

Propagação das Plantas

Princípios e Práticas

F I S I O L O G I A
VEGETAL

Disciplina Propagação de Plantas e Conservação da Biodiversidade Vegetal apresentada no Curso de Pós-Graduação em Ecologia (PGECOL) da UFJF

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Prof. Paulo Henrique Pereira Peixoto
Departamento de Botânica

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)
2017



Sumário:

1. Introdução ... 3

1.1. Principais métodos de propagação de plantas ... 4

1.2. Termos e nomenclaturas relacionadas à propagação de plantas ... 6

1.3. Estrutura e cuidados necessários para a propagação vegetativa e sexuada ... 9

1.4. Tipos de solos e meios de cultivos ... 10

2. Manuseio e produção de sementes ... 14

3. Seleção de fontes e manejo na propagação vegetativa ... 40

3.1. Bases anatômicas e fisiológicas da propagação por estacas ... 46

3.2. Bases fisiológicas da iniciação de raízes e brotações adventícias ... 52

3.3. Fatores que afetam a regeneração de plantas a partir de estacas: ... 58

3.4. Adição de reguladores de crescimento ... 60

3.5. Técnicas de propagação por estacas ... 62

3.6. Aspectos teóricos da enxertia e da borbulhia ... 69

3.6.1. Fatores que influenciam a cicatrização na região de união da enxertia ... 76

3.7. Técnicas de enxertia ... 80

3.8. Mergulhia ... 85

3.9. Propagação por raízes e ramos especializados ... 88

4. Cultivo *in vitro* e suas aplicações ... 95

5. Literatura consultada ... 107

FISILOGIA
VEGETAL
UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Propagação das Plantas - Princípios e Práticas:

1. Introdução:

A propagação das plantas envolve a multiplicação de indivíduos através de métodos sexuais ou assexuais. O sucesso da propagação requer conhecimentos relacionados ao material vegetal, ao ambiente e também à manipulação química de substâncias, além da habilidade técnica que somente é adquirida com a prática e a experiência de especialistas, o que na maioria das situações não está relacionado com a formação acadêmica do agente envolvido no processo. As técnicas relacionadas à enxertia e à produção de mudas por estacas são consideradas uma “arte”. Além disso, o sucesso da propagação requer o conhecimento de fatores relacionados ao crescimento, desenvolvimento e morfologia da planta. Em muitas situações o propagador adquire os conhecimentos empiricamente pelo trabalho contínuo com um grupo de plantas. Contudo, conhecimentos obtidos em cursos formais de química, botânica, horticultura, genética e fisiologia vegetal, associados à experiência prática, ampliam as possibilidades de sucesso na propagação de plantas. Outro aspecto a ser considerado é o tipo de planta e os possíveis métodos pelos quais cada espécie pode ser propagada.

A propagação das plantas teve início com a ampliação da população na terra desde o advento da civilização. A agricultura teve início há pelo menos 10.000 anos quando os povos antigos perceberam que as plantas eram fundamentais para a sua sobrevivência e dos animais. Com o avanço da civilização, as pessoas adicionaram diferentes variedades de plantas, cultivando não apenas aquelas utilizadas para a alimentação mas, também, espécies fornecedoras de fibras, medicinais, ornamentais, etc. Progressos no desenvolvimento da agricultura foram obtidos após a seleção das espécies de plantas de interesse e do desenvolvimento de técnicas de reprodução dessas espécies em larga escala, preservando características de interesse do homem.

Algumas espécies surgiram da seleção direta de espécies selvagens, que pela manipulação seletiva pelo homem diferiram bastante dos tipos selvagens. Exemplos nesse grupo de plantas são o feijão, o tomate, a cevada e o arroz. Outros tipos de plantas surgiram por hibridações entre diferentes espécies, algumas dessas que resultaram na mudança nos números cromossômicos. Essas plantas são exclusivas para o cultivo agrícola e não apresentam parentesco com qualquer tipo selvagem. Exemplos nesse grupo são o milho, o trigo, o fumo e o morango.

Os métodos de melhoramento genético foram incrementados após a divulgação dos trabalhos de Gregor Mendel, em 1860. A explosão dos conhecimentos genéticos resultou no desenvolvimento de novas e importantes cultivares. Os progressos no melhoramento vegetal não teriam qualquer significado se métodos de propagação e de manutenção desses melhoramentos não tivessem sido paralelamente desenvolvidos.

