

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOÇA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS  
VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E CRESCIMENTO *IN VIVO* DE  
MUDAS DE MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.)**

CELMA CALDAS REBOUÇAS

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
MAIO – 2013

CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E CRESCIMENTO *IN VIVO* DE  
MUDAS DE MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.)

**CELMA CALDAS REBOUÇAS**

Engenheira Agrônoma  
Centro de ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do  
Recôncavo da Bahia, 2010.

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do  
Programa de Pós-Graduação em Recurso Genéticos  
Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura; como  
requisito parcial para obtenção do Grau de  
Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientador: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto**

**Co-Orientador: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2013

## FICHA CATALOGRÁFICA

R292

Rebouças, Celma Caldas.

Cultivo in vitro e crescimento in vivo de mudas de mangueira / Celma Caldas Rebouças.\_ Cruz das Almas, BA, 2013.  
70f.; il.

Orientador: Clovis Pereira Peixoto.

Coorientadora: Fernanda Vidigal Duarte Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Manga – Cultivo. 2.Manga – Germinação - In vitro.  
3.Bioestimulante. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.  
II.Título.

CDD:634.44

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS  
VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
CELMA CALDAS REBOUÇAS.



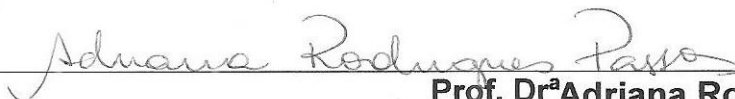
Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
(Orientador)



Prof. Dr.ª Gírlene Santos de Souza

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB



Prof. Dr.ª Adriana Rodrigues Passos

Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS

Dissertação (ou tese) homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em  
Recursos Genéticos Vegetais em

..... Conferindo o Grau de  
Mestre

em Recursos Genéticos Vegetais em  
.....

## **Dedicatória**

Dedico com muito *Amor* e carinho à minha Mãe Maristela que sempre com muito zelo primou pelos estudos de seus filhos e sempre estará presente em nossas vidas;

Ao meu pai Anatólio que mesmo sem muito estudo sempre me orientou, se preocupou com o que eu buscava para o meu futuro profissional e esteve sempre disponível a me ensinar o que estivesse ao seu alcance;

Às minhas irmãs Milene e Aline que fazem parte de tudo em minha vida. Amo muito vocês;

A minha filha Maria Luiza que Deus me presenteou com um sorriso transformador; Meu amor incondicional;

Ao meu esposo, amigo e companheiro, Rubens, pelo apoio e compreensão ao longo dessa caminhada e nos momentos em que mais precisei; dedico meu amor.

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por tudo que tem feito e por tudo que ainda fará. A ele seja toda honra toda glória e todo louvor;

Agradeço aos meus pais e irmãs que são a minha base de vida e a quem eu devo toda minha formação pessoal;

Ao meu Esposo que sempre me ajudou desmedidamente, mesmo quando não podia;

A meu orientador, Prof. Clovis Pereira Peixoto, pelo apoio, paciência e amizade;

À minha co-orientadora Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza que me ensinou muito ao longo dessa jornada;

A todos os amigos e pesquisadores do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura;

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao curso de Mestrado pela oportunidade;

À Embrapa Mandioca e Fruticultura que proporcionou toda infraestrutura para a realização deste trabalho;

Aos colegas de pós- graduação que me acompanharam e me ajudaram muito nesse período;

À Fapesb pelo apoio financeiro e oportunidade de realização do curso.

## SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
INTRODUÇÃO.....	01

### CAPÍTULO 1

<b>CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIÕES IMATUROS DE MANGUEIRA PARA RESGATE DE HÍBRIDOS E CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA.....</b>	<b>10</b>
---	-----------

### CAPITULO 2

<b>REGULADORES DE CRESCIMENTO EM MUDAS ENXERTADAS DE MANGUEIRA , EM CULTIVO PROTEGIDO.....</b>	<b>42</b>
--	-----------

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
---------------------------	----

APÊNDICES .....	68
-----------------	----

# **CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES E CRESCIMENTO *IN VIVO* DE MUDAS DE MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.).**

Autora: Celma Caldas Rebouças

Orientador: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Co-Orientador: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**RESUMO:** O objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento de um protocolo de resgate de embriões zigóticos e nucelares de mangueira para fins de resgate de híbridos e conservação de germoplasma, assim como avaliar a ação do regulador vegetal GA<sub>3</sub> e do bioestimulante Stimulate<sup>®</sup> no crescimento e desenvolvimento de mudas enxertadas de mangueira. Embriões imaturos e oriundos de frutos abortados foram cultivados *in vitro*, tendo-se avaliado a % de germinação, altura de plântulas, número de folhas e matéria seca total, assim como o uso do AIB na foi aclimatização das plântulas germinadas. Para o experimento de conservação foram utilizados embriões nucelares de variedades poliembriônicas. Tendo-se avaliado o desenvolvimento e a manutenção *in vitro* das plântulas germinadas após 12 meses de conservação. Registrou-se 84% e 57% de germinação em embriões imaturos e abortados, respectivamente, sendo que as plântulas apresentaram melhor desenvolvimento. Os resultados mostraram que é viável o resgate de embriões imaturos, abortados ou não. O cultivo de embriões nucelares mostrou-se viável para a conservação *in vitro* de plântulas por 12 meses. No terceiro experimento foram utilizadas mudas da variedade Tommy Atkins para montar um DIC no esquema de parcelas subdivididas no tempo, representadas por sete tratamentos [ 3 concentrações de GA<sub>3</sub> ( 0,25; 0,5 e 1,0 mL L<sup>-1</sup> ), 3 de Stimulate<sup>®</sup> ( 5,0; 10,0 e 20,0 mL L<sup>-1</sup>)] e 1 tratamento controle (água destilada). Avaliou-se a massa seca das diversas frações da planta e os índices fisiológicos. O Stimulate<sup>®</sup> promoveu efeitos significativos sobre o número de folhas, área foliar, massa seca da raiz, folha e massa seca total. O GA<sub>3</sub> foi eficiente na altura de planta, número de folhas, massa seca da haste, raiz e massa seca total. O desempenho vegetativo da planta deve ser avaliado pela resposta conjunta dos índices fisiológicos e constituem ferramentas eficazes para identificação dos diferentes tratamentos.

**Palavras – chave:** resgate de embrião; conservação; índices fisiológicos; bioestimulante vegetal.



# **'IN VITRO' CULTURE OF EMBRYOS AND 'IN VIVO' GROWTH OF MANGO SEEDLINGS (*Mangifera indica* L.)**

Author: Celma Caldas Rebouças

Adviser: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Co-Adviser: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**ABSTRACT:** This work aimed to evaluate develop a protocol for the rescue of zygotic and nucelar mango embryos in order to recover hybrids and germplasm conservation as well, and to assess the role of the plant regulator GA<sub>3</sub> and the biostimulant Stimulate® in the growing and development of grafted plants of mango. Immature embryos and embryos taken from aborted fruits were cultured *in vitro*, and evaluated regarding the percentage of germination, plant height, number of leaves and total dry matter, and the use of AIB was assessed in the acclimation of the germinated plants. In the conservation experiment, nucelar embryos from polyembryonic mango varieties were used, in which the development and *in vitro* conservation of the germinated plants after 12 months were assessed. It was recorded 84% and 57% germination from immature and aborted embryos, respectively, so that the plants originated from the immature embryos showed better development. The results showed that the embryo rescue of immature embryos, aborted or not, is feasible. The culture of nucelar embryos proved to be feasible for the *in vitro* conservation of plants up to 12 months. In the third experiment plants of the variety Tommy Atkins were used in a completely randomized split plot design, including 7 treatments [3 concentrations of GA<sub>3</sub> (0.25; 0.5 e 1.0 mL L<sup>-1</sup>), 3 concentrations of Stimulate® (5,0; 10,0 e 20,0 mL L<sup>-1</sup>)] and 1 control treatment (distilled water). The dry matter of the different parts of the plant and the physiological indexes were assessed. The stimulate® had significant effects on the number of leaves, leaf area, dry matters of the roots and leaves and total dry matter of the plant. The vegetative performance of the plant should be evaluated through the combined results of the physiological indexes, considering they are intertwined and constitute efficient tools for the identification of the different treatments.

Key-words: embryo rescue; conservation; physiological indexes; plant biostimulant

## INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) da família Anacardiaceae, originou-se da Ásia Meridional e Arquipélago Indiano, onde é cultivada a mais de quatro mil anos. É uma planta de vegetação permanente, cuja parte aérea alcança um grande tamanho, dependendo da origem da planta, cultivar, clima, solo e tratamentos culturais (MANICA, 1981).

A manga do Brasil tem o mercado interno como a principal fonte de escoamento da produção. Mesmo com o grande incremento observado atualmente, as nossas exportações de manga ainda não alcançaram 10% do volume total produzido no País. Segundo o IBGE (2009), houve uma produção em 2007 de 1.272.184 toneladas e desse volume, 116,047 foram destinadas a exportação.

Atualmente com o desenvolvimento de novas tecnologias de cultivos os países exportadores de manga estão ampliando significativamente suas exportações. Podendo-se destacar o Equador e Peru, que no momento são os principais concorrentes da manga brasileira. Desse modo, a tendência é a redução de sazonalidade da oferta e, conseqüente, ampliação de competitividade IBRAF (2009).

A comercialização da manga no mercado interno concentra-se em uma única variedade, a Tommy Atkins, que representa 80% da área plantada no Brasil. A variedade, no entanto, apesar de ser muito produtiva apresenta desordens fisiológicas (colapso interno do fruto) e suscetibilidade a certas doenças, como oídio e malformação floral, apresentando tolerância intermediária em relação à antracnose. Com a ampliação da área cultivada com essa variedade, o aumento dos problemas foram significativos, aumentando também, os custos de produção,

demandando, dessa forma, a introdução de novos materiais no mercado IBGE (2009).

A utilização de novas cultivares através do programa de melhoramento genético da cultura constitui a melhor alternativa quando se deseja inserir atributos como resistência a doenças e pragas, e qualidade do fruto para o consumo fresco ou para produção de sucos, doces e desidratados.

Um dos maiores desafios para o sucesso de programas de melhoramento genético visando esses objetivos seria a introdução de ferramentas da biotecnologia em associação ao melhoramento convencional, acelerando a obtenção de resultados promissores (SARTORETTO et al., 2008).

A conservação e avaliação de germoplasma, aumento da variabilidade genética para fins de seleção, resgate de embriões, multiplicação dos genótipos superiores e introgressão de genes de interesse para espécie-alvo, constituem aplicações da cultura de tecidos em programas de melhoramento (FERREIRA et al., 1998). Existem poucos trabalhos de cultura de tecidos em manga, sendo que a maioria enfatiza a embriogênese somática como processo de micropropagação (DEWALD et al., 1989a; DEWALD et al., 1989b; LITZ et al., 1982; LITZ, 1984; LITZ et al., 1987; LITZ, 1997).

Dentre as várias limitações existentes no melhoramento genético da mangueira, destaca-se a ocorrência do abortamento de frutos em hibridações de interesse, limitando dessa forma, a introgressão de genes importantes (LITZ, 1997).

Em alguns casos, o cultivo *in vitro* de embriões tem solucionado as dificuldades de obtenção de híbridos interespecíficos, consistindo na remoção dos embriões antes do abortamento e seu cultivo em meio nutritivo (BUENO et al., 2001). O cultivo *in vitro* de embriões imaturos é uma técnica que vem sendo utilizada em apoio ao melhoramento genético de muitas espécies, contribuindo para a recuperação de plantas oriundas de cruzamentos, até então incompatíveis devido à barreiras pós-zigóticas que resultam no aborto do embrião nos estádios iniciais de desenvolvimento (HEE e ADACHI, 1997; ARBELOA et al., 2002).

Para o sucesso desta técnica, é necessário, considerar uma série de aspectos que, normalmente, dificultam a sua aplicação, destacando a idade do embrião como um dos fatores mais determinantes no ajuste desta metodologia.

Embriões maduros são praticamente autotróficos e as exigências nutricionais são mínimas, o que não ocorre com os embriões imaturos, cujas necessidades nutricionais são extremamente complexas e difíceis de ajustar no meio de cultura (PASQUAL, 2001).

Várias dificuldades vêm sendo relatadas no uso da cultura de tecidos para variedades de mangueira, destacando-se as contaminações bacterianas e as elevadas taxas de polifenóis exudados na fase de estabelecimento. A desinfestação inicial dos explantes, assim como a redução da oxidação, nestes tecidos cultivados está entre os maiores desafios para o êxito das técnicas de cultivo *in vitro* em variedades de mangueiras (THOMAS e RAVINDRA, 1997).

Adicionalmente, o cultivo de embriões pode ser usado para outras finalidades, que não apenas o resgate de embriões zigóticos. Podendo ser realizado caracterizações precoces da progênie, identificando plantas que tenham alto grau de semelhança, diminuindo de forma significativa o trabalho do melhorista em uma etapa posterior, pelo descarte de parte desses materiais (SOUZA et al.,2009).

Outra aplicação de grande interesse, quando dirigida às variedades poliembriônicas é a possibilidade de conservar plântulas oriundas de embriões nucelares para a conservação de germoplasma, como duplicata de segurança de grandes coleções (SOUZA et al.,2009).

Por outro lado, a produção de plantas matrizes para o estabelecimento de grandes plantios requer tecnologia apropriada para o bom desenvolvimento das plantas a serem cultivadas, com isso, o uso de reguladores vegetais compõe uma dessas tecnologias para atender grandes produtores. Todavia na cultura da mangueira são usados rotineiramente para manuseio da indução floral. Entretanto, ainda, não é uma prática utilizada para controle da fitomassa da planta em geral, apesar desta cultura já ter atingido um alto nível tecnológico. No entanto, segundo Santos (2004) sabe-se que a utilização dessas substâncias interfere no crescimento das plantas, possibilitando uma relação mais equilibrada entre a parte reprodutiva e vegetativa.

Segundo Santos (2004), o crescimento e desenvolvimento das plantas são regulados por fatores endógenos e ambientais. Os fatores endógenos são

controlados a nível celular e molecular (que afetam processos de tradução e transcrição), assim como por meio de hormônios vegetais que têm a função de manutenção do organismo como um todo. A importância ecológica dos hormônios vegetais está em função de substância transdutora, pois segue a percepção dos estímulos ambientais e então todos os pontos da planta são informados sobre a situação de outra parte por meio de síntese ou de mudanças de concentração de um ou mais fitohormônios. Todo esse processo depende do estágio de desenvolvimento e da atividade da planta, da natureza do estímulo externo, da parte da planta que está recebendo o estímulo e do tempo do impacto desse estímulo (PEIXOTO et al.,2011).

Segundo Castro e Vieira (2001), a mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou de reguladores vegetais com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes, vitaminas), é designada de bioestimulante ou estimulante vegetal, como por exemplo, o Stimulate<sup>®</sup>, que contém em sua composição: citocinina, giberelina, ácido indolbutírico, e outros ingredientes inertes.

É uma substância líquida, não viscosa, de coloração castanha, solúvel em água e de fácil absorção por sementes, raízes, ramos, folhas e frutos, afetando processos como germinação, crescimento vegetativo, florescimento, frutificação e maturação. Portanto, conhecer os mecanismos de ação e efeitos fisiológicos destas substâncias é importante para estudos que visem alterar as respostas fisiológicas das plantas, através de manipulação destas substâncias e/ou a aplicação de seus similares (CATO, 2006).

Os estudos sobre as giberelinas se iniciaram em 1930 e se intensificaram a partir de 1950. A função desse grupo de hormônios está associada à promoção do crescimento caulinar, dentre outros efeitos fisiológicos. Plantas submetidas a aplicações de giberelinas podem ser induzidas a obter um maior crescimento na sua estatura (ECHER, 2006). As giberelinas estão presentes em toda a planta, no caule, nas folhas, nas raízes, nas sementes, nos embriões e no pólen. São sintetizadas no ápice do caule, nas folhas em crescimento e em sementes e embriões em desenvolvimento, porém não necessariamente ao mesmo tempo e nas mesmas taxas (RODRIGUES e LEITE, 2004). Aplicação exógena deste regulador poderá promover o crescimento de plantas intactas, pois segundo Stefanini (2002), os efeitos das giberelinas aparecem no crescimento

(alongamento do caule), comprimento dos internódios, área foliar e acúmulo de matéria seca. Para Taiz e Zeiger (2008), as giberelinas aumentam a extensibilidade da parede celular sem acidificação.

Essas substâncias naturais ou sintéticas podem ser aplicadas diretamente nas plantas (folhas, frutos, sementes), provocando alterações nos processos vitais e estruturais, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade e facilitar a colheita (CASTRO e MELOTTO 1989). Desse modo, promovem um incremento e ampliação de matéria seca e, por conseguinte, interfere no crescimento da planta.

A análise de crescimento tem sido usada na tentativa de explicar diferenças no crescimento, de ordem genética ou resultante de modificações do ambiente (PEIXOTO, 2009). Constitui uma ferramenta muito eficiente para a identificação de materiais promissores (PEIXOTO, et al., 2011), além de identificar características que, no crescimento inicial, indiquem possibilidade de aumento no rendimento da planta adulta, favorecendo os trabalhos de melhoramento na busca por materiais mais produtivos.

O fundamento da análise de crescimento baseia-se no fato de que, em média, 90% da matéria orgânica acumulada ao longo do crescimento da planta resultam da atividade fotossintética e o restante, da absorção mineral do solo (BENINCASA, 2004). O acúmulo de matéria seca e o incremento da área foliar, quantificados em função do tempo, são utilizados na estimativa de vários índices fisiológicos relacionados às diferenças de desempenho entre cultivares ou diferentes materiais da mesma espécie e das comunidades vegetais, nos diversos estudos ecofisiológicos (LIMA et al., 2007).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento de um protocolo de resgate de embriões zigóticos e nucelares de mangueira para fins de obtenção de híbridos oriundos de hibridações controladas e conservação de germoplasma, assim como avaliar a ação do regulador vegetal GA<sub>3</sub> e do bioestimulante Stimulate<sup>®</sup> no crescimento e desenvolvimento de mudas enxertadas de mangueira (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARBELOA, A.; DAORDEN, M. E.; GARCÍA, E.; MARÍN, J. A. Successful establishment of in vitro cultures of *Prunus cerasifera* hybrids by embryo culture of immature fruits. **Acta Horticulturae**. 2002.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**: noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 2004. 42 p.

BUENO, L.C.S ; MENDES, A.N.G; CARVALHO, S.P de. **Melhoramento de plantas: princípios e procedimentos**. Lavras: UFLA, 2001.

CATO, S. C. **Ação de bioestimulante nas culturas do amendoimzeiro, sorgo e milho e interações hormonais entre auxina, giberelina e citocinina**. 2006. 73p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

CASTRO, P.R.C.; MELOTTO, E. Bioestimulantes e hormônios aplicados via foliar. In: BOARETO, A.E.; ROSOLEM, C.A. (Ed.). Adubação foliar. Campinas: Fundação Cargill, 1989. v. 1, cap. 8, p. 191-235.

DEWALD, S. G.; LITZ, R. E.; MOORE, G. A. Optimizing somatic embryo production in mango. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 114, n. 4, p. 712-716, 1989a.

DEWALD, S. G.; LITZ, R. E.; MOORE, G. A. Maturation and germination of mango somatic embryos. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 114, n. 5, p. 837-841, 1989b.

