios y prácticas**. Editorial Continental S.A. México. 814 p.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, R. T.; GENEVE, R. L. 2011. **Plant Propagation: principles and practices**. 8ed. New Jersey: Prentice Hall, 915p.
- JARVIS, B. C. 1986. **Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings**. In: JACKSON, M. B. (Ed.). *New root formation in plants and cutting*. Dordrecht: Martinus Nijhoff, p. 191-222.
- KRIVANKOVA, B.; POLESNY, Z.; LOJKA, B.; LOJKOVA, J.; BANOUT, J.; PREININGER, D. 2007. **Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae): A Promising Oilseed Crop from Peruvian Amazon**. Resumo: Tropentag. Utilisation of diversity in land use systems: Sustainable and organic approaches to meet human needs. p.9-11.
- MOE R., ANDERSEN A.S. 1988. **Stockplant environment and subsequent adventitious rooting**. In: T.D. DAVIS, B.E. HAISSIG, N. SANKHLA (eds).

Adventitious Root Formation in Cuttings. Dioscorides Press, EE. UU, , p. 214 -234.

NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. 2010. **A importância dos ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 para a prevenção de doenças e na saúde humana.** Revista Salus, v.2, p.77-87.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. S.; REZENDE, M. E. 2001. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria.** Brasília: Embrapa Cerrados, (Recomendação Técnica n. 41).

ORLANDO, H. S. B. 2012. **Propagación de estacas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en tres tipos de sustratos con el uso de ácido naftaleno acético (ana) y ácido indol butírico (aib), en el cantón La Maná, año 2011.** La Maná, Ecuador. Monografía – Universidad Técnica de Cotopaxi, 100p.

RAMOS, J. D.; MATOS, L. E. S.; GONTIJO, T. C. A.; PIO, R.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. C. 2003 **Enraizamento de estacas herbáceas de ‘Mirabolano’ (*Prunus cerasifera* Ehrh) em diferentes substratos e concentrações de ácido indolbutírico.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 189-191.

RODRIGUES, H. S. 2013. **Caracterização genética, morfológica e agrônômica de germoplasma de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) no estado do Amazonas.** Viçosa, Dissertação – Universidade Federal de Viçosa, 45p.

RUÍZ-SOLSOL, H.; MESÉN, F. 2010. **Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estaquilla en el enraizamiento de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.).** Agronomía Costarricense, v.34, n.2, p.259-267.

TOSTA, M. S.; OLIVEIRA, C. V. F.; FREITAS, R. M. O.; PORTO, V. C. N.; NOGUEIRA, N. W.; TOSTA, P. A. F. 2012. **Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de cajaraneira (*Spondias* sp.).** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n.1, p. 2727-2740. (Edição Suplementar).

VEIERSKOV, B. 1988. **Relations between carbohydrates and adventitious root formations.** In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKLHA, N. (Ed.). Adventitious root formation in cuttings. Portland: Dioscorides, p. 70-78.