Não é uma mera coincidência o fato de que algumas espécies de frutíferas bem antigas sejam de fácil propagação a partir de estacas lenhosas. Como exemplos podemos destacar a videira, a oliveira, a amoreira, o marmeleiro, a romãzeira e a figueira. Além disso, o desenvolvimento de técnicas de enxertias associado ao advento da construção de casas de vegetação, no século dezanove, possibilitaram o desenvolvimento de técnicas de enraizamento de estacas enfolhadas. Finalmente, a descoberta dos indutores químicos de enraizamento e o desenvolvimento de sistemas de névoa e de sombreamento aumentaram o sucesso na propagação de plantas em viveiros. A produção em larga escala de sementes foi revolucionada a partir dos princípios genéticos, o que levou, dentre outros avanços, à produção de sementes híbridas.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

1.1. Principais Métodos de Propagação de Plantas:

I. Sementes (sexual):

A. Propagação por sementes (espécies anuais, bianuais e perenes):

B. Sistemas de cultivo *in vitro*:

1. Cultura de pólen – fumo e *Datura*
2. Cultura de óvulos – cravo, fumo e petúnia

3. Embriogênese somática – coníferas
4. Cultura de sementes – orquídeas
5. Cultura de esporos - samambaias

II. Apomixia (assexual):

A. Sementes:

1. Embriões nucelares – citros e manga
2. Embriões adventícios – capim azul Kentucky

III. Vegetativa (assexual):

A. Propagação por estacas:

1. Estacas de ramos (caules):

- a. Estacas lenhosas – figo, uva, rosa, salgueiro, álamo
- b. Estacas semi-lenhosas – limões, camélia, azevinho, azaléia
- c. Estacas de madeiras moles (coníferas) – forsítia, murta, *Pinus*
- d. Estacas herbáceas – gerânio, coleus, crisântemo

2. Estacas de folhas – *Begonia*, *Bryophyllum*, *Sansevieira*, *Saintpaulia*

3. Estacas com gemas – amora-preta, hortênsia

4. Estacas de raízes – framboesa, rábano silvestre, flox

B. Propagação por enxertia:

1. Enxertia de Raízes:

a. Encostia – maçã, pêra

2. Enxertia de colo:

a. Encostia - noqueira-persa

b. Enxertia de fenda – camélia

c. Enxertia lateral – sempre-verdes

3. Enxertia de topo:

a. Enxertia de fenda – diversas espécies frutíferas

b. Enxertia de entalho (incisão) – diversas espécies frutíferas

c. Enxertia de casca - diversas espécies frutíferas

d. Enxertia lateral - diversas espécies frutíferas

e. Encostia - diversas espécies frutíferas

4. Enxertia de aproximação – manga

C. Propagação por gemas:

1. Gemas em T – pomáceas e *Prunus*, rosa, citrus

2. Fragmentos de gemas – noqueiras e noqueira-pecan

3. Gemas em anéis - noqueiras e noqueira-pecan

4. Gemas em I - noqueiras e noqueira-pecan

5. Lascas de gemas – uva, manga, frutíferas e ornamentais.

D. Propagação por mergulhia:

1. De ápice – amora-preta rasteira

2. Simples – madressilva, avelã

3. De trincheira – maçã, pêra, cereja

4. De amontoa – groselha-espinhosa, maçã

5. Aérea (pote, chinesa ou alporquia) - lichia, seringueira indiana

6. Composta ou de serpentina – uva, madressilva

E. Propagação por estolhos – morango

F. Propagação por brotos ou rebentos – framboesa-vermelha, amora-preta

G. Separação:

1. Bulbos – jacinto, lírio, narciso, tulipa

2. Cormos (caules subterrâneos) – gladiolo, açafraão

H. Divisão:

1. Rizomas – cana-de-açúcar, íris, banana

2. Brotações ou rebentos – abacaxi, tâmara, alho-porro.

3. Tubérculos – batata inglesa

4. Raízes tuberosas – batata-doce, dália

5. Coroa – flox, abacaxi

I. Sistemas de cultivo *in vitro*

1. Cultura de gemas apicais ou de meristemas – diversas espécies

2. Formação de brotações adventícias – diversas espécies

3. Micro-enxertia – citros, maçã, ameixa

4. Cultura de tecidos e de protoplastos – diversas espécies

a. Organogênese

b. Embriogênese somática

1.2. Termos e Nomenclaturas Relacionados à Propagação Vegetativa:

Calos: Crescimento celular proveniente de divisões mitóticas que ocorrem principalmente a partir de tecidos parenquimáticos ou do câmbio. Forma um aglomerado amorfo de células, podendo apresentar certa organização, embora sem diferenciação. Ocorrem principalmente em resposta a danos mecânicos ou por desbalanços hormonais. São formados em regiões feridas e também nas regiões de junção de enxertias, podendo ocorrer também nas regiões de origem de raízes adventícias.