ERCHER, M. de M.; et. al. Uso de bioestimulante na formação de mudas de maracujazeiro amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 351-360, 2006.

FERREIRA, M. E.; CALDAS, L. S.; PEREIRA, E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 1998. p. 21-43.

HEE, W. S.; ADACHI, T. Production of interspecific hybrids between *Fagopyrum esculentum* and *F. homotropicum* through embryo rescue. **Sabrao Journal**, v. 29 n. 2 p. 89-96, 1997.

IBGE. Produção Agrícola municipal 2009, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 01 jun. 2011

LIMA, J. F. de et al. **Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação**. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 5, p. 1358-1363, set./out., 2007

LITZ, R. E.; KNIGHT, R. L.; GAZIT, S. Somatic embryos from cultured ovules of polyembryonic *Mangifera indica*. **Plant Cell Reports**, v. 1, p. 264-266, 1982.

LITZ, R. E. In vitro somatic embryogenesis from nucellar callus of monoembryonic *Mangifera indica*. **HortScience**, v. 19, p. 715-717, 1984.

. LITZ, R. E. Application of tissue culture to tropical fruit trees. In: GREEN, C. E.; SOMERS, D. A.; HACKETT, W. P.; DEBERGH, P. **Micropropagation technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1987. p. 247-264.

LITZ, R. E. **The mango: botany, production and uses**. Flórida: Cab International, 1997. 586 p.



MANICA, **Avaliação de cultivares de manga sobre diferentes portaenxertos.** Disponível em: <http://www.prp.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inicci/enxertos/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo99.pdf> 1981.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura.** Lavras:UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PEIXOTO, C.P.; PEIXOTO, M. de F. da S.P. **Dinâmica do crescimento vegetal.** In: CARVALHO, C. A. L. de; DANTAS, A.C.V.L.; PEREIRA, F.A. de C.; SOARES, A.C.F.; MELO FILHO, J.F. de; OLIVEIRA, G.J.C. de. Tópicos em ciências Agrárias. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009. p. 39-53.

PEIXOTO, et al., **Análise quantitativa do crescimento de plantas: Conceitos e Prática.** Enciclopédia Biosfera, p. 51-73, 2011.

RODRIGUES, T.J.D.; LEITE, I.C. **Fisiologia vegetal: hormônios das plantas.** Jaboticabal: Funep, 2004. 78p.

SANTOS, C. M. G. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento do algodoeiro.** Cruz das Almas. 2004. 61f. Tese (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal da Bahia, Escola de Agronomia, Cruz das Almas.

SARTORETTO, M.L. et al. Transformação genética: estratégias e aplicações para o melhoramento genético de espécies florestais. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.861-871, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000300046>. Doi: 10.1590/S0103-84782008000300046.

SOUZA et al., **Cultivo in vitro de embriões imaturos de manga** 2009. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/36196/1/ID27189pdf1750.pdf>.

STEFANINI, M.B.; RODRIGUES, S.D.; MING, L.C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p.18-23, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4<sup>o</sup>ed. Editora Artmed, Porto Alegre, 2008, 820p.

THOMAS, P.; RAVINDRA, M.B. Shoot tip culture in mango: influence of medium, genotype, explant factors, season and decontamination treatments on fenolic exudation, explant survival and axenic, culture establishment. **Journal of Horticultural science**, Ashford kent, v.72, n.5, p. 713- 722, 1997.

## CAPÍTULO 1

### **CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES IMATUROS DE MANGUEIRA PARA RESGATE DE HÍBRIDOS E CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Artigo a ser submetido ao periódico.. Plant *in Vitro* Cellular & Developmental Biology

# **CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES IMATUROS DE MANGUEIRA PARA RESGATE DE HÍBRIDOS E CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA**

Autora: Celma Caldas Rebouças

Orientador: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Co-Orientador: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**RESUMO:** O abortamento de embriões em fase imatura é uma das limitações para o êxito de algumas hibridações em mangueira. O cultivo *in vitro* desses embriões pode ser uma estratégia de interesse para o resgate de híbridos, assim como para a conservação de germoplasma de mangueira. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi o estabelecimento de um protocolo de resgate *in vitro* de embriões abortados e imaturos e de embriões nucelares, com vistas ao resgate de híbridos e à conservação de germoplasma. Embriões abortados colhidos no solo e embriões imaturos colhidos da planta (Tommy Atkins), assim como embriões nucelares imaturos (Carlota e Ubá) foram inoculados em meio MS/2 suplementado 100 mg L<sup>-1</sup> de cisteína + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> (ácido giberélico) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 30 repetições, sendo cada repetição constituída de dois embriões/frasco. No entanto, após 90 dias de cultivo *in vitro*, as plantas foram transferidas para condições *ex vitro*. Avaliaram a altura de plântulas, número de folhas e matéria seca de folha, haste e raiz. Elevada contaminação bacteriana (70 %) foi registrada nos embriões abortados. A germinação iniciou no sexto dia após o cultivo, e, ambos os embriões, imaturos, e abortados apresentaram elevada taxa de oxidação, com 60% de embriões oxidados após 72 horas. As plântulas de embriões imaturos e não abortados apresentaram melhor desenvolvimento do que as de embriões abortados. Os resultados mostraram que é viável o resgate de embriões zigóticos em fase imatura, abortados ou não, assim como a conservação de embriões nucelares pelo período de 12 meses.

**Palavras chave:** Tommy Atkins, poliembrionia, plântula, *Mangífera indica* L.

## **IN VITRO CULTURE OF IMMATURE EMBRYOS FROM MANGO TREE TO HYBRID RESCUE AND TO GERMPLASM CONSERVATION**

Author: Celma Caldas Rebouças

Adviser: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Co-Adviser: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**ABSTRACT:** The abortion of embryos in the immature stage is one of the limitations to the success of some hybridizations in mango. The *in vitro* embryo rescue technique is an alternative to overcome this problem. On the other hand, the same technique can be used for germplasm genetic conservation. This work aimed to establish a protocol for *in vitro* rescue of immature, aborted and nucellar embryos from polyembryonic varieties. These three types of embryos were cultivated in MS/2 medium supplemented with 100mg/L<sup>-1</sup> cysteine + 0.5 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> (gibberellic acid) and 30 g L<sup>-1</sup> sucrose. The first experiment was a CRD with 30 replications, each one consisting of two embryos/vial. The seedling height, number of leaves and dry weight of the leaf, stem and root were evaluated. High bacterial contamination (70%) was recorded in aborted embryos. The beginning of germination was on the sixth day after culture, and both immature and aborted embryos showed high oxidation rates, with 60% of embryos oxidized after 72 hours. Seedlings from non-aborted immature embryos showed better development than aborted embryos. The results showed that is feasible to rescue immature and aborted zygotic embryos, aborted or not. The use of nucellar embryos for *in vitro* conservation of polyembryonic mango varieties is an interesting alternative to take into account for mango germplasm conservation.

Key - words: Tommy Atkins, polyembryony, seedlings, *Mangifera indica* L.

## INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica*), planta da família Anacardeaceae, pertence ao gênero *Mangifera*, no qual são descritos por Mukherjee (1985) a existência de 39 espécies, sendo a maioria encontrada no Sudeste da Ásia (Indochina, Tailândia e Malásia). A espécie é originária do Sul da Ásia e foi introduzida pelos portugueses no Nordeste do Brasil no século XVI sendo posteriormente, difundida e largamente consumida em todo o país (MANICA, 1981).

Segundo a FAO (2012) em 2010, o cultivo com manga, mangostão e goiaba por país chegou à produção de 1000 toneladas, sendo a produção concentrada, principalmente, na Índia, com mais de 40,0%, China (11,0%), seguidos do Paquistão (6,73%), México (6,13%), Tailândia (5,38%) e Indonésia (4,84%).

O Brasil com uma produção anual de cerca de 1.200 toneladas, e constitui o sétimo colocado, com uma participação de 4,62% do total produzido. Com relação à exportação de manga pelo Brasil, segundo o IBRAF (2009) tem sido registrado incrementos significativos, passando de 67.000 toneladas, em 2000, para 133.724 toneladas, em 2008.

Efetivamente, a manga vem apresentando as maiores taxas de crescimento entre as frutas exportadas pelo Brasil. Entretanto, as mudanças no mercado internacional nos últimos anos, como o aumento da concorrência e das exigências por parte dos principais mercados importadores, têm resultado em grandes desafios.

A manga do Brasil tem o mercado interno como a principal fonte de escoamento da produção (SILVA; CORREIA, 2004). Mesmo com o grande incremento observado, atualmente, as nossas exportações de manga, ainda, não alcançaram 10% do volume total produzido no País (SILVA; CORREIA, 2004). Segundo o IBGE (2011), houve uma produção em 2011 de 1.249.521 toneladas e

exportação foi de 124,6 mil toneladas. A região Nordeste tem uma participação de 76% nesta produção, com destaque para o Submédio do Vale do São Francisco (Bahia e Pernambuco) e, em menor escala, a mesorregião do Centro-Sul Baiano; o Vale do Rio Açu (Rio Grande do Norte) e o Platô de Neópolis no Estado de Sergipe. Outra região produtora de manga é o interior de São Paulo, envolvendo as regiões Oeste (Presidente Prudente), Noroeste (São José do Rio Preto) e Nordeste (Ribeirão Preto), IBGE (2011).

Embora a mangueira seja a quinta mais importante espécie frutífera do mundo, os melhoristas têm uma pequena variabilidade genética à sua disposição para uso no melhoramento, já que a manutenção de um banco de germoplasma é muito cara. As maiorias das espécies de Manga, com características genéticas importantes, ocorrem em florestas tropicais do Sudeste Asiático as quais têm sido destruídas para exploração de madeira, ocorrendo assim uma verdadeira erosão genética de muitas espécies, e, á necessidade de estabelecer, portanto, estratégias de conservação (SINGH, 1983).

As principais coleções de manga no Brasil estão na Embrapa Semi-árido (CPTSA) em Petrolina-PE com 105 acessos, no IAC/EET/EEP em Piracicaba-SP com 100 acessos, na Embrapa Cerrados (CPAC) em Planaltina-DF com 72 acessos, na UNESP/FACVJ em Jaboticabal-SP com 60 acessos, US/ESALQ em Tietê e Pindorama ambas em SP com 53 acessos e UFV em Viçosa-MG com 17 acessos, perfazendo um total de mais de 400 acessos, incluindo obviamente as duplicatas existentes entre as diversas coleções. Uma destas duplicatas se encontra na Embrapa Mandioca e Fruticultura e conta com 115 acessos de *Mangifera indica*, conservados em campo. Atualmente o BAG de Manga, além dos objetivos conservacionistas, atende ao fornecimento de material vegetativo e embriônico e às pesquisas para obtenção de híbridos com potencial para a indústria de sucos e para o consumo ao natural (COSTA et al., 2009).

O material é mantido no campo, geralmente com 3 a 5 plantas por acesso, onde é conservado e onde são realizados os trabalhos de caracterização e avaliação (PINTO e FERREIRA 2010).

Por outro lado, o melhoramento genético da mangueira é longo e difícil demandando estratégias que possam auxiliar na redução deste tempo. O resgate precoce de híbridos por meio do cultivo *in vitro* de embriões imaturos é uma das estratégias que podem ser consideradas em todo o processo, incluindo o resgate de frutos abortados (SOUZA et al.,2009). O abortamento de frutos imaturos é comum em algumas hibridações de interesse. Assim, a técnica de cultivo de embriões, antes do abortamento destes, torna-se essencial para salvar um número máximo de progênes híbridas em um programa de melhoramento (AKINBO et al., 2010).

A Biotecnologia, com seu conjunto de técnicas, vêm prestando um auxílio valioso a muitos programas de melhoramento genético de fruteiras nas últimas décadas.

Dentre as técnicas mais utilizadas como suporte e alternativa ao melhoramento, tem-se o cultivo *in vitro* de embriões para resgate de híbridos que tem gerado resultados significativos em alguns programas de melhoramento ou mesmo trabalhos mais elementares para estudo da fisiologia do embrião, quebra de dormências, etc (SOUZA et al.,2006a). Existem registros da aplicação da técnica em diversas espécies, destacando as bananeiras (ASIF et al., 2001; UMA et al., 2011), pessegueiro (CARVALHO et al., 2008), para espécies cítricas (PASQUAL et al., 2012), butiazeiro (MINARD et al.,2011), dentre outras. O cultivo do embrião pode, também, ser aplicado para o uso da plântula como fonte de explante para trabalhos de micropropagação, como mostra um trabalho recente com Pinhão manso (LOPES et al., 2012).

Em alguns casos, barreiras pós-zigóticas, que podem ser devido às distancias genéticas entre parentais, provocam o abortamento dos embriões, impedindo seu desenvolvimento. (HEE e ADACHI, 1997 BUENO et al., 2001; ARBELOA et al., 2002). Outro aspecto a ser considerado é a ausência de endosperma em embriões oriundos desses cruzamentos, o que impediria completamente sua sobrevivência em condições naturais. O meio nutritivo, portanto, cumpre esse papel, viabilizando o desenvolvimento e a avaliação do novo híbrido (SOUZA et al., 2009).



Não existem registros do uso desta técnica para a mangueira, já que no caso desta espécie, o interesse seria resgatar embriões em fase imatura, visto que o abortamento é um problema persistente em alguns cruzamentos de interesse. A dificuldade em se trabalhar nesta fase reside, principalmente, nas altas taxas de contaminação e polifenóis exudados, no meio de cultura (LITZ e SCHEFFER, 1997).

Ferramentas biotecnológicas têm sido avaliadas e estudadas para aplicação no melhoramento da mangueira. Trabalhos buscando regeneração de plantas de manga *in vitro*, via embriogênese somática, foram realizados no início dos anos 80 a partir do cultivo de óvulos (LITZ et al., 1982; LITZ et al., 1984; LITZ e SCHEFFER, 1997). A desinfestação inicial dos explantes, assim como a redução da oxidação, nestes tecidos cultivados está entre os maiores desafios para o êxito das técnicas de cultivo *in vitro* em variedades de mangueiras (ERIG et al., 2003).

No caso do cultivo de embriões é necessário, no entanto, considerar uma série de aspectos que na maioria das vezes dificultam sua aplicação. A idade do embrião é seguramente um dos fatores mais determinantes no ajuste desta metodologia. Embriões maduros são praticamente autotróficos e as exigências nutricionais são mínimas, o que não ocorre com os embriões imaturos, cujas necessidades nutricionais são extremamente complexas e difíceis de ajustar no meio de cultura (SOUZA et al., 2009).

O cultivo *in vitro* de embriões imaturos de mangueira pode ser realizado visando diferentes finalidades, como o resgate de embriões zigóticos oriundos de hibridações controladas, permitindo algumas caracterizações precoces e identificando plantas que tenham alto grau de semelhança, diminuindo de forma significativa o trabalho do melhorista em uma etapa posterior, pelo descarte de parte desses materiais. Outra finalidade é a conservação de germoplasma, no caso do cultivo de embriões nucelares de variedades poliembriônicas, que podem, também, ser fonte de explantes para a indução de embriogênese somática visando a micropropagação de variedades elite (SOUZA et al., 2009).

Em vista disso, o objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de um protocolo de cultivo de embriões zigóticos da variedade Tommy Atkins para fins

de resgate de híbridos oriundos de hibridações controladas, assim como aplicar a metodologia desenvolvida para o cultivo de embriões nucelares visando à conservação de germoplasma. Adicionalmente, buscou-se estabelecer um procedimento de aclimatização eficiente para o resgate da plântula *in vivo*.

## MATERIAL E METODOS

### Cultivo *in vitro* de embriões imaturos e abortados de mangueira

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura localizada em Cruz das Almas, Bahia.

Utilizou-se frutos imaturos e frutos abortados da cultivar Tommy Atkins, medindo em média 5,0 cm e 3,0 cm de diâmetro respectivamente. A desinfestação dos frutos em laboratório ocorreu por meio da lavagem com detergente e água abundante, antes da imersão em uma solução de hipoclorito de sódio a 50% (2 % de cloro ativo) por 40 minutos em agitação. Os frutos foram transferidos para a cabine de fluxo laminar, onde se procedeu à retirada dos embriões e inoculação em meio de cultivo MS com a metade da concentração de sais (MS/2), suplementado com 100 mg L<sup>-1</sup> de cisteína + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> (ácido giberélico) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 2,2 g L<sup>-1</sup> de Phytigel<sup>®</sup>, sendo o pH ajustado para 5,8. (Figura 1).

Os embriões foram dispostos em condições de incubação, em sala de crescimento, de temperatura de 27± 1°C, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas.

Foram realizadas avaliações ao longo dos primeiros 30 dias após o cultivo, considerando as seguintes variáveis: a) contaminação bacteriana e/ou fúngicas ( % de embriões contaminados); b) embriões oxidados: presença de polifenóis ( % de embriões com presença de polifenóis); c) comprimento da radícula (cm) em seis avaliações ao longo de 75 dias (número de dias após o cultivo); d) altura de plântulas (cm); número de folhas, realizado aos 90 dias, como procedimento anterior à aclimatização.

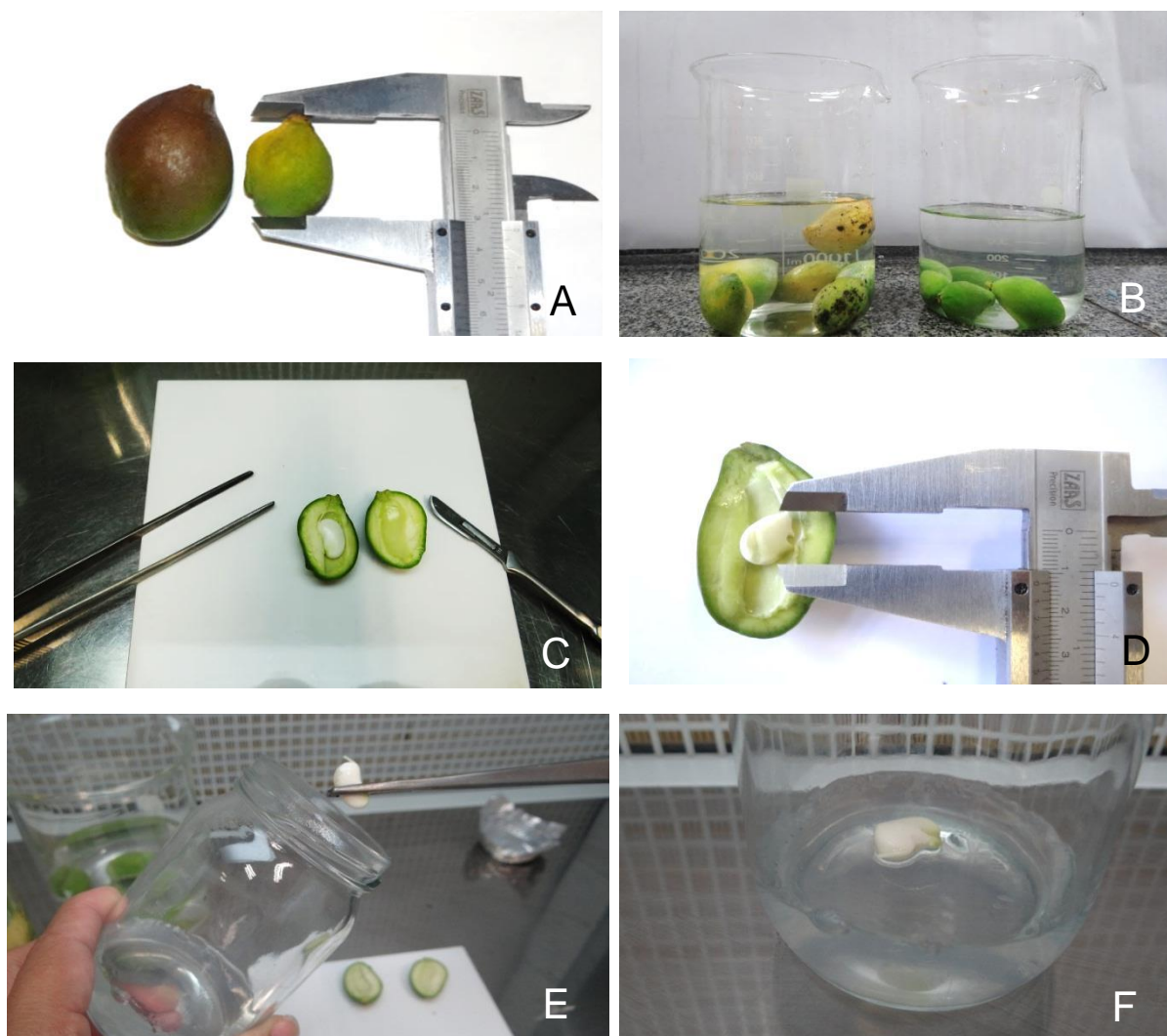


Figura 1. Procedimentos para a introdução de embriões de manga *in vitro*. Frutos abortados e imaturos (A); desinfestação dos frutos (B); Excisão do embrião em fluxo laminar (C); Tamanho real do embrião (D); inoculação do embrião em meio de cultivo (E-F). Fotos: Celma Caldas Rebouças.

### **Aclimatização das plantas germinadas**

As plantas já desenvolvidas, aos 90 dias após o cultivo, com folhas expandidas e sistema radicular foram retiradas dos frascos, lavadas em água abundante para retirada de resíduos de meio de cultura e levadas para a casa de vegetação onde foram plantadas em copos de acrílico com substrato comercial Vivax<sup>®</sup>. Em seguida o substrato foi saturado com uma solução de AIB nas concentrações 0,0; 0,01; 0,1 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> e posteriormente cobertos com outros copos, com a finalidade de se evitar a desidratação das plantas por transpiração

excessiva. Foram avaliadas as variáveis: altura das plantas (cm), número de folhas expandidas e taxa de sobrevivência das plantas (%), no dia da transferência para a condição *ex vitro* e aos 15 e 30 dias após a transferência. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 4 tratamentos e 16 repetições, sendo que cada repetição se constituiu de 1 planta/copo. (Figura 2). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Sisvar, versão 5.3 (Build 75).

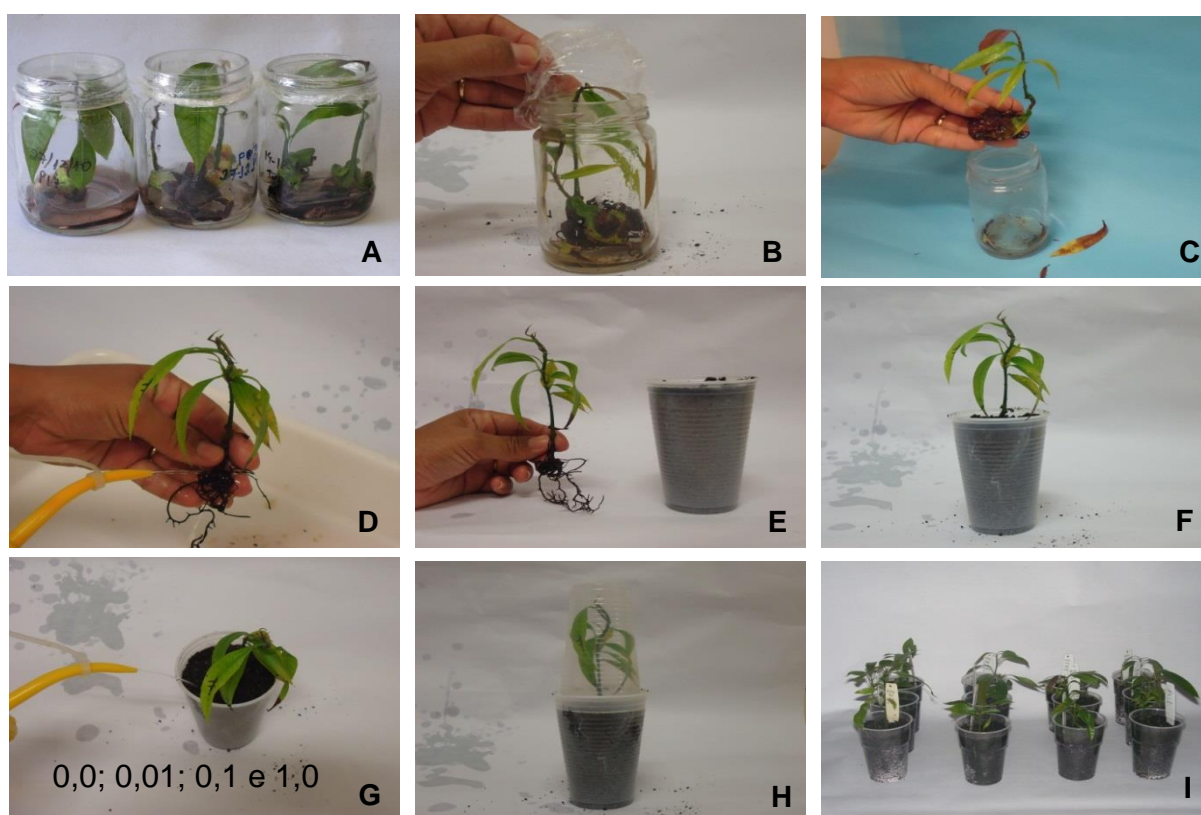


Figura 2. Procedimentos para aclimatização de plantas de mangueira *in vitro*. Plântulas *in vitro* (A); Retirada do plástico isolante (B); Retirada da planta inoculada em meio de cultura (C); Lavagem da raiz para retirada de todo meio de cultura (D); Planta pronta para ser plantada no substrato (E); Planta plantada em substrato (F); Saturação do substrato com água e três concentrações de AIB (G); Planta coberta com outro copo de plástico para minimizar a evaporação inicialmente (H); Plantas aclimatizadas (I). Fotos: Celma Caldas Rebouças.

### **A avaliação do efeito do AIB na matéria seca da planta aos 60 dias.**

Realizou-se uma medida destrutiva dessas plantas, efetuando a contagem do número de folhas, a medição da altura de plantas (cm) e tamanho de folha (comprimento x largura). Posteriormente, as plantas foram seccionadas em folhas, haste e raiz. A retirada dos discos foliares foi realizada com o auxílio de perfurador com área de 1,2 cm<sup>2</sup>, para a determinação da área foliar (AF) das plantas nos distintos tratamentos. A secagem foi feita em estufa com circulação forçada de ar a 60°C, até atingirem peso constante. Em balança de precisão determinou-se a matéria seca das folhas (MSF), das hastes (MSH), das raízes (MSR), dos discos (MSD), e matéria seca total (MST).

### **Conservação *in vitro* de embriões imaturos de duas variedades poliembriônicas de mangueira.**

Utilizou-se frutos imaturos oriundos das variedades poliembriônicas Ubá e Carlota, medindo em média 5,0 cm de diâmetro. Os procedimentos de desinfestação dos frutos e de retirada dos embriões, assim como o meio de cultura utilizado, foram os mesmos descritos anteriormente para os embriões imaturos da variedade Tommy Atckins.

Foram realizadas avaliações ao longo dos 40 dias após o cultivo, para registro da contaminação (% de embriões contaminados). Ao longo de 75 dias após o cultivo, avaliou-se a % de germinação (considerando a emissão de radículas). Ao final de 365 dias de cultivo foram avaliadas as seguintes variáveis: a) altura média das plântulas (ALT); b) número de folhas verdes (NFV), que na análise foi dividida em NF1, NF2 e NF3, que correspondem ao número de folhas registradas em diferentes embriões germinados; c) número de folhas senescentes (NFS); d) presença de raiz (PR); e) número de raízes (NR); f) número de embriões germinados (NEG); e g) número de embriões sobreviventes (NES).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos e 30 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Sisvar, versão 5.3 (Build 75).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Cultivo *in vitro* de embriões imaturos e abortados de mangueira**

Os frutos abortados apresentaram 69% de embriões contaminados, deixando evidente que o método de desinfestação foi ineficiente para este material, muito provavelmente por terem sido coletados no solo, onde certamente estiveram mais expostos a agentes contaminantes. Entretanto, não houve registro de contaminação fúngica, o que seria esperado nestas condições. É possível aventar a possibilidade das bactérias serem endofíticas e devido ao processo de abortamento encontrarem condições ótimas para se expressarem. No entanto, os frutos imaturos apresentaram 30% de embriões contaminados, com presença única de bactérias, sem ocorrência de contaminações fúngicas.

Não se observaram diferenças entre os embriões imaturos e os abortados, à exceção de uma discreta alteração na avaliação de 24 horas, quando os embriões abortados pareceram oxidar um pouco mais. Entretanto, ficou evidente uma diferença clara, já esperada, no que se refere aos três tempos de avaliação, ou seja, à medida que passam os dias há um aumento no número de embriões oxidados. Ao final das 72 horas, 60% dos embriões abortados já se encontravam totalmente oxidados e alguns apresentavam um comprometimento visível para a capacidade de germinar. A oxidação não impede a germinação necessariamente, apesar de poder retardar o desenvolvimento da estrutura cultivada e esse foi o comportamento observado nesse trabalho.

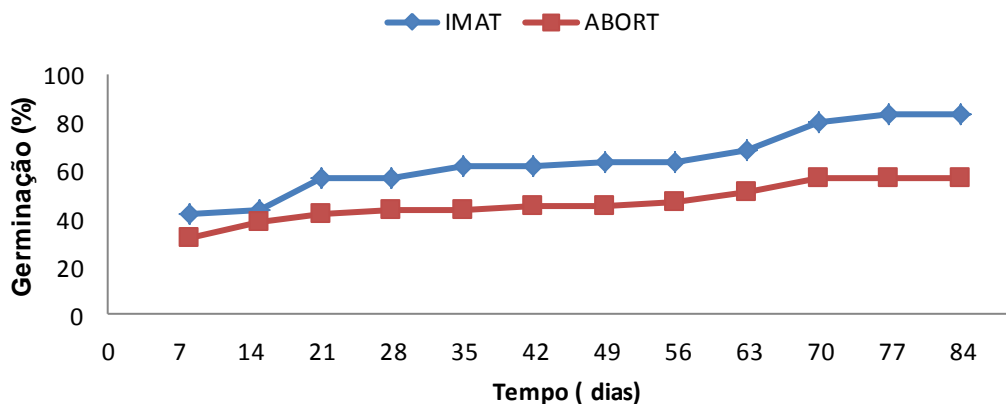
Na Tabela 1 se encontra os resultados referentes a ANOVA realizada para o comprimento da radícula.

**Tabela 1.** Resumo do quadro da análise de variância para comprimento de radícula de embriões imaturos e abortados *in vitro* (CR) de mangueira da variedade Tommy Atkins aos 30 de cultivo.

FV	GL	QM
		CR
Tratamento	1	7,90
Erro a	58 (118)	2,75
Avaliação	2 (5)	3,50**
Tratamento x Avaliação	2 (5)	0,69*
Erro b	116 (830)	0,27
CV (%)		39,19
Média Geral		1,91

\*\* e \* significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.

O início da germinação ocorreu aos 6 dias, após o cultivo, quando se registrou a emissão de radícula nos dois tipos de embrião. Entretanto, 84% dos embriões imaturos germinaram, em contraste com apenas 54% dos embriões abortados no período avaliado ( Figura 1).

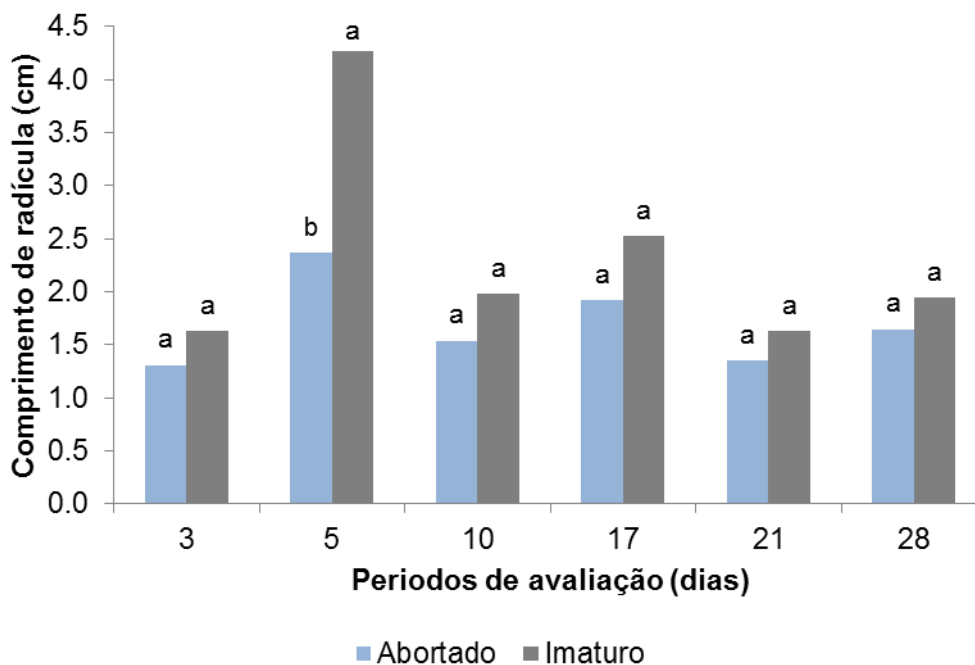


**Figura 1.** Porcentagem de germinação de embriões imaturos e abortados ao longo de 84 dias.

A emissão da radícula é o processo que caracteriza o início da germinação e, portanto, constitui o primeiro parâmetro de crescimento que deve ser observado. Ao longo dos 30 dias, os resultados se repetem, no sentido de que, os frutos abortados apresentaram menor porcentagem de germinação e menor crescimento de radícula, em comparação com os imaturos, ( Figura 1 e 2).

Esse resultado já era esperado, visto que a integridade fisiológica dos frutos abortados não pode ser a mesma dos frutos oriundos da planta matriz, influenciando dessa forma, a germinação. O comprimento da radícula variou de 0,82 cm a 1,15 cm, nas primeiras avaliações e de 5,79 cm a 6,10 cm para frutos abortados e imaturos respectivamente na ultima avaliação realizada aos 30 dias.

Durante a rizogênese que é o fenômeno formador de raízes adventícias nas partes aéreas das plantas obtidas no estágio de multiplicação, constituindo plantas completas para posterior aclimatização às condições externas, pode retardar o desenvolvimento da parte aérea, pois o crescimento ativo do sistema radicular necessita de substâncias orgânicas translocadas da parte aérea para a base, o que pode comprometer o desenvolvimento do caule e das folhas (BARCELÓ et al., 2001). O comprimento de radícula entre os tipos de embriões não apresentou diferença significativa, porém a interação dos tipos de embriões com o período de avaliação apresentou uma diferença significativa de 5% no segundo período de avaliação, (Figura 2).



**Figura 2.** Comprimento de radículas (cm) de embriões abortados e imaturos de mangueira aos 30 (DAE), dias após emergência.



Na Tabela 2, encontra-se o resumo da análise de variância para as variáveis altura de plântula (ALT) e número de folhas (NF). Com relação à média de altura de plântulas pode-se observar na Figura 3 que ambos os embriões imaturo e abortado, apresentaram os melhores resultados aos 28 (DAE) dias após emergência, proporcionando uma altura de aproximadamente 3,5 cm e 2,0 cm, respectivamente nas plântulas de mangueira *in vitro*. O desenvolvimento, sempre menor dos embriões abortados, considerando todas as variáveis estudadas, ocorreu devido ao estado fisiológico dos mesmos e não por questões de reserva, já que ambos os tipos de embrião tinham a reserva proporcionada pelo meio de cultura.

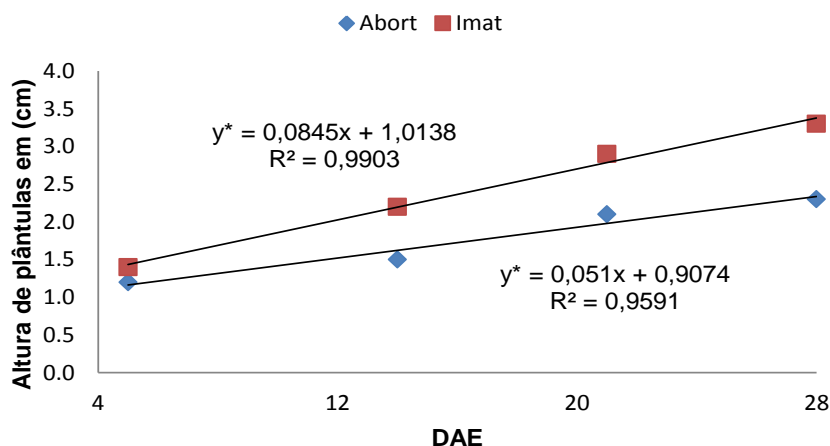
Por outro lado, observou-se que quanto maior o desenvolvimento dos cotilédones mais acelerada foi a germinação, deixando claro que, mesmo com o fornecimento do meio de cultura, a nutrição inicial se dá por meio dessa estrutura. Essa relação, em teoria, não deveria ter tanta influência no cultivo *in vitro*, visto que o meio de cultivo proporciona a nutrição necessária ao embrião quando seus tecidos de reserva são insuficientes, o que poderia ser o caso dos embriões imaturos ou abortados nesse trabalho. Entretanto, a conexão vascular entre os cotilédones e o eixo embrionário, parece ter sido eficiente para o fluxo de nutrientes e substâncias de crescimento que foram utilizados para a germinação e o crescimento inicial dos eixos embrionários das plântulas, não necessitando do meio de cultivo (CATARINA et al., 2001). Por outro lado, para a continuidade do crescimento da plântula *in vitro*, o meio de cultura é um fator primordial, como constatado nesse trabalho.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância para as variáveis: altura de plântula (ALT) e número de folhas (NF), de mangueira da variedade Tommy Atkins oriundas do resgate de embriões abortados e imaturos *in vitro*.

FV	GL	QM	
		ALT	NF
Tratamento	1	29,52*	0,9
Erro a	65	3,61	0,9
Avaliação	3	30,70**	2,0*
Tratamento x Avaliação	3	0,31	0,16

Erro b	166	1,05	0,32
CV (%)		45,79	32,93
Média Geral		2,23	2,91

\*\* e \* significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.



**Figura 3.** Altura de plântulas (cm) *in vitro*, oriundas de embriões abortados e imaturos de mangueira aos 30 (DAE), dias após emergência.

Na Tabela 3, Encontra-se o resultado do teste de médias para a variável altura de plântula, considerando a interação entre os períodos de avaliação e os tipos de embrião.

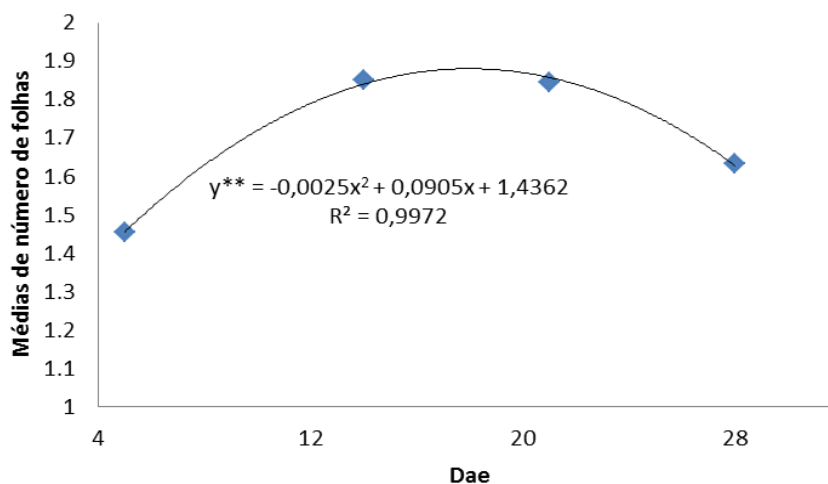
**Tabela 3.** Médias obtidas para a variável altura de plântulas dos embriões abortados e imaturos em diferentes períodos de avaliação. Cruz das Almas, BA, 2012.

PERÍODOS	ABORTADOS	IMATUROS
5	1,1571 b	1,4061 b
14	1,4546 b	2,2333 a
21	2,1087 b	2,8641 a
28	2,3478 b	3,2786 a
MÉDIA GERAL	2.24	
CV (%)	45,79	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas e nas linhas não diferem estatisticamente entre se pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação à altura de plântulas correspondente, à interação dos períodos de avaliação e os tipos de embriões, foi possível observar que o material imaturo nos três últimos períodos de avaliação promoveram uma maior altura em comparação com a promovida pelos embriões abortados no mesmo período avaliado. Todavia, esse resultado deve ser relacionado também ao estado fisiológico do embrião imaturo.

O desenvolvimento de folhas nas plântulas recém-geminadas (considerando-se 30 dias após o cultivo) foi explicado por meio de uma equação quadrática  $y = -0,0025x^2 + 0,0905x + 1,0662$ , cujo coeficiente de determinação de 99,7% deixa evidente o quanto a equação corresponde ao comportamento observado, (Figura 4). Aos cinco dias após o cultivo as primeiras folhas foram se formando, em embriões imaturos e abortados. O pico do desenvolvimento de folhas foi observado entre o 14° e 21° dia. A média desse período foi 21,52% superior aos primeiros cinco dias. O número de folhas passou a ter uma média de aproximadamente 1,85, superando o valor inicial de 1,4. No entanto, um evento tem sido observado em plantas *in vitro* de mangueira e consiste na necrose do ápice e queda das folhas próximas a ele. Esse fenômeno já vem sendo relatado na literatura, em castanha (PIAGNANI et al., 1996), e, parece estar estreitamente relacionado com problemas na translocação do cálcio. Estratégias vêm sendo propostas para solucionar o problema e alterações nas concentrações de cálcio têm se mostrado eficientes para evitar o aparecimento da necrose do ápice (BAIRU et al., 2009).



**Figura 4.** Média de número de folhas em plântulas de mangueira oriundas de embriões abortados e imaturos aos 28 dias após emergência (DAE).

#### **Aclimatização e efeito do AIB no desenvolvimento das plantas germinadas**

Na Tabela 4, encontra-se a análise de variância para as variáveis altura de planta (ALT) e número de folhas (NF) nas diferentes concentrações de AIB ao longo dos primeiros 30 dias de aclimatização.

**Tabela 4.** Resumo do quadro da análise de variância para as variáveis: altura planta (ALT) e número de folhas de mangueira (NF), nas diferentes concentrações de AIB ao longo dos primeiros 30 dias de aclimatização.

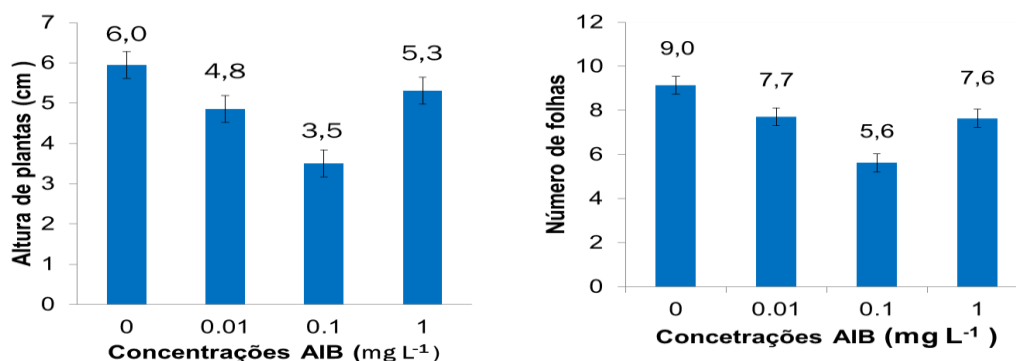
FV	GL	QM	
		ALT	NF
Tratamento	3	45,0800*	4,8183*
Erro a	52	12,0054	1,2408
Avaliação	2	55,0402**	0,0826
Tratamento x Avaliação	6	1,9443	0,2667
Erro b	104	3,5008	0,3430
CV (%)		38,15	21,62
Média Geral		4,9042	7,5286

\*\* e \* significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.

Os melhores resultados para ambas as variáveis foram obtidos na ausência de AIB com solução saturando o substrato, deixando evidente o efeito inibitório da auxina para plântulas de mangueira,(Figura 5).

O uso de auxinas na fase de enraizamento de muitas espécies, principalmente do ácido Indolbutírico (AIB) vem sendo relatado na literatura como um promotor de melhores taxas de sobrevivência das plantas nesta fase. Porém, seu uso *in vitro* pode acarretar a formação de calos e outras alterações indesejáveis que acabam por influenciar na posterior taxa de sobrevivência.

Neste trabalho o uso do AIB na etapa de aclimatização, foi uma forma de evitar a ocorrência destas anormalidades durante o cultivo *in vitro*. O efeito do AIB no enraizamento e aclimatização *ex vitro* já vem sendo testado para outras espécies com resultados promissores, inclusive para espécies lenhosas de difícil enraizamento *in vitro*, destacando a mangueira (FERMINO JÚNIOR et al., 2011).



**Figura 5.** Altura de plantas de mangueira da variedade Tommy Atkins nas diferentes concentrações de AIB aos 30 dias após aclimatização.

Fermino et al., (2011) utilizaram a metodologia de imersão rápida da base das plantas em diferentes concentrações das soluções de AIB, o que pode ter contribuído para os bons resultados obtidos. Ainda assim esses autores constataram que algumas concentrações inibiram o enraizamento das plantas de *Tectona grandis*.

Os resultados mostram que ao longo do tempo as plantas vão se desenvolvendo sem problemas e apresentam crescimento, o que se considera como a consolidação do protocolo, já que muitas espécies têm problemas nesta etapa com perda e morte das plantas, (Tabela 5).

**Tabela 5.** Médias de altura de plantas de mangueira aclimatizadas e saturadas com diferentes concentrações de AIB, em relação aos períodos de avaliações.

PERÍODOS	MÉDIAS
7	4,248214 b
15	4,419643 b
30	6,044643 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A etapa de aclimatização das plantas oriundas do cultivo *in vitro* pode ser limitante para o êxito de todo o processo, e, cuidados são necessários para evitar a perda das plantas por excesso de transpiração.

Antes de se proceder à aclimatização do material foi avaliado o número de folhas expandidas a fim de se ter um marco de partida para medir o crescimento das plantas durante o período de endurecimento. Os frutos abortados apresentaram uma média de 5,6 folhas expandidas em comparação com os imaturos, com um valor de 6,5 folhas. O número de folhas expandidas é um parâmetro importante para o êxito da aclimatização, ainda que necessitem de cuidados especiais.

A ausência de ceras, como cutinas, serinas, dentre outros importantes componentes da superfície foliar, assim como a restrita funcionalidade do aparato estomático e fotossintético podem comprometer a sobrevivência das plântulas ou plantas geradas *in vitro* e, conseqüentemente, todo o processo (ROGALSKI et al., 2003; SOUZA et al, 2007). Chamada de fase de endurecimento, a aclimatização visa justamente induzir o desenvolvimento destas estruturas, enquanto a planta está protegida (ambiente de elevada umidade) contra a perda de água, devido à transpiração excessiva, assim como iniciar o funcionamento dos processos de fotossíntese.

As plantas provenientes do tratamento sem AIB tiveram 100% de sobrevivência, sem o registro de perdas ao longo das avaliações dos primeiros 30 dias após a aclimatização. Resultados semelhantes foram encontrados por Martins (1998), em lichieira, que verificou não haver influência positiva do AIB na sobrevivência das estacas. Roncatto et al. (1999) e Roberto et al. (2001), estudando o efeito do AIB no enraizamento de estacas de laranja 'Valência', verificaram que não houve influência desse regulador de crescimento na porcentagem de estacas sobreviventes.

Na Tabela 6, encontra-se o resumo da análise de variância para as variáveis: massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca das folhas (MSF), massa seca total (MST), e área foliar (AF) de plantas aclimatizadas de mangueira, submetidas à saturação com água destilada e três concentrações de AIB. Todas as variáveis não revelaram diferença significativa, com exceção da área foliar que revelou um efeito significativo a 1% de probabilidade do erro.

**Tabela 6.** Resumo da análise de variância para massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca das folhas (MSF), massa seca total (MST), e área foliar (AF), de plantas aclimatizadas de mangueira, submetidas à saturação com água destilada e três concentrações de AIB.

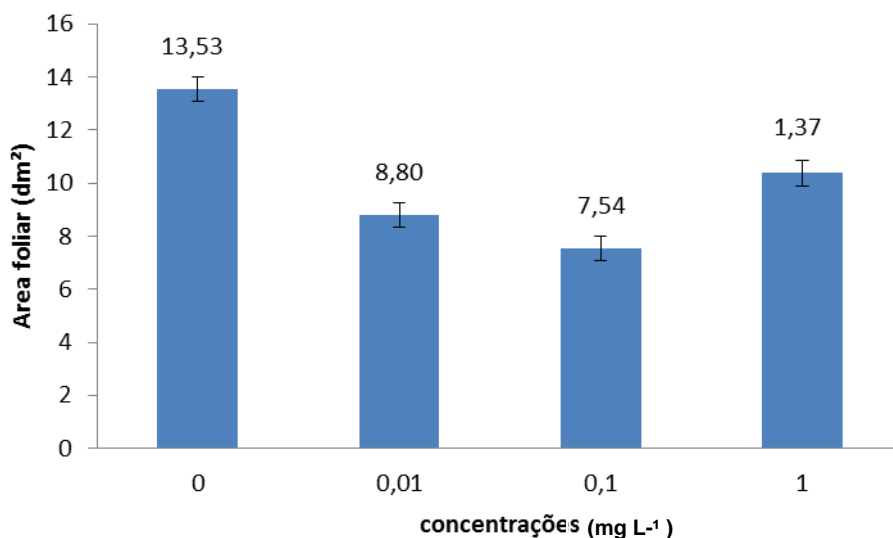
FV	GL	QM				
		MSC	MSR	MSF	MST	AF
Tratamento	3	0,1370 <sup>ns</sup>	0,0978 <sup>ns</sup>	0,2010 <sup>ns</sup>	1,1543 <sup>ns</sup>	53,5397 <sup>**</sup>
Erro	28	0,0598	0,1384	0,0835	0,5114	7,1135
CV (%)		54,73	54,73	28,51	33,21	26,52
Média Geral		0,4469	0,6798	1,0138	2,1531	10,0581

\*\* significativo a 1%, ns não significativo respectivamente, pelo teste de F.

Entre os parâmetros utilizados para medir o crescimento vegetal destaca-se à área foliar e a matéria seca acumulada pela planta por representarem esses fatores a “fabrica” e o “produto final”, respectivamente (PEIXOTO, 2009).

A variável área foliar das plantas de mangueira, aclimatizadas e saturadas com diferentes concentrações de AIB, confirmou o melhor desempenho, também, no tratamento testemunha, como já era esperado, uma vez que esse mesmo tratamento promoveu maior número de folhas. A maior área foliar foi de 13,53 dm<sup>2</sup>, ou seja, 44,27% superior a área foliar promovida pela concentração de 0,1 mg L<sup>-1</sup> do AIB, e foi maior em 23,36% em relação a área foliar das plantas saturadas com a concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> do AIB no mesmo período (Figura 6).

Esses resultados mostram que apesar destas concentrações não terem apresentado nenhum efeito deletério, também não estimulam a melhoria dos resultados quando comparada com o tratamento controle. Resultados semelhantes foram obtidos por em espécie do gênero *Ananas* e em macieira, onde o uso do regulador não promoveu o resultado esperado (PEDROTTI e VOLTOLINI, 1999).

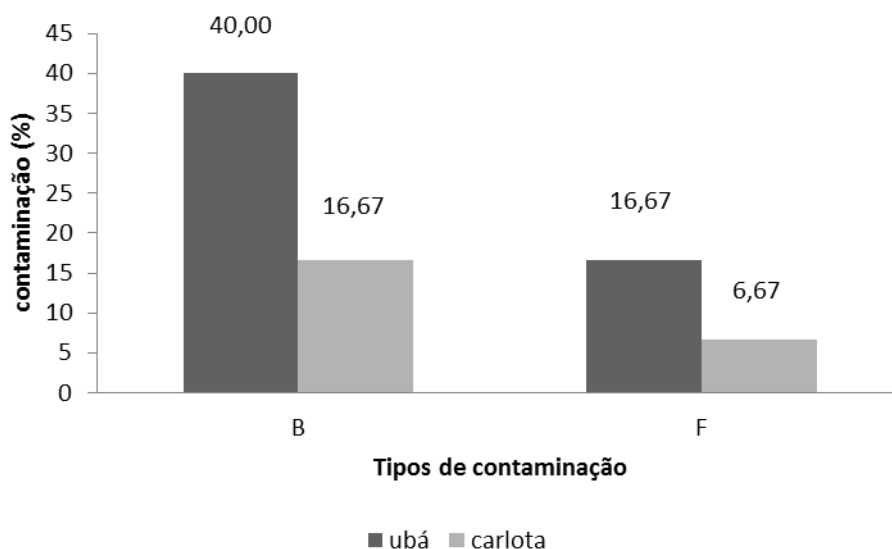


**Figura 6.** Área foliar em (dm<sup>2</sup>) de plantas de manga da variedade Tommy Atkins submetidas à saturação do substrato com diferentes concentrações de AIB na aclimatização.

### **Conservação *in vitro* de embriões nucleares**

Foram identificadas contaminações fúngicas e bacterianas em embriões das variedades Ubá e Carlota (Figura 7). A semelhança do que ocorreu com as variedades Tommy Atkins, as contaminações bacterianas podem ter sido de procedência endofítica, enquanto as de origem fúngicas podem estar mais relacionadas com manuseio inadequado ou à ineficiência do sistema de desinfestação.

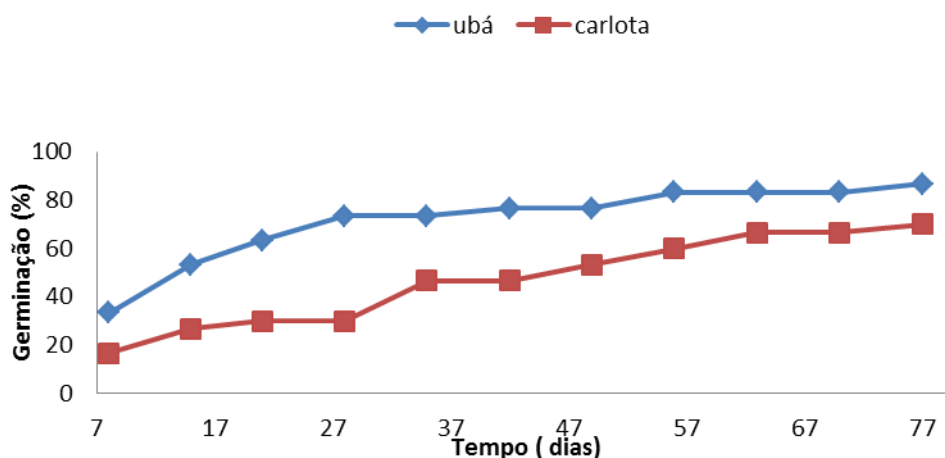




**Figura 7** Porcentagem de contaminações bacterianas (B) e fúngicas (F) de embriões imaturos de mangueira das variedades Ubá e Carlota aos 42 dias após inoculação.

O início da germinação ocorreu aos sete dias, com 33% e 16% de embriões germinados para as variedades Ubá e Carlota, respectivamente. A germinação deu-se ao longo de aproximadamente 80 dias, com maiores valores para a variedade Ubá (Figura 8), evidenciando a diferença de comportamento entre as duas variedades.

Os embriões nucelares são de tamanhos distintos, o que interfere na uniformidade da germinação e explica, em parte, o longo tempo para germinarem. No presente trabalho, ainda, há o adicional de que esses embriões são imaturos.



**Figura 8.** Porcentagem de germinação de embriões nucelares das variedades Ubá e Carlota

Observou-se na figura 8, que 67% dos embriões da variedade Ubá enraizaram, contrastando com 50% da variedade Carlota, que apresentou menor porcentagem de germinação. Vale destacar que se considerou embrião germinado aquele que emitiu a radícula, independentemente da radícula se desenvolver em raiz posteriormente. Essa ausência de raiz, entretanto, parece não ter comprometido o desenvolvimento das plântulas, visto que mesmo na ausência dessa estrutura, plantas de manga oriundas do cultivo de embriões *in vitro* podem ser aclimatizadas (resultados obtidos com a variedade Tommy Atkins).

Na Tabela 7 encontra-se o resumo da análise de variância para as variáveis, altura de plântula (ALT), número de folhas (NF), número de folhas senescentes (NFS), número de raiz (NR), número de embriões germinados (NEG) e número de embriões sobreviventes (NES), aos 12 meses de conservação *in vitro*.

**Tabela 7.** Resumo da Análise de variância para as variáveis, altura de planta (ALT), número de folhas (NF), quantidade de raiz (QR), número de embriões germinados (NEG) e número de embriões sobreviventes (NES), de mangueira das cultivares UBÀ e CARLOTA aos 12 meses de conservação *in vitro*.

FV	GL	QM							
		ALT	NF1	NF2	NF3	NFS	QR	NEG	NES
Tratamento	1	0,65 <sup>ns</sup>	2,49 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,037 <sup>ns</sup>	9,72**	0,01 <sup>ns</sup>	2,84**	0,56*
Erro	33	3,53	0,67	0,66	0,22	0,42	0,07	0,11	0,10
CV (%)		84,67	33,34	60,73	50,81	44,60	20,31	16,98	18,58
Média Geral		2,23	6,24	1,92	0,54	2,27	1,31	3,31	2,37

\*\* e \* significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F. <sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

De acordo com a Tabela 7, pode-se confirmar que apenas NFS, NEG e NRS foram significativas para a conservação. As demais variáveis não apresentaram diferença significativa. A senescência foliar *in vitro*, principalmente

quando se pretende aclimatizar o material, é um parâmetro muito usado para determinar o momento do subcultivo e por isso a importância de sua monitoração.

Observou-se que nem todos os embriões germinaram. E entre os que germinaram alguns não sobrevivem, por isso a importância de se registrar germinados e sobreviventes. O que se apresentou, nesse trabalho, foi uma média de três embriões germinados, mas dois que sobreviveram. Esta mortalidade dos embriões ocorreu, principalmente, devido à malformações que impediam um desenvolvimento normal, comprometendo sua sobrevivência. A imaturidade fisiológica desses embriões pode ter sido a causa destes resultados.

As variáveis selecionadas neste trabalho para avaliação são importantes para a conservação *in vitro*, pois expressam o desenvolvimento da planta e seu estado de conservação ao longo do período de cultivo.

Em trabalhos de conservação *in vitro* é comum a busca pela redução do metabolismo da planta a fim de reduzir seu crescimento e poder reduzir o número de subcultivos, facilitando o manejo da coleção e evitando variações genéticas (SOUZA et al., 2007; SANTOS et al., 2012). Todavia, no caso do presente trabalho o material a ser conservado são plantas oriundas da germinação *in vitro* de embriões nucelares, cujas demandas nutricionais são bem mais complexas, além das diferenças observadas entre os próprios embriões. Desse modo, busca-se, a emergência de uma plântula saudável, capaz de se desenvolver e se manter por tempo prolongado nas condições de conservação.

Na Tabela 8, encontram-se as médias das variáveis, NFS, NEG e NES. Observaram-se que todas as variáveis apresentaram diferenças significativas nas duas variedades observadas, registrando-se maior número de folhas senescentes e maior número de embriões germinados e embriões que sobreviveram na variedade Ubá.

Comparando-se os valores referentes à folhas senescentes de ambas as variedades com a média observada em NF1 (6,24) (Tabela 7), a variedade Ubá indica necessidade de subcultivo ou resgate da planta para a condição *in vivo*, já que apresentou aproximadamente 70% de suas folhas verdes em senescência (4,27). Os resultados obtidos com a Carlota foram, em termos de conservação, bastante interessantes, visto que mantiveram sua integridade fisiológica por mais tempo, comparando-se com a Ubá, apesar de apresentarem menor porcentagem de germinação e menores valores para embriões sobreviventes.

Em manga, o número de embriões nucelares em variedades poliembriônicas pode variar de 1 a 13, sendo que registros destacam uma média de 6,5 e 3,0 embriões (BORGES et al., 1999), para as variedades Ubá e Carlota, respectivamente (FONSECA et al., 1998). Comparando esses números com o que germinou *in vitro*, neste trabalho, é possível constatar a importância da maturação fisiológica, assim como das condições *in vitro* para a germinação desses embriões.

No caso de variedades poliembriônicas de citros, o número de embriões por semente também variou, entre e dentro de variedades, em decorrência das influências do meio ambiente e dos genótipos envolvidos nas hibridações. Em sementes híbridas de *Citrus sinensis* (L). cv. Natal com *P. trifoliata*, Ribeiro et al. (1999) encontraram até 20 embriões em sementes de frutos imaturos. Entretanto, outras variedades de citros, destacando o limão cravo, apresentam média muito inferior a esses números, (1,5 embrião por semente), (SOARES-FILHO, 2000).

**Tabela 8.** Médias para as variáveis, número de folhas secas (NFS), número de embriões (NEG) e número de embriões sobreviventes (NES), das cultivares de mangueira UBÀ e CARLOTA, aos 12 meses de conservação *in vitro*.

TRAT	NFS	NEG	NES
UBÀ	4,27 a	2,87 a	2,24 a
CARLOTA	0,75 b	2,00 b	1,66 b

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Apesar das diferenças observadas entre as variedades, assim como a não homogeneidade de germinação entre os embriões, as plântulas germinadas, de ambas as variedades, puderam se desenvolver e serem conservadas pelo período de 12 meses, mostrando ser factível esse tipo de conservação para variedades poliembriônicas de mangueira. É sabido, entretanto, que não existem garantias de que os embriões cultivados sejam todos nucelares e que a necessidade de testes moleculares para a confirmação de que as plantas conservadas são clones da planta matriz deve ser considerada como o próximo passo a ser dado.

O cultivo de meristemas apicais ou gemas axilares, técnicas mais aplicadas à conservação *in vitro* de muitas espécies, tem se mostrado extremamente difícil em mangueiras, principalmente pelos elevados índices de contaminação e exudação de polifenóis no meio de cultura, matando rapidamente os explantes inoculados.

Dessa forma a alternativa a partir do uso de embriões nucelares deve ser considerada e, portanto ser alvo de melhorias a partir do protocolo desenvolvido.

## CONCLUSÕES

É viável resgatar embriões abortados, e imaturos retirados da planta mãe para germiná-los *in vitro* e realizar o resgate de híbridos;

As plântulas oriundas de embriões abortados são inicialmente mais frágeis e se desenvolvem mais lentamente se comparadas com as que são obtidas de embriões imaturos;

O AIB não é determinante para a aclimatização das plantas da variedade Tommy Atckins *in vitro*;

A conservação *in vitro* de variedades poliembriônicas de mangueira a partir do cultivo *in vitro* de embriões nucelares foi possível por 12 meses nas condições estabelecidas;

A variedade Carlota mantém a integridade fisiológica por maior tempo em comparação com a variedade Ubá;

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINBO, O.; LABUSCHAGNE, M.; FREGENE, M. Embryo rescue as a method to develop and multiply a backcross population of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) from an interspecific cross of *Manihot esculenta* ssp. *Flabellifolia*. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9 n.42, p. 7.058-7.062, 2010

ARBELOA, A.; DAORDEN, M. E.; GARCÍA, E.; MARÍN, J. A. Successful establishment of *in vitro* cultures of *Prunus cerasifera* hybrids by embryo culture of immature fruits. **Acta Horticulturae**. 2002.

Asif, M.J.; Mak, C.; Othman, R.Y. (2001). *In vitro* embryo culture of wild *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* and factors affecting germination and seedling growth. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 67:267-270.

Bairu MW, Stirk WA, Van Staden J (2009) Factors contributing to *in vitro* shoot-tip necrosis and their physiological interactions. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 98:239–248

BARCELÓ, C.J.; NICOLÁS, R.G.; SABATER, G.B.; SÁNCHEZ, T.R. **Fisiología vegetal**. 6.ed. Madri: Pirámide, 2001. 566p.

Borges, C.A.M.; Siqueira, D.L.; Dias, D.C.; Cardoso, A.A. Caracterização e correlações biométricas de sementes da manga Espada e Ubá. *Ver. Ceres* 46(264) 219-229, 1999.

BUENO, L.C.S ; MENDES, A.N.G; CARVALHO, S.P de. **Melhoramento de plantas: princípios e procedimentos**. Lavras: UFLA, 2001.

CARVALHO, A. S. et al. Cultivo *in vitro* de embriões de nectarineira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., 2008, Vitória-ES. **Frutas para todos: estratégias, tecnologias e visão sustentável**. Vitória, 2008. CD-Rom.

CATARINA, C.S et al. **Germinação *in vitro* e embriogênese somática a partir de embriões imaturos de canela sassafrás (*Ocotea odorifera* Mez)** *Rev. Brasil. Bot.*, SP, V.24, n.4 (suplemento), p.501-510, dez. 2001

COSTA et al. **Conservação de fruteiras potenciais para o nordeste brasileiro** liv. Tópicos em Ciências Agrárias, v. 1, UFRB, 2009.

ERIG et al., Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* borkh.) cvs. galaxy, maxigala e mastergala. *R. bras. Agrociência*, v. 9, n. 3, p.221-227, jul-set, 2003.

FERMINO JÚNIOR, P. C. P.; Raposo, A.; Scherwinski-Pereira, J. E. ENRAIZAMENTO *EX VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE *Tectona grandis*. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 41, n. 1, p. 79-86, jan./mar. 2011.

FONSECA, v.J.A; DANTAS, A.C.V.L; FONSECA, N. COMPORTAMENTO DE PORTA – ENXERTOS MONOEMBRIÔNICOS E POLIEMBRIÔNICOS DA MANGUEIRA (*Mangífera indica* L.). Ver. *Magistra*, n.10, p.15 – 31, 1998.

HEE, W. S.; ADACHI, T. Production of interspecific hybrids between *Fagopyrum esculentum* and *F. homotropicum* through embryo rescue. **Sabrao Journal**, v. 29 n. 2 p. 89-96, 1997.

[http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exporta%C3%A7%C3%A3o/Comparativo\\_das\\_Exporta%C3%A7%C3%B5es\\_Brasileiras\\_de\\_Frutas\\_frescas\\_2009-2008.pdf](http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exporta%C3%A7%C3%A3o/Comparativo_das_Exporta%C3%A7%C3%B5es_Brasileiras_de_Frutas_frescas_2009-2008.pdf).

Acesso em :13 de junho. 2011.

IBGE. Produção Agrícola municipal 2009, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 08 de Ago. 2011.

IBGE. Produção Agrícola municipal 2012, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 17 de fev. 2013.

LITZ, R. E.; KNIGHT, R. L.; GAZIT, S. Somatic embryos from cultured ovules of polyembryonic *Mangifera indica*. **Plant Cell Reports**, v. 1, p. 264-266, 1982.

Litz R. E. In vitro somatic embryogenesis from nucellar callus in monoembryonic mango. *Hortic Sci* 19: 715–717; 1984.

LITZ, R.E.; LAVI, U. Biotechnology. In: LITZ, R.E. **The Mango**: botany, production and uses. Oxon Wallingford: CAB International. 1997. 587p.

Lopes, L.C; Machado, I.S.; Magoga, E.C.; Andrade, J.G.; Penna, H.C. e Moraes, L.E.F. Cultura de embrião e indução de brotos in vitro para micropropagação do pinhão-mansão. **Pesq. Agrop.bras.** Brasília, v.47, n7, p.900-905, 2012.

MANICA, **Avaliação de cultivares de manga sobre diferentes portaenxertos.** Disponível em: <http://www.prp.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inicci/enxertos/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo99.pdf> 1981.

MARTINS, A. B. G. **Enraizamento de estacas enfolhadas de três variedades de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.).** 1998. 100f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

MINARDI, B., VOYTENA, A., RANDI, ., ZAFFARI, G.. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. DOI:10.5007/2178-4574.2011n40p70. **INSULA Revista de Botânica**, Local de publicação (editar no plugin de tradução o arquivo da citação ABNT), 0, Nov. 2011. Disponível em: <http://www.journal.ufsc.br/index.php/insula/article/view/2178-4574.2011n40p70>. Acesso em: 16 Fev. 2013.

MUKHERJEE, S.K. Systematic and ecogeographic studies of crop gene pools: 1. *Mangifera* **IBPGR Secretariat**, Rome. 86 p. 1985.

PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P. Cultura de embriões. **Notícias da Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas**, Brasília, v.9, p.2-12, 2012.

PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A.; MACIEL, S. C. Porta-enxertos de macieira: enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plantas produzidas *in vitro*. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 12, n. 4, p. 32-34, dez. 1999.

PEIXOTO, C.P.; PEIXOTO, M. de F. da S.P. **Dinâmica do crescimento vegetal.** In: CARVALHO, C. A. L. de; DANTAS, A.C.V.L.; PEREIRA, F.A. de C.; SOARES, A.C.F.; MELO FILHO, J.F. de; OLIVEIRA, G.J.C. de. Tópicos em ciências Agrárias. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009. p. 39-53.

PIAGNANI, C., ZOCCHI, G., MIGNANI, I., 1996. Influence of Ca<sup>2+</sup>-benzyladenine on chestnut (*Castanea sativa* Mill.) *in vitro*-tip necrosis. *Plant Science* 118,89–95.

PINTO e FERREIRA. **Recursos genéticos e melhoramento da mangueira no Brasil.** Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro, Embrapa 2010.



SILVA, P. C. G. & CORREIA, R. C. **Cultivo da Mangueira**. 2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/socioeconomia.htm>> Acesso em: 18/Abr./2013.

SINGH, P.D., SINHA, K., TRIPATHI, B.M., BOECHAT-ROBERTY, H.M. 1989. An analysis of spectrophotometric observations of comets Austin (1982g) and Bradfield (1980t). *Earth, Moon and Planets* 47, 231.

SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G.; JUNGHANS, D. T.; MENDES, R. A.; MONTARROYOS, A. V. V. Cultura de tecidos em mandioca: técnicas e aplicações. In: SOUZA, L. da S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P de; FUKUDA, W. M. G. (Eds.). **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas - BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006a. p. 364-432.

SOUZA et al.,. **Cultivo in vitro de embriões imaturos de manga**. 2009. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/873499/1/ID27189pdf1750.pdf>. Acesso em: 18/Abr./2013.

RIBEIRO, V. G.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; BEARZOTI, E.; D ANGELO NETO, S. Estádios e desenvolvimento embrionário e localização do embrião zigótico em sementes de citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.8, p.1327- 1333, 1999.

ROBERTO, S.R.; PEREIRA, F.M.; CAETANO, A.C. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.1, p. 206-208. Abril, 2001.

RONCATTO, G.; GONÇALVES, E.D.; DUTRA, L.F.; KERSTEN, E. Influência do sombreamento das plantas e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de laranjeira (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Cv. Valência. **Revista Científica Rural**, Pelotas, v.4, n.2, p.60-65, 1999.

ROGALSKI, M. et al. Enraizamento in vitro de portaenxerto de Prunus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.2, p.293-6, 2003.

SANTOS, T.C; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK, A.F.; MENEZES, M.L.A. **CONSERVAÇÃO IN VITRO DE ACESSOS DE VETIVER**, *Chrysopogon zizanioides* (L.) ROBERTY (Poaceae). *Biosci.J.*, Uberlandia, v. 28,n.6,p.963-970,Nov./Dec.2012.

SILVA, P. C. G. & CORREIA, R. C. **Cultivo da Mangueira**. 2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/socioeconomia.htm>> Acesso em: 18/Abr./2013.

SOARES FILHO, W. dos S.; MEDRADO, A. C. de M.; CUNHA, M. A. P. da; CUNHA SOBRINHO, A. P. da; PASSOS, O. S. Frequência de híbridos em cruzamentos controlados de citros: cultivo de sementes versus cultivo *in vitro* de embriões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.7, p.981-988, 2002.

SOUZA, A.V.; PEREIRA, A.M.S. Enraizamento de plantas cultivadas in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.4, p.103-117, 2007.

UMA et al. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp.). *Plant Cell Tiss Organ Cult* (2011) 105:105–111, 2011.

## **CAPÍTULO 2**

### **REGULADORES DE CRESCIMENTO EM MUDAS ENXERTADAS DE MANGUEIRA EM CULTIVO PROTEGIDO.<sup>2</sup>**

---

<sup>2</sup>Artigo submetido ao corpo editorial da revista Bragantia

## REGULADORES DE CRESCIMENTO EM MUDAS ENXERTADAS DE MANGUEIRA EM CULTIVO PROTEGIDO.<sup>2</sup>

Autora: Celma Caldas Rebouças

Orientador: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Co-Orientador: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar a ação dos reguladores vegetais GA<sub>3</sub> e Stimulate<sup>®</sup> aplicados via pulverização foliar, no crescimento e desenvolvimento de mudas enxertadas de mangueira (*Mangifera indica* L.), variedade Tommy Atkins. O experimento foi realizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura localizada em Cruz das Almas - Bahia, entre os meses de maio a agosto de 2012. Foram utilizadas mudas de mangueira enxertadas da variedade Tommy Atkins apresentando um mês de idade, que foram retiradas de sacos individuais de polietileno e transplantadas para vasos de plástico reciclável, com capacidade de 10 kg de terra vegetal. O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado (DIC), no esquema de parcelas subdivididas no tempo. As parcelas foram representadas por 7 tratamentos (3 concentrações de GA<sub>3</sub> e 3 concentrações de Stimulate<sup>®</sup>) e 1 tratamento com água destilada como controle. Os tratamentos com Stimulate<sup>®</sup> foram às concentrações ( 5,0; 10,0 e 20,0 mL L<sup>-1</sup>) de solução e com GA<sub>3</sub> foram às concentrações ( 0,25; 0,5 e 1,0 mL L<sup>-1</sup>) de solução. O crescimento foi quantificado com a massa seca das diversas frações da planta como raiz, folhas, parte aérea e os índices fisiológicos foram determinados através da área foliar (AF), e da matéria seca total (MST) da planta. O stimulate<sup>®</sup> promoveu efeitos significativos sobre o número de folhas, área foliar, massa seca da raiz, folha e massa seca total. O GA<sub>3</sub> foi eficiente na altura de planta, número de folhas, massa seca da haste, raiz e massa seca total. O desempenho vegetativo da planta deve ser avaliado pela resposta conjunta dos índices fisiológicos, uma vez que estão interligados, e, constituem ferramentas eficazes para identificação dos diferentes tratamentos.

**Palavras-chave:** *Mangifera indica* L., Stimulate<sup>®</sup>, GA<sub>3</sub>, Manga.

## **GROWTH REGULATORS IN GRAFTED HOSE, IN PROTECTED CULTIVATION<sup>2</sup>.**

Author: Celma Caldas Rebouças

Adviser: Prof. Dr. Clovis Pereira Peixoto

Co-Adviser: Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**ABSTRACT:** This study aimed to evaluate the effect of plant growth regulators GA<sub>3</sub> and Stimulate<sup>®</sup> applied via foliar spray on growth and development of grafted mango (*Mangifera indica* L.), variety Tommy Atkins. The experiment was conducted at Embrapa Cassava and Fruits located in Cruz das Almas - Bahia, between the months of May to August 2012. Were grafted mango seedlings of the variety Tommy Atkins presenting a month old, which were taken from individual polyethylene bags and transplanted to plastic pots recyclable, with a capacity of 10 kg of topsoil. The experiment was arranged in a completely randomized design (CRD), in a split-plot in time. The plots were 7 treatments (3 concentrations of GA<sub>3</sub> and 3 concentrations of Stimulate<sup>®</sup>) and 1 treatment with distilled water as a control. Treatments that Stimulate<sup>®</sup> were at concentrations (5.0, 10.0 and 20.0 mL L<sup>-1</sup>) solution and were GA<sub>3</sub> concentrations (0.25, 0.5 and 1.0 mL L<sup>-1</sup>) solution. The growth was quantified with a dry mass of different fractions of the plant as root, leaves, shoots and physiological indices were determined by leaf area (LA), and total dry matter (TDM) of the plant. The Stimulate<sup>®</sup> promoted a significant effect on the number of leaves, leaf area, root dry mass, leaf and total dry mass. The GA<sub>3</sub> was effective in plant height, number of leaves, dry weight of stem, root and total dry mass. The vegetative plant performance should be evaluated by the combined response of physiological indices, since they are interconnected and constitute effective tools to identify the different treatments.

**Key - words:** *Mangifera indica* L., Stimulate<sup>®</sup>, GA<sub>3</sub>, Mango.

## INTRODUÇÃO

A manga é uma fruta nativa da Ásia mais precisamente da Índia, sudeste do continente asiático e das ilhas circunvizinhas, sendo um dos melhores e dos mais largamente aproveitados frutos de origem tropical (SILVA, 1999).

A produção brasileira é voltada para atender, principalmente, o mercado interno. Na Bahia, a região do Submédio São Francisco, apresenta os cultivos mais tecnificados de manga do país e responde por mais de 95% das exportações brasileiras dessa fruta (EMBRAPA, 2004).

A preferência dos consumidores por frutos menos fibrosos gera uma demanda por novas tecnologias e melhoria na qualidade das mudas aumente, forçando o desenvolvimento de pesquisas na área. Quanto ao nível de tecnologia aplicado à cultura, destaca-se a indução floral, considerada uma importante estratégia para a introdução no mercado consumidor de frutos na entressafra (EMBRAPA, 2004).

Os reguladores vegetais são usados rotineiramente para manuseio da indução floral, em mangueira. Entretanto, ainda, não constituem uma prática utilizada para controle da fitomassa da planta em geral (TAIZ e ZEIGER, 2004). A associação de dois ou mais reguladores vegetais ou de reguladores vegetais com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes, vitaminas), é designada de bioestimulante ou estimulante vegetal, como por exemplo, o Stimulate<sup>®</sup>, que contém em sua composição: 0,009% de cinetina (citocinina), 0,005% de ácido giberélico (giberelina), 0,005% de ácido indolbutírico (auxina) e 99,981% de ingredientes inertes. Esse produto químico pode, em função da sua composição, concentração e proporção das substâncias, incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal, estimulando a divisão celular, diferenciação e o

alongamento das células, favorecer o equilíbrio hormonal da planta, podendo, também, aumentar a absorção e a utilização de água e dos nutrientes pelas plantas (VIEIRA; CASTRO, 2004).

Conhecer os mecanismos de ação e efeitos fisiológicos destas substâncias é importante para estudos que visem alterar as respostas fisiológicas das plantas, através de manipulação destas substâncias e/ou a aplicação de seus similares (CATO, 2006). Plantas submetidas a aplicações de giberelinas podem ser induzidas a obter um maior crescimento na sua estatura (ECHER, 2006).

As giberelinas são sintetizadas no ápice do caule, nas folhas em crescimento e em sementes e embriões em desenvolvimento, porém não simultaneamente e nas mesmas proporções taxas (RODRIGUES e LEITE, 2004). Aplicação exógena deste regulador poderá promover o crescimento de plantas intactas, pois segundo Stefanini (2002) os efeitos das giberelinas aparecem no crescimento (alongamento do caule), comprimento dos internódios, área foliar e acúmulo de matéria seca.

A análise de crescimento tem sido usada na tentativa de explicar diferenças no crescimento, de ordem genética ou resultante de modificações do ambiente (PEIXOTO, 2009) e constitui uma ferramenta muito eficiente para a identificação de materiais promissores (PEIXOTO, et al., 2011). Além de identificar características que, no crescimento inicial, indiquem possibilidade de aumento no rendimento da planta adulta, favorecendo os trabalhos de melhoramento na busca por materiais mais produtivos. O fundamento da análise de crescimento baseia-se no fato de que, em média, 90% da matéria orgânica acumulada ao longo do crescimento da planta resultam da atividade fotossintética e o restante, da absorção mineral do solo (BENINCASA, 2003). O acúmulo de matéria seca e o incremento da área foliar, quantificados em função do tempo, são utilizados na estimativa de vários índices fisiológicos.

Dentre os índices fisiológicos, destaca-se taxa de crescimento absoluto, taxa de crescimento relativo, a taxa assimilatória líquida, razão de área foliar e razão de massa foliar, (BENINCASA, 2004; PEIXOTO, 2009; CRUZ, 2011). Assim, busca-se com esse trabalho, avaliar a ação dos reguladores vegetais GA<sub>3</sub> e Stimulate<sup>®</sup> aplicados via pulverização foliar no crescimento e desenvolvimento

de mudas enxertadas de mangueira (*Manguijera índica L.*), variedade Tommy Atkins.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em condições de telado na Embrapa Mandioca e Fruticultura localizada em Cruz das Almas, Bahia. O experimento foi instalado em maio de 2012, onde se utilizou mudas de mangueira enxertadas da variedade Tommy Atkins, apresentando um mês de idade, que foram posteriormente retiradas de sacos individuais de polietileno e transplantadas para vasos de plástico reciclável, com capacidade de 10 kg de terra vegetal.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com sete tratamentos e quatro pulverizações no tempo, em quatro repetições, contendo 12 plantas por repetição. Os tratamentos foram 3 concentrações ( 5,0; 10,0 e 20,0 mL L<sup>-1</sup>) de solução de Stimulate<sup>®</sup>, 3 de ( 0,25; 0,5 e 1,0 mL L<sup>-1</sup>) de solução de GA<sub>3</sub> e 1 tratamento com água destilada como controle. As pulverizações foram feitas com uso de pulverizador manual, a partir dos 45 dias após o transplante (DAT), em intervalos de 30 dias cada (45, 75, 105, 135 DAT).

Aos 45 DAT foram avaliadas 8 plantas, em cada parcela, para se ter como referência do estado fisiológico que as plantas apresentavam antes de serem submetidas às pulverizações. Aos 75 DAT iniciaram-se as avaliações destrutivas, 30 dias após a primeira pulverização (DAP), prosseguindo em intervalos regulares, até o final do experimento (160 DAT). Durante esse período, foram efetuadas coletas regulares para a avaliação do número de folhas, por meio de contagem direta, a altura das plantas, definida com auxílio de régua milimetrada, o diâmetro de caule obtido com uso de um paquímetro, e a determinação da massa da matéria seca nas diversas frações da planta (raiz, caule e folhas).

A matéria seca total (g planta<sup>-1</sup>) resultou da soma da massa seca nas diversas frações, após secarem em estufa de ventilação forçada (65°C ± 5°C), até atingirem massa constante. A área foliar foi determinada mediante a relação da massa da matéria seca das folhas e massa da matéria seca de dez discos foliares, obtidos com o auxílio de um perfurador de área conhecida (PEIXOTO, 2009; MACHADO, 2010).



Com base no acúmulo de matéria seca total e na área foliar foram determinados os índices fisiológicos conforme a metodologia utilizada por Peixoto e Peixoto (2011), e Cruz (2011).

a) Taxa de Crescimento Absoluto (TCA), através da fórmula  $TCA = (W2 - W1) / (T2 - T1) = g \text{ dia}^{-1}$ , onde W1 e W2 é a variação da massa seca entre dois períodos e T1 e T2 a variação de tempo entre os períodos;

b) Taxa de Crescimento Relativo (TCR), através da fórmula  $TCR = (\ln W2 - \ln W1) / (T2 - T1) = g \text{ g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ , onde  $\ln W1$  e  $\ln W2$  é a variação do logaritmo neperiano da massa seca entre dois períodos e T1 e T2 a variação de tempo entre os períodos;

c) Taxa Assimilatória Líquida (TAL), através da fórmula  $TAL = [(W2 - W1) \times (\ln L2 - \ln L1)] / [(L2 - L1) \times (T2 - T1)] = g \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ , onde  $\ln L1$  e  $\ln L2$  é a variação do logaritmo neperiano da área foliar entre dois períodos, W1 e W2 é a variação da massa seca entre dois períodos e T1 e T2 a variação de tempo entre os períodos,

d) Razão de Área Foliar (RAF), através da fórmula  $RAF = L / W = \text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$ , onde L é a área foliar e W a massa seca total da planta.

Para os dados obtidos foi realizada análise de variância considerando o delineamento inteiramente casualizado (DIC), no esquema de parcelas subdivididas no tempo. As parcelas foram representadas por 7 tratamentos (3 concentrações de GA<sub>3</sub> e 3 concentrações de Stimulate<sup>®</sup>) e 1 tratamento com água destilada, como controle. A subparcela com quatro repetições foi representada pelas épocas de avaliações (45, 75, 105, 135, 160 DAT). Para as médias dos tratamentos foram ajustadas equações de regressão. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS. Os índices fisiológicos foram apresentados sem serem submetidos à Análise de Variância, devido ao fato desses dados não obedecerem às pressuposições da análise de variância (BANZATTO e KRONKA, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No apêndice 1, encontra-se o resumo do quadro da análise de variância (quadrados médios) correspondente as variáveis a altura de planta (ALT), número de folhas (NF), diâmetro de caule (DC), área foliar (AF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca da folha (MSF), e massa seca total (MST) de mangueira em resposta aos tratamentos utilizados.

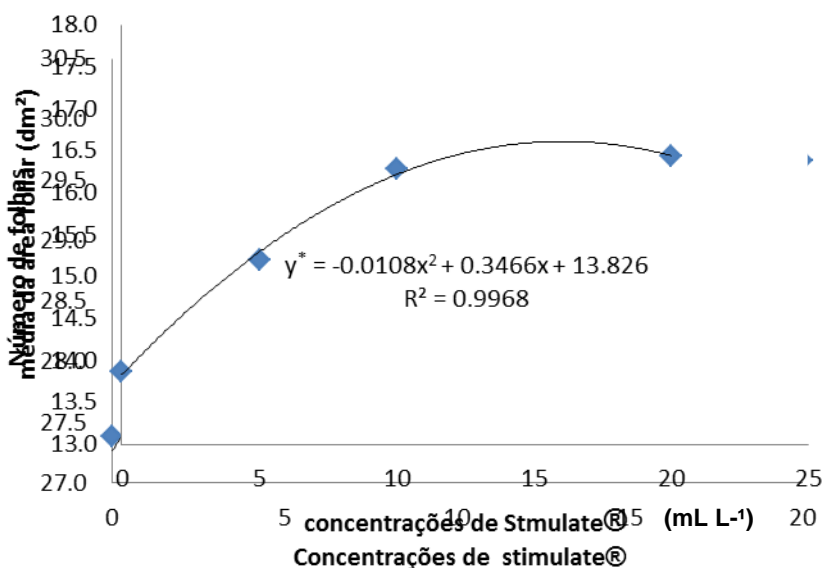
A curva de regressão que representa a variação da média de número de folhas se encontra na Figura 1. Os resultados evidenciaram efeito significativo ( $P < 0,01$ ) em função das concentrações aplicadas do bioestimulante vegetal Stimulate<sup>®</sup>. Foi possível observar que as pulverizações com a concentração de 10 mL L<sup>-1</sup> desse bioestimulante promoveu um aumento médio no número de folhas de 27,27 que corresponde a 8,76% superior, em relação ao ponto de mínimo promovido pelo tratamento testemunha.

Nesse trabalho estima-se que a melhor concentração a ser utilizada seria a de 15,07 mL L<sup>-1</sup> de Stimulate<sup>®</sup>, pois a mesma proporcionou um ponto máximo de número de folhas de 30,21, ou seja, 9,76% superior ao ponto de mínimo. Todavia quando se observa o efeito da concentração de 20,0 mL L<sup>-1</sup> com Stimulate<sup>®</sup>, nota-se que ocorreu um leve decréscimo porcentual de 1% para essa variável, em relação ao ponto de máximo, porém, ainda, promoveu efeito superior em 8,74%, comparado ao tratamento testemunha.

Esses resultados podem ser atribuídos aos reguladores vegetais presentes em uma proporção equilibrada e favorável (SAMPAIO, 1998), ou seja, a composição citocinínica em equilíbrio com auxina e giberelina promoveu um efeito positivo no número de folhas. A citocinina promove alongação da gema lateral e, também, podem iniciar um mecanismo de dreno para essa região promovendo transporte de substâncias de crescimento, favorecendo o aumento do número de folhas.

Oliveira, (2010), trabalhando com stimulate<sup>®</sup> viapré-embebição de sementes e pulverização foliar no crescimento inicial de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) verificaram que houve aumento no número de folhas, em função das concentrações aplicadas de 24,0 e 30,0 mL L<sup>-1</sup> Stimulate<sup>®</sup> de solução por via foliar. Domingues (2004), também, testando o efeito do Stimulate<sup>®</sup> na

cultura da soja, verificaram que houve aumento no número de folhas, em aplicação foliar.



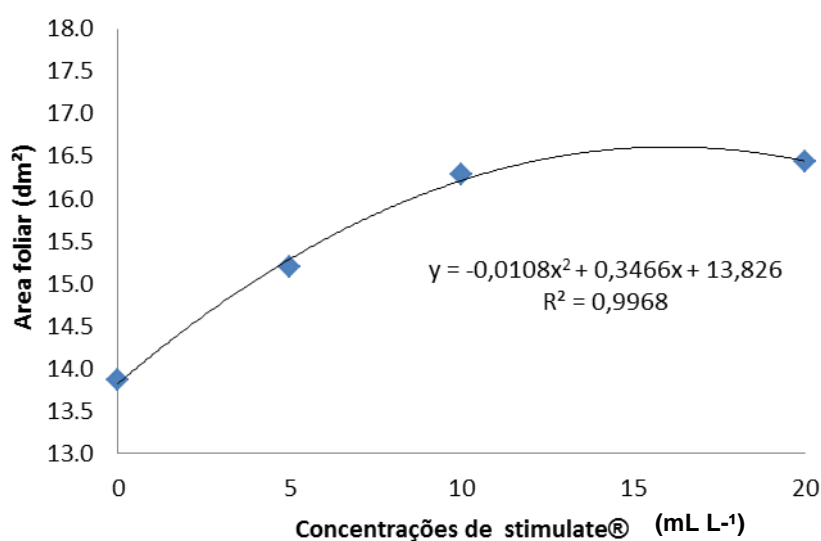
**Figura 1.** Curva polinomial para número de folhas, em plantas de mangueira (*Mangifera indica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada e três concentrações de Stimulate® em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

A equação polinomial  $y = -0,0108x^2 + 0,3466x + 13,826$ , foi eficiente para explicar o desempenho das mudas de mangueira quanto a área foliar (dm<sup>2</sup>), em resposta as pulverizações com concentrações do bioestimulante vegetal Stimulate®, com coeficiente de determinação de 99,6%, que revelou o elevado grau de uniformidade das mudas.

Seguindo a derivação da equação obtida, pode-se observar que a área foliar, superfície responsável pelo processo fotossintético nas plantas, aumentou linearmente a partir da primeira pulverização, aos 45 dias do Transplântio (45 DAT), alcançando ponto máximo igual a 16,81(dm<sup>2</sup>), que corresponde a 17,8%, proporcionado pela melhor concentração estimada de 17,3mL L<sup>-1</sup> do Stimulate® e maior que o ponto mínimo (13,83), promovido pelo tratamento testemunha.

No entanto, a maior concentração de 20 mL L<sup>-1</sup> Stimulate®, promoveu uma área foliar menor em 4%, em relação à promovida pela concentração estimada, porém, ainda, foi superior ao tratamento testemunha em 17,3% (Figura 2). Segundo Santos e Viera (2005), os reguladores vegetais presentes no Stimulate®

resultaram em incremento de 61,2% na área foliar de plantas de algodoeiro, porém, nas doses mais elevadas, ocorreram menores valores nessa característica. Esta tendência foi observada por Lima et al. (2007) para mudas de mamoeiro, avaliadas até aos 90 dias da emergência (90 DAE). Dados de crescimento semelhantes foram obtidos por Lessa (2007) trabalhando com cultivares de bananeira. Esse crescimento contínuo é reflexo do acúmulo de fitomassa durante a fase inicial de desenvolvimento da planta (BENINCASA, 2003; PEIXOTO e PEIXOTO (2009); PEIXOTO et al., 2011).



**Figura 2.** Curva polinomial para área foliar (dm<sup>2</sup>), em plantas de mangaueira (*Manguifera indica* L.) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada e três concentrações de Stimulate® em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

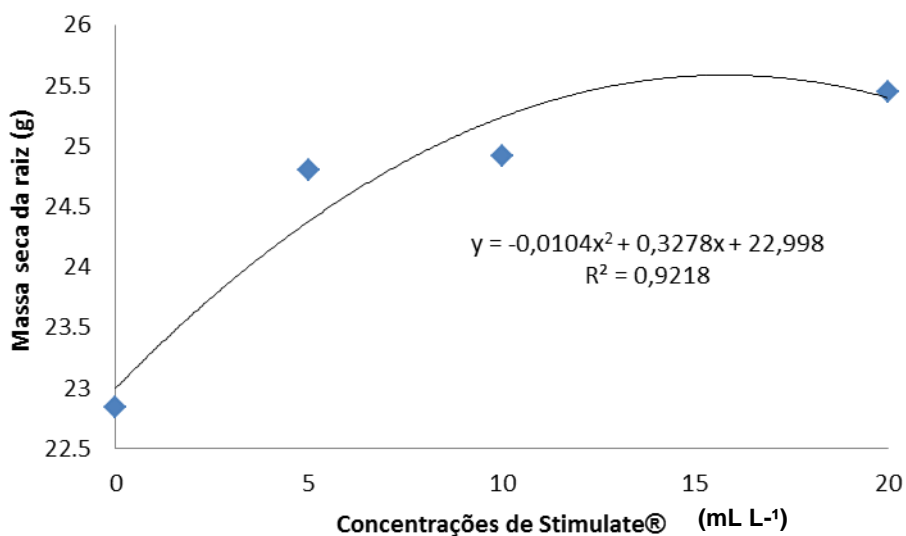
A variação da massa seca de raízes de plantas sob pulverização foliar de Stimulate® e GA<sub>3</sub>, estão apresentadas nas Figuras 3 A e B, respectivamente. Com relação á massa seca da raiz obtida com aplicação do Stimulate®, a equação polinomial  $y = -0,0104x^2 + 0,3278x + 22,998$ , foi eficiente em relação às concentrações do bioestimulante vegetal, com um coeficiente de determinação de 92,1%. Foi possível observar que a concentração estimada, que promoveria maior acúmulo de massa seca, na raiz foi de 16,35 mL L<sup>-1</sup>, que promoveu um ponto de

máximo igual a 25,66 de massa seca, correspondendo a um percentual de 10,4% superior ao tratamento testemunha.

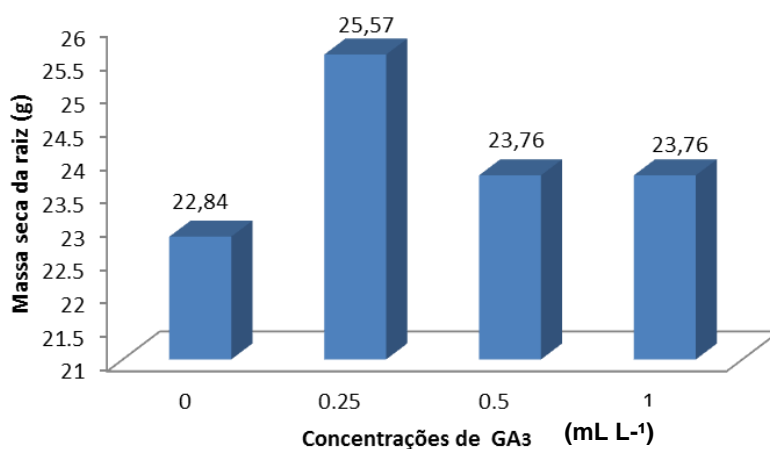
Estes resultados corroboram com os observados por Echer et al. (2006) em maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flacicarpa*) onde verificaram que a concentração de 4 mL L<sup>-1</sup> de Stimulate® incrementou positivamente a massa seca de raízes. Porém, não estão de acordo com os encontrados por Oliveira, (2010), trabalhando com plantas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), onde obtiveram um decréscimo no acúmulo de massa seca com o aumento das concentrações desse bioestimulante, concluindo que o regulador apresentou um possível efeito fitotóxico progressivo, com o aumento das concentrações avaliadas.

Não foi possível o ajuste de uma equação de regressão de acúmulo de matéria seca de raiz, utilizando pulverização foliar de GA<sub>3</sub> com valores de coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) alto e com significado biológico, pois, segundo Banzato e Kronka (2008), quando se determina uma equação de regressão, é conveniente apresentar em percentagem, quanto da variação na resposta é explicada pela regressão em questão. Contudo, a dose de giberelina que mais se destacou foi a de 0,25 mL L<sup>-1</sup>, quando comparada com as demais doses estudadas, proporcionando um acúmulo médio de massa seca de aproximadamente 26,0 (g), valor que foi 12,3% mais elevado quando comparado ao tratamento testemunha. O valor de massa seca para as doses de 0,5 e 1,0 mL L<sup>-1</sup> foram semelhantes, apresentando um acúmulo de aproximadamente 24,0 (g), resultado que ainda foi 5% mais elevada, quando comparado ao ponto de mínimo representado pelo tratamento testemunha, na mesma época de avaliação.

O efeito da redução da massa seca em raízes é uma consequência da redução que ocorre no crescimento destes órgãos e a inibição de forma diferenciada a partir da concentração máxima. Isto foi observado em raízes e caules de maracujá (Santos, 2010), onde sugere que o ácido giberélico atua promovendo o crescimento para os diferentes órgãos, indicando o mesmo mecanismo de ação observado após tratamento com auxinas. Resultados diferentes foram encontrados por Almeida (2009), que após pulverizações de giberelina líquida em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) não verificou diferenças significativas entre os tratamentos para essa variável.



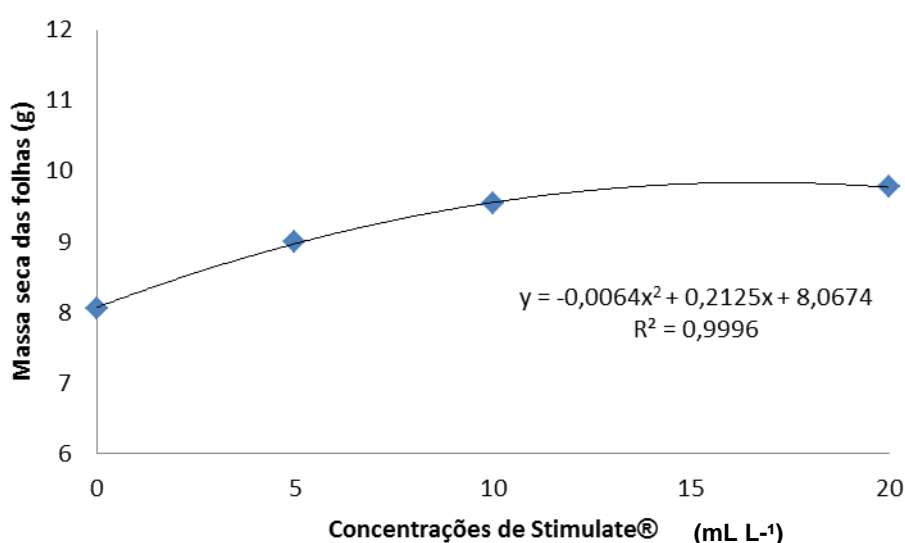
**Figura 3 A.** Curva polinomial para Médias de acúmulo de massa seca da raiz de plantas de mangueira (*Manguijera índica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada e três concentrações de Stimulate® em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.



**Figura 3 B.** Acúmulo de massa seca da raiz de plantas de mangueira (*Manguijera índica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada e três concentrações de GA<sub>3</sub> em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

A massa seca das folhas em função do bioestimulante vegetal Stimulate®, apresentou significância e é representada pela equação quadrática  $y = -0,006x^2 + 0,212x + 8,067$ , com coeficiente de determinação de 99,9%. Todas as três

concentrações, utilizadas nesse experimento, apresentaram efeito superior aos promovidos pelo tratamento testemunha com água destilada. No entanto, a concentração estimada que proporcionaria melhor acúmulo nas folhas foi a de 17,66 mL L<sup>-1</sup> do produto, que promoveu um ponto de máximo igual a 9,194 g superando em 10,64%, o ponto de mínimo promovido pelo tratamento com água destilada. Os resultados encontrados estão em consonância com os obtidos por Echer et al. (2006), que nas maiores concentrações do estimulante, observaram uma resposta positiva para a massa seca de folhas, em maracujazeiro amarelo, quando utilizaram 0, 4, 12, 16 e 20 mL L<sup>-1</sup> de Stimulate<sup>®</sup>. O comportamento apresentado na massa seca das folhas pode ser explicado pela eficiente e eficaz capacidade do Stimulate<sup>®</sup>, em promover a produção de compostos orgânicos (VIEIRA e CASTRO, 2004). Entretanto, Klahold et. al. (2006) não encontraram diferenças significativas para a massa seca das folhas em soja, quando utilizaram entre 0,0 e 5,0 mL L<sup>-1</sup> de Stimulate<sup>®</sup>.

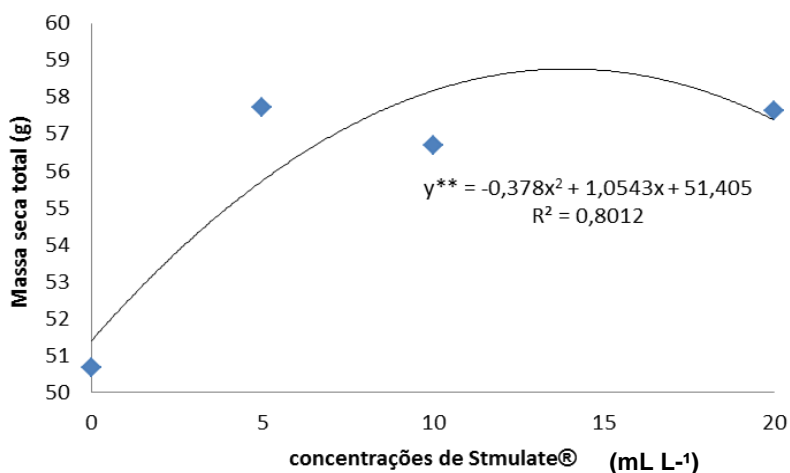


**Figura 4.** Curva polinomial para massa seca das folhas de plantas de mangueira (*Mangifera indica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada e três concentrações de Stimulate<sup>®</sup> em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

Para a variável massa seca total, com aplicação do Stimulate<sup>®</sup>, a equação polinomial  $y = -0,037x^2 + 1,054x + 51,40$ , foi significativa com R<sup>2</sup> de 80,1% e indica que as respostas obtidas revelaram a importância do uso desse

bioestimulante vegetal nas concentrações utilizadas, pela superioridade observada de todos os tratamentos em relação a testemunha.

Com o desdobramento da equação foi possível estimar que a melhor concentração a ser utilizada seria a de 14,24 mL L<sup>-1</sup>, pois a mesma proporcionaria uma massa seca total de 58,91g, superando em 12,74% o tratamento testemunha. Entretanto, o tratamento com a concentração de 20,0 mL L<sup>-1</sup> Stimulate<sup>®</sup>, promoveu um menor acúmulo de massa seca total correspondente a 2,09% inferior a concentração estimada. Resultado semelhante foi observado em algodão, cv. CNPAITA 90, onde o Stimulate<sup>®</sup> aumentou a produção de massa seca total das plantas, nas concentrações de até 11,3 mL L<sup>-1</sup> de Stimulate<sup>®</sup> (SANTOS e VIEIRA, 2005). Echeret al. (2006) observaram resposta positiva do biorregulador vegetal Stimulate<sup>®</sup>, com incremento na massa seca total, quando comparado à testemunha, durante o desenvolvimento das mudas de maracujazeiro amarelo.



**Figura 5.** Curva polinomial para massa seca total de plantas de mangueira (*Manguijera índica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada e três concentrações de Stimulate<sup>®</sup> em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

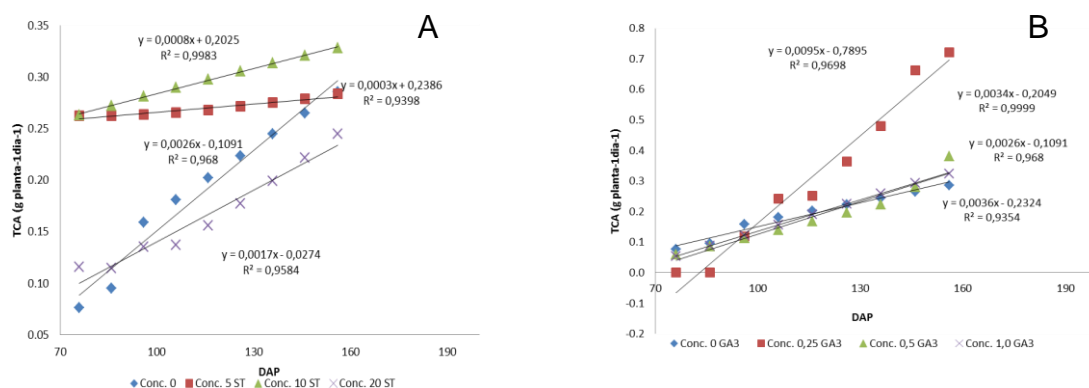
49 axa de crescimento absoluto (TCA g dia<sup>-1</sup>) é um índice que pode ser usado para se ter uma idéia da velocidade média de crescimento ao longo de um período de observação. Nas Figuras 6A e 6B encontram-se a variação da TCA em plantas de mangueira submetidas a pulverizações foliares com água destilada,



bioestimulante vegetal Stimulate<sup>®</sup> e GA<sub>3</sub>, respectivamente. Na Figura 6A com Stimulate<sup>®</sup> observaram tendências diferentes na velocidade do crescimento para os tratamentos estudados aos 75 DAT, que corresponde aos 30 dias após a pulverização (DAP). O tratamento com (20 mL L<sup>-1</sup>), apresentou uma TCA inicialmente de 0,109g dia<sup>-1</sup>, 34,46% superior ao tratamento testemunha. No entanto, muito inferior, quando comparado as menores concentrações de 5 e 10 mL L<sup>-1</sup>, que promoveram uma taxa de crescimento de 0,202 g dia<sup>-1</sup>, ou seja, de 86,63% superior ao tratamento testemunha.

Essa diferença pode ser atribuída à maior massa seca total da planta neste intervalo de crescimento (Figura 5), destacando essas concentrações como as mais indicadas à serem utilizadas. Foi possível observar, ainda, que aos 105 DAP ou 160 DAT, todos os tratamentos atingiram seu crescimento máximo. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Lessa (2008) que observou diferença significativa na TCA de mudas de bananeira na fase inicial de crescimento.

Na Figura 6 B com GA<sub>3</sub>, ocorreu similaridade entre os tratamentos no primeiro intervalo de crescimento, após a primeira pulverização (75 DAT), variando linearmente em todos os intervalos de pulverização avaliados até o período final de observação. Aos 30 DAP, todos os tratamentos apresentaram TCA lenta, entretanto, a partir dos 100 DAT, foi possível observar uma maior velocidade de crescimento com a concentração de 0,25 mL L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, que promoveu um aumento de 0,0789 g dia<sup>-1</sup>, superando em 86,18% o tratamento testemunha, mantendo-se crescente até o final do experimento (160 DAT), indicando ser a melhor concentração do produto, nas condições deste estudo. Os resultados discordam dos encontrados por Ferreira et al. (2007) que trabalhando com mudas de *Genipa americana* L., não encontraram diferença em TCA no tratamento com concentrações de 1, 10 e 100 µg mL<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Segundo Fontes et al. (2005) valores diferentes de taxa de crescimento da cultura podem ser causados por diversos fatores entre os quais variedade, densidade de plantio, manejo, condições ambientais, entre outras, influenciam de forma decisiva.



**Figuras 6 A e B .** Retas polinomiais para taxa de crescimento absoluto (TCA) ( $\text{g dia}^{-1}$ ), em plantas de mangueira (*Mangueira indica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada, três concentrações de Stimulate<sup>®</sup> e três concentrações de GA<sub>3</sub> em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

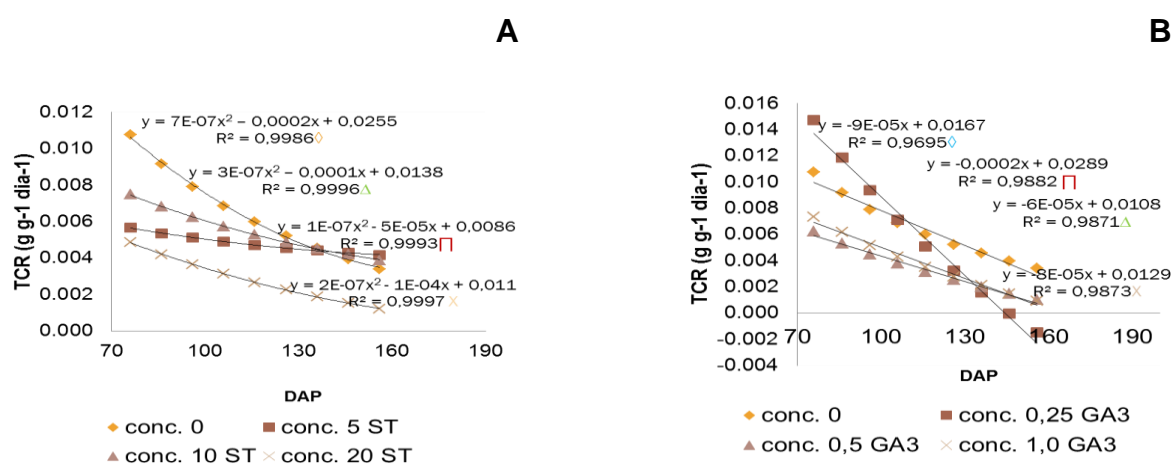
Embora a taxa de crescimento absoluto indique a velocidade de crescimento da planta em um determinado intervalo de tempo, para os fisiologistas é mais interessante expressar a taxa de crescimento, segundo uma base comum, sendo esta, o próprio peso da planta (PEIXOTO et al., 2002). Para isso estima-se a taxa de crescimento relativo (TCR), já que conceitualmente, na análise de crescimento estabelece-se que o crescimento de uma planta ou de qualquer órgão é uma função do tamanho inicial (BENINCASA, 2003). Para Silva et al. (2005) a TCR é o aumento, em gramas, de fitomassa em qualquer planta, por unidade de material presente num período de observação.

Nas Figuras 7 A e B, encontram-se a variação da TCR em plantas de mangueira submetidas a pulverizações foliares com água destilada, bioestimulante vegetal Stimulate<sup>®</sup> e GA<sub>3</sub>, respectivamente. A figura 7 A com o bioestimulante vegetal revela que inicialmente o tratamento com TCR mais elevada foi com água destilada, apresentando um valor de ( $0,014\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$ ), ou seja, 54,54% superior a promovida pela maior concentração desse bioestimulante, decaindo continuamente, como os demais tratamentos, até o período final avaliado (160 DAT), indicando o que normalmente ocorre com a variação desse índice, para a maioria das plantas cultivadas, que apresentam suas máximas TCR, no período inicial de crescimento, durante a fase vegetativa. Portanto, essa diminuição era esperada, tendo em vista que qualquer incremento

em peso, altura ou área foliar ao longo de um determinado período, está diretamente relacionado ao tamanho alcançado no período anterior (BENINCASA, 2003; LIMA, 2006; PEIXOTO, 2009).

Na Figura 7 B com GA<sub>3</sub>, aos 75 DAT, período que corresponde aos 30 dias após a primeira pulverização (30 DAP), pode-se observar a superioridade da TCR na concentração de 0,25 mL L<sup>-1</sup> que apresentou valor de 0.015g g<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, resposta superior em 53,53% a TCR promovida pelo tratamento com a maior concentração (1,0 mL L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>) no mesmo período de avaliação. Esses dados concordam com os obtidos por Benincasa (2003), Silva et al. (2005), que observaram uma diminuição na TCR ao longo de todo o período de crescimento, trabalhando com culturas do sorgo e capim brachiaria, respectivamente.

Essa variação na taxa de crescimento relativo pode ser explicada pela taxa de crescimento absoluto, em que no período compreendido entre 100 e 130 dias, as plantas pulverizadas com GA<sub>3</sub> apresentaram um pico na velocidade de crescimento, uma vez que qualquer incremento em massa ou volume, está relacionado ao tamanho obtido no período anterior (PEIXOTO et al., 2011) . Segundo Benincasa (2004) todo crescimento resultará da produção de material suficiente para atender às necessidades metabólicas do material já existente. Bem como, para armazenar ou construir novo material estrutural, uma vez que conceitualmente, a análise de crescimento estabelece que a taxa de crescimento de uma planta é função do tamanho inicial (período em que se inicia a observação).



**Figuras 7 A e B.** Taxa de crescimento relativo (TCR) ( $\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$ ), em plantas de mangueira (*Manguifera indica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada, três concentrações de Stimulate<sup>®</sup> e três concentrações de GA<sub>3</sub> em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

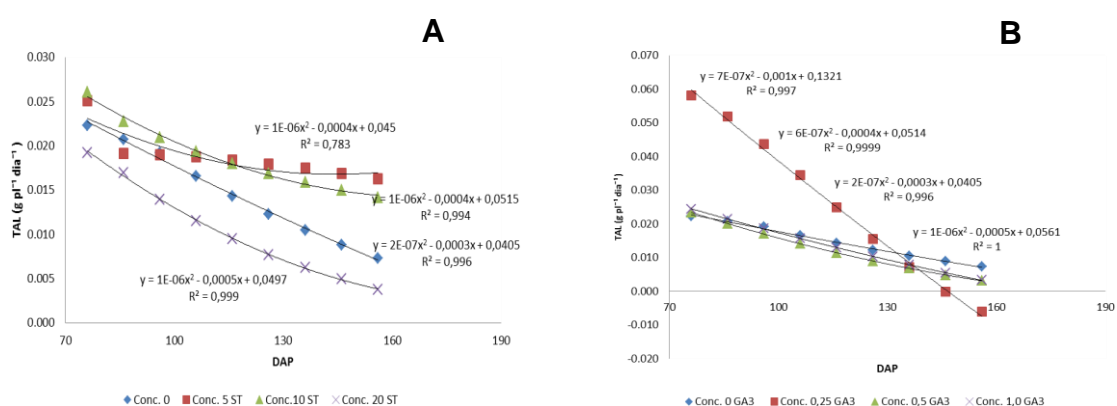
A taxa assimilatória líquida (TAL) expressa a taxa de fotossíntese líquida ou a matéria seca produzida por unidade de área foliar por unidade de tempo, ou o incremento de matéria seca por unidade de área foliar existente na planta, assumindo que ambas aumentam exponencialmente (PEIXOTO et al., 2011). Nas figuras 8 A e 8 B encontram-se o desempenho dessa variável em plantas de mangueira submetidas a pulverizações foliares. A TAL apresentou valores máximos aos 30 dias após a primeira pulverização (30 DAP) para todos os tratamentos. Segundo Cairo et al. (2008), esta é a fase em que a TAL é especialmente alta, devido a maior necessidade de obtenção de fotoassimilados pela planta para seu crescimento. A partir daí, o comum seria a ocorrência de uma queda acentuada, até onde durou o experimento.

Na figura 8 A, com Stimulate<sup>®</sup>, foi possível observar que inicialmente os valores da TAL das plantas pulverizadas com este produto foram maiores em relação aos valores das plantas pulverizadas com GA<sub>3</sub> (Figura 8 B), à exceção da TAL obtida na concentração de 0,25 mL L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> (0,058 g pl<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), superando em 62% o tratamento testemunha, e superior 55,17% ao maior valor obtido com a concentração de 10,0 mL L<sup>-1</sup> de Stimulate<sup>®</sup>, no mesmo período de avaliação. No entanto, a concentração de 0,25 mL L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> chegou a valores negativos no final da avaliação, e isso pode ser atribuído a um efeito de plasticidade nas células, proporcionando folhas grandes, sem muito acúmulo de matéria seca. Efeitos semelhantes foram observados por Azevedo Neto et al. (2004), Lima et al. (2005) e Lima (2007), trabalhando com milho, feijão e mamão, respectivamente.

A taxa assimilatória líquida (TAL) expressa à taxa de fotossíntese líquida ou a matéria seca produzida por unidade de área foliar por unidade de tempo ( $\text{g dm}^{-2} \text{dia}^{-1}$ ). Sendo a TAL o resultado do balanço entre a matéria seca produzida pela fotossíntese e aquela perdida pela respiração mais a fotorrespiração, típica da mangueira, para o desenvolvimento das plantas, podendo estas, expressarem este balanço diferentemente, de acordo com o seu potencial genético, ficando claro o desempenho diferenciado em função dos tratamentos (PEIXOTO et al.,

2002; CRUZ, 2007). Entretanto, neste trabalho, estas diferenças não foram acentuadas.

Normalmente, quando a planta acelera seu crescimento, aumentando, inclusive a área foliar, o sombreamento mútuo das folhas superiores sobre as inferiores, leva a uma diminuição dos níveis fotossintéticos, diminuindo a TAL, o que ocorreu nesta pesquisa, a partir dos 75 DAT. Efeitos semelhantes foram observados por Peixoto (1998), Azevedo Neto et al. (2004) e Lima et al. (2005), trabalhando com soja, milho e feijão, respectivamente. Alvarez et al. (2005) estudaram cultivares de amendoim e encontraram as mesmas tendências.



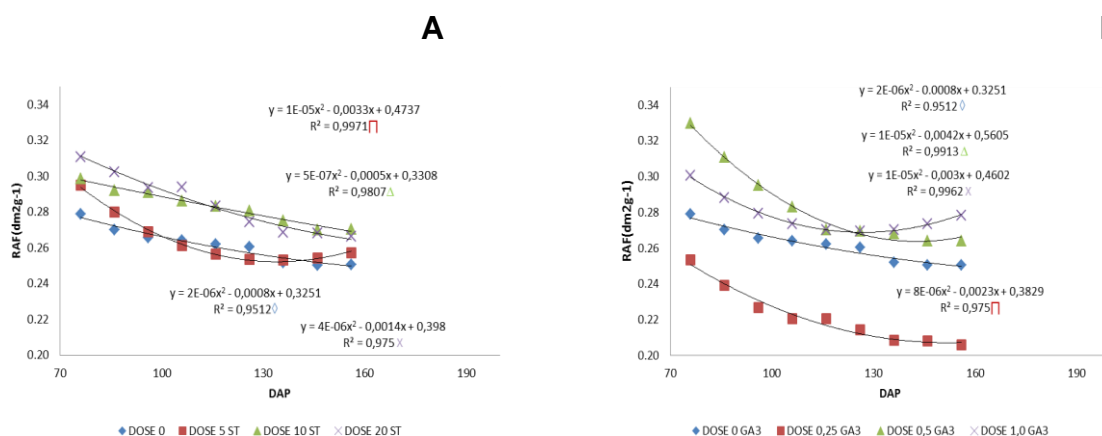
**Figuras 8 A e B.** Taxa assimilatória líquida (TAL) (g pl<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), em plantas de mangueira (*Mangueira índica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada, Três concentrações de Stimulate® e três concentrações de GA<sub>3</sub> em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

A área foliar de uma planta é expressa pela razão de área foliar (RAF), sendo esta, uma componente morfofisiológica, pois é o quociente entre a área foliar (responsável pela interceptação da energia luminosa e absorção do CO<sub>2</sub>) e a matéria seca total da planta (resultante da fotossíntese). Na verdade, indica a área foliar que está sendo usada pela planta para produzir um grama de matéria seca (OLIVEIRA et al, 2010). Nas figuras 9 A e B encontram-se o desempenho dessa variável em plantas de mangueira submetidas a pulverizações foliares com água destilada, bioestimulante vegetal Stimulate® e GA<sub>3</sub>, respectivamente. Como se pode observar nas Figuras abaixo, os valores de máximas RAF ocorreram aos 30 DAP, decaindo a partir de então para todos os tratamentos. Esse declínio

ocorre devido ao incremento da área foliar, que aumenta a interferência das folhas superiores nas inferiores (autossombreamento), fazendo com que a área foliar útil diminua, enquanto a planta cresce, diminuindo a área fotossinteticamente ativa, com redução da RAF. Resultados semelhantes foram obtidos por Lima (2006), com dois genótipos de mamoeiro.

A RAF mais elevada ( $0,33 \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$ ) foi obtida na concentração de  $0,5 \text{ mL L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  (Figura 9 B), resposta que equivale a 24,24%, superior quando comparado ao valor proporcionado pelo tratamento testemunha, e 6% maior ao efeito do tratamento com a concentração de  $20,0 \text{ mL L}^{-1}$  de Stimulate<sup>®</sup>, no mesmo período de avaliação (Figura 9 A).

A elevação da RAF no início do ciclo é um indicativo de que inicialmente a maior parte do material fotossintetizado é convertida em folhas, visando à maior captação da radiação solar disponível. Brandelero et al. (2002), trabalhando com dez cultivares de soja no recôncavo Baiano, encontrou as máximas para RAF entre os 31 e 39 DAE. Por outro lado, Cruz (2007), no Oeste da Bahia, obteve RAF máximas aos 31 DAE, em todas as épocas de semeadura estudadas.



**Figuras 9 A e B.** Razão de área foliar (RAF) ( $\text{dm}^2 \text{ g}^{-1}$ ), em plantas de mangaueira (*Manguifera Índica L.*) dias após pulverização foliar (DAP), com água destilada, três concentrações de Stimulate<sup>®</sup> e três concentrações de  $\text{GA}_3$  em cultivo protegido. Cruz das Almas, BA, 2012.

## CONCLUSÕES

O Stimulate<sup>®</sup> e o GA<sub>3</sub> foram similares no efeito sobre as variáveis NF, MSR e MST, no entanto, o bioestimulante vegetal agiu mais eficientemente na AF e o GA<sub>3</sub> na ALT e MSC, respectivamente.

O desempenho vegetativo da planta deve ser avaliado pela resposta conjunta dos índices fisiológicos, uma vez que estão interligados e constituem ferramentas eficazes para quantificação do crescimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. Q.; VIEIRA, E. L. **Efeito da giberelina líquida no crescimento e desenvolvimento do fumo tipo Sumatra**. revista da FZVA.Uruguaiana, v.16, n.2, p. 204-219 2009.

ALVAREZ , R de C. F.; RODRIGUES, J. D.; MARUBAYASHI, O. M.; ALVAREZ A. C. C.; CRUSCIOL, C. A.C.; Análise de crescimento de duas cultivares de amendoim (*Arachishypogaea L.*) **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 4, p.611-616. 2005.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; LACERDA, C. F.; SILVA, J. V.; COSTA, P. H. A.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal Plant Physiology**. v.16, n.1, p.31-38, 2004.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2008. 237p.BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42 p.

BENICASA, M. M. P. **Análise de Crescimento de Plantas** (noções básicas). Jaboticabal. FUNEP. 2004. 42p.

BRANDELERO E.; PEIXOTO, C. P.; M SANTOS, J. M. B.; MORAES, J. C. C , PEIXOTO, M. F. S. P. SILVA V. Índices fisiológicos e rendimento de cultivares de soja no Recôncavo Baiano. 2.ed. Bahia: **Magistra**, 2002. vol.14, p77-88.

CAIRO, P. A. R.; OLIVEIRA, L. E. M.; MESQUITA, A. C. **Análise de Crescimento de Plantas**. Vitória da Conquista: Edições UESB, 2008. 72p.

CATO, S. C. **Ação de bioestimulante nas culturas do amendoimzeiro, sorgo e milho e interações hormonais entre auxina, giberelina e citocinina**. 2006. 73p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

CRUZ, T. V. **Crescimento e produtividade de cultivares de soja em diferentes épocas de semeadura no Oeste da Bahia**. 2007. 99p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias e Ambientais. Universidade Federal da Bahia.

CRUZ, T.V. **Crescimento e produtividade de soja em diferentes épocas de semeadura com e sem controle químico da ferrugem asiática no oeste da Bahia**. 2011.53-54f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

EMBRAPA. **Estudo da cadeia produtiva de fruticultura do estado da bahia**. Disponível em: <http://www2.ba.sebrae.com.br/banco/documentos/cadeiasprodutivas/Estudo%20da%20Cadeia%20Produtiva%20de%20Fruticultura%20do%20Estado%20da%20Bahia%20-%20An%C3%A1lises.pdf>2004. Consultado em 15 de março de 2013.



ERCHER, M. de M.; et. al. Uso de bioestimulante na formação de mudas de maracujazeiro amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 351-360, 2006.

FERREIRA, W. R. et al. Crescimento de mudas de *Genipa americana* L. submetidas a condições de pré-semeadura. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.2, p.1026-1028, 2007.

FONTES, P. C. R.; DIAS, E. N.; SILVA, D. J. H. Dinâmica do crescimento, distribuição de matéria seca na planta e produção de pimentão em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n.1, p. 94-99, jan-mar. 2005.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. de M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de biorregulador vegetal. **Acta Sci. Agron.** 28: p.179-185, 2006.

LESSA, L. S. **Desempenho fisiológico de mudas de bananeira na fase inicial de crescimento.** Magistra, Cruz das Almas-BA, v. 20, n. 3, p. 305-312, jul./set., 2008.

LIMA, E. R.; SANTIAGO, A. S.; ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. Effects of the size of sown seed on growth and yield of common bean cultivars of different seed sizes. **Brazilian Journal plant Physiology.** v.17, n.3, p.273-281, 2005.

LIMA, J. F. **Tamanho ótimo de parcela, alocação de fitomassa e crescimento de mamoeiro em casa de vegetação.** 2006. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias e Ambientais. Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, 2006.

LIMA, J. F.; PEIXOTO, C. P.; LEDO, C. A da S. Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. **Ciência e Agrotecnologia.** Lavras, v. 31, n. 5, p.1358-1363, 2007.

MACHADO, G.S. **Características agronômicas e produtivas de soja hortaliça em duas épocas de semeadura no recôncavo sul Baiano.** 2010. 34f. Tese (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

OLIVEIRA, D. **Stimulate® na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento inicial de *Jatropha curcas* L.1** Cruz das Almas. 2010. 41f. Tese (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

PEIXOTO, C. P. **Análise de crescimento de três cultivares de soja em três épocas de semeadura de três densidades de plantas.** 1998. 151f. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

PEIXOTO, C. P.; CAMARA, G. M. S.; MARTINS, M. C.; MARCHIORI, L. F. S. Efeitos de épocas de semeadura e densidade de plantas sobre o rendimento de cultivares de soja no estado de São Paulo. **Revista de Agricultura.** Piracicaba. v. 77, n. 2, 550 p. set. 2002.

PEIXOTO, C.P.; PEIXOTO, M. de F. da S.P. **Dinâmica do crescimento vegetal.** In: CARVALHO, C. A. L. de; DANTAS, A.C.V.L.; PEREIRA, F.A. de C.; SOARES, A.C.F.; MELO FILHO, J.F. de; OLIVEIRA, G.J.C. de. Tópicos em ciências Agrárias. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009. p. 39-53.

PEIXOTO, et al., **ANÁLISE QUANTITATIVA DO CRESCIMENTO DE PLANTAS: Conceitos e Prática.** Enciclopédia Biosfera, p. 51-73, 2011.

RODRIGUES, T de J. D. , LEITE, I. C. **Fisiologia vegetal – hormônios das plantas.** Jaboticabal: Funep, 2004, 78p.

SAMPAIO, E. S. de. **Fisiologia vegetal: teoria e experimentos.** Ponta Grossa, Editora UEPG, 1998. 190p.

SANTOS, C. M.; VIEIRA, E. L. Efeito de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento inicial do algodoeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 17, n. 3, p. 124-130, 2005.

SANTOS, A. C. **Crescimento inicial de plantas de maracujazeiro amarelo submetidas à giberelina**. *Comunicata Scientiae*, p. 29-34, 2010.

SILVA, E.M.F. da (Coord.). **Estudos sobre o mercado de frutas**. Brasília: FIPE, 1999.

SILVA, A. C.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A. e FERREIRA, F. A. Análise de crescimento de *Brachiaria brizantha* submetida a doses reduzidas de fluazifopbutil, **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 23, n. 1, p. 85-91, 2005.

STEFANINI, M.B.; RODRIGUES, S.D.; MING, L.C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreirabrasileira. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p.18-23, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3ed., Porto Alegre: Artmed, 2004. trad. Por Eliane Romanato Santarém et al.

VIEIRA, E.L.; CASTRO, P.R.C. **Ação de bioestimulante na cultura da soja (Glycine max L. Merrill)**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, 2004. 47p.

## Considerações Finais

Uma das limitações no melhoramento da mangueira é um alto índice de abortamento de frutos oriundos de cruzamentos dirigidos em busca de características desejadas.

O trabalho realizado buscou ajustar um protocolo que permitisse o resgate de embriões abortados ou mesmo de embriões não abortados, mas em fase imatura. Os resultados obtidos mostraram a possibilidades desse resgate já que as plantas obtidas foram aclimatizadas com sucesso, possibilitando, portanto o resgate dos híbridos. Outra aplicação de interesse para o melhoramento com o uso dessa técnica é a possibilidade de fazer avaliações precoces nas progênes obtidas, a partir da seleção de características de interesse por marcadores moleculares.

Por outro lado, os resultados obtidos com o cultivo de embriões nucelares mostrou que é factível a conservação *in vitro* de variedades poliembriônicas preenchendo uma lacuna que existe na conservação de germoplasma de mangueira, já que não existem registros desse procedimento para a espécie.

A aplicação desses protocolos para outras variedades deve ser o próximo passo a ser dado a fim de validar a metodologia.

No que se refere ao segundo capítulo, a análise de crescimento tem sido usada na tentativa de explicar diferenças no crescimento, de ordem genética ou resultante de modificações do ambiente e constitui uma ferramenta muito eficiente para a identificação de materiais promissores além de identificar características que, no crescimento inicial, indiquem possibilidade de aumento no rendimento da planta adulta, favorecendo os trabalhos de melhoramento na busca por materiais mais produtivos.

Nesse trabalho o uso do bioestimulante Stimulate<sup>®</sup> e do GA<sub>3</sub> mostraram resultados interessantes para o desempenho vegetativo das mudas enxertadas da variedade Tommy Atkins, ainda que esse desempenho deva ser avaliado pela resposta conjunta dos índices fisiológicos, uma vez que estão interligados, e, constituem ferramentas eficazes para identificação dos diferentes tratamentos.

## APÊNDICES

## APÊNDICES

**Apêndice 1** – Resumo da análise de variância (quadrados médios) correspondente às avaliações destrutivas das mudas de mangueira Tommy Atkins.

		Quadrado Médio das variáveis							
FV	GI	ALT	NF	DC	AF	MSC	MSR	MSF	MST
TRAT	7	30.021*	23.151*	4.393**	22.657*	267.976**	19,193*	6.251*	448.788**
Erro a	21	9.033	4.188	0.022	5.251	36.801	5.455	2.174	2366.512
Erro b	9	6.160	52.722	0.031	9.581	4.951	9.230	3.475	18.728
Erro c	63	2.145	4.081	0.018	3.526	30.524	5.056	1.255	14.267
CV%		2,73	7,00	9,76	12,34	12,84	9,28	2,56	6,77

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de F. \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de F. <sup>NS</sup> não significativo.

ALT–altura de planta; NF–número de folhas; DC–diâmetro de caule; AF–área foliar; MSC–massa seca do caule; MSR- massa seca da raiz; MSF–massa seca da folha; MST–massa seca total.

**Apêndice 2.** Valores iniciais, máximos e finais dos tratamentos, para taxa de crescimento absoluto (TCA) e taxa de crescimento relativo (TCR) em plantas de mangueira aos 160 dias após o transplântio (DAT), submetidas à pulverizações foliares com água destilada e três concentrações de Stimulate®.

TRAT	Inicial	Max	Final	DAT	Inicial	Max	Final	DAT
VAR	TCA g (dm <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> ) ST				TCR (g g <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> ) ST			
(0,0 mL L <sup>-1</sup> )	0.076	0.285	0.285	160	0.011	0.011	0.003	160
(5,0 mL L <sup>-1</sup> )	0.262	0.284	0.284	160	0.006	0.006	0.004	160
(10,0 mL L <sup>-1</sup> )	0.263	0.328	0.328	160	0.007	0.007	0.004	160
(20,0 mL L <sup>-1</sup> )	0.116	0.245	0.245	160	0.005	0.005	0.001	160

**Apêndice 3.** Valores iniciais, máximos e finais dos tratamentos, para taxa de crescimento absoluto (TCA) e taxa de crescimento relativo (TCR) em plantas de mangueira aos 160 dias após o transplântio (DAT), submetidas à pulverizações foliares com água destilada e três concentrações de GA<sub>3</sub>.

TRAT	Inicial	Max	Final	DAT	Inicial	Max	Final	DAT
VAR	TCA g (dm <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> ) GA <sub>3</sub>				TCR (gg <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> ) GA <sub>3</sub>			
(0,0 mL L <sup>-1</sup> )	0.076	0.285	0.285	160	0.011	0.011	0.003	160
(0,25 mL L <sup>-1</sup> )	0,009	0.721	0.721	160	0.015	0.015	-0.002	160
(0,5 mL L <sup>-1</sup> )	0.059	0.381	0.381	160	0.006	0.006	0.001	160
(1,0 mL L <sup>-1</sup> )	0.054	0.325	0.325	160	0.007	0.007	0.001	160

**Apêndice 4.** Valores iniciais, máximos e finais dos tratamentos, para taxa de crescimento absoluto (TAL) e taxa de crescimento relativo (RAF) em plantas de mangueira aos 160 dias após o transplântio (DAT), submetidas à pulverizações foliares com água destilada e três concentrações de Stimulate.

TRAT VAR	Inicial	Max	Final	DAT	Inicial	Max	Final	DAT
	TAL (g dm <sup>2</sup> dia-1) Stimulate				RAF (dm <sup>2</sup> dia-1) Stimulate			
(0,0 mL L-1 )	0.022	0.022	0.007	160	0.28	0.28	0.25	160
(5,0 mL L-1 )	0.025	0.025	0.016	160	0.29	0.29	0.25	160
(10,0 mL L-1 )	0.026	0.026	0.014	160	0.30	0.30	0.27	160
(20,0 mL L-1 )	0.019	0.019	0.004	160	0.31	0.31	0.27	160

**Apêndice 5.** Valores iniciais, máximos e finais dos tratamentos, para taxa de crescimento absoluto (TAL) e taxa de crescimento relativo (RAF) em plantas de mangueira aos 160 dias após o transplântio (DAT), submetidas à pulverizações foliares com água destilada e três concentrações de GA<sub>3</sub>.

TRAT VAR	Inicial	Max	Final	DAT	Inicial	Max	Final	DAT
	TAL (g dm <sup>2</sup> dia-1) GA <sub>3</sub>				RAF (dm <sup>2</sup> dia-1) GA <sub>3</sub>			
(0,0 mL L-1 )	0.022	0.022	0.007	160	0.28	0.28	0.25	160
(0,25 mL L-1 )	0.058	0.058	-0.006	160	0.25	0.25	0.21	160
(0,5 mL L-1 )	0.023	0.023	0.003	160	0.33	0.33	0.26	160
(1,0 mL L-1 )	0.024	0.024	0.003	160	0.30	0.30	0.27	160