Raízes e brotações adventícias: São brotações formadas a partir de estruturas vegetativas e que ocorrem em locais normalmente não característicos para o aparecimento desses órgãos. São raízes ou brotações provenientes de outras regiões e não do eixo embrionário. Brotações adventícias são aquelas formadas em raízes ou em internódios após os pontos de crescimento terminal e lateral terem sido produzidos. Por sua vez, as brotações juvenis são oriundas de pontos de crescimento

latentes ou de gemas, não sendo, portanto, adventícias. Estas são comuns em plantas lenhosas mais velhas e desenvolvem próximo ao solo quando a parte apical é removida. Essas brotações são muito boas para a indução de raízes adventícias.

Espécies: É a unidade fundamental usualmente utilizada pelos taxonomistas para designar um grupo de plantas em que podem ser reconhecidas características distintas ou específicas. Na natureza, indivíduos de uma mesma espécie cruzam livremente, o que não ocorre com outra espécie devido à existência de barreiras geográficas ou, então, fisiológicas, morfológicas ou genéticas que impedem a troca de gametas entre estas espécies. Subgrupos morfológicamente distintos de uma mesma espécie, geralmente resultantes de isolamento geográfico, podem ser taxonomicamente reconhecidos como uma *variedade botânica*.

Cline: Quando diferenças contínuas em características fisiológica e morfológicas geneticamente controladas ocorrem com uma espécie em diferentes partes de sua região de ocorrência.

Ecótipo: Quando as diferenças são distintas e descontínuas.

Cultivar: Grupos de plantas que representam um tipo único e que apresentam características específicas reproduzidas durante a propagação são denominados cultivares. Frequentemente, elas são derivadas de uma única planta obtida por reprodução assexual. O termo **cultivar** é uma contração das palavras “**variedade cultivada**”, sendo cada cultivar definida pelo Código Internacional de Nomenclatura de Plantas Cultivadas. As cultivares são artificialmente mantidas pelos cuidados do homem. Muitas cultivares deixariam de existir sem tais cuidados. Cada cultivar possui um nome próprio, podendo ser reconhecida pelos agricultores em qualquer região. As cultivares também podem ser reproduzidas sexualmente, sendo propagadas por sementes. A categoria básica é a *linhagem*, que representa a população de uma planta propagada por semente em que a variabilidade genética é controlada e a uniformidade é mantida para uma adequada padronização da cultivar. A autopolinização, que aumenta a homozigose, é importante para manter a uniformidade da cultivar. As cultivares obtidas por reprodução assexual são

propagadas por diferentes métodos. A categoria básica desse tipo de cultivar é o *clone*. Os clones são definidos como uma organização de indivíduos (que podem ser uma quimera natural), derivados originalmente de um único indivíduo por propagação assexual. Indivíduos propagados a partir de uma gema mutante formam uma cultivar distinta da planta original.

Poliembrionia e Apomixia: Ambos os fenômenos representam variações no padrão normal de formação do zigoto e na embriogênese. Embora relacionados, eles representam fenômenos diferentes. A *poliembrionia* significa que mais de um embrião, às vezes vários, desenvolvem em uma única semente. A poliembrionia nuclear envolve células específicas no núcleo e, em alguns casos, no integumento, que apresentam potencial para sofrerem embriogênese. Geneticamente, os embriões têm o mesmo genótipo das plantas parentais. Esse tipo de embrionia ocorre em diversas espécies de plantas, sendo mais proeminente em plantas subtropicais, como nos *Citrus*, e em plantas tropicais, como a manga. Nestas espécies, tanto o embrião zigótico quanto o apomítico são produzidos, sendo necessário o estímulo da fertilização. Em outras espécie (*Opuntia*), nem polinização ou fertilização são necessários. A poliembriogênese é resultante da divisão do pró-embrião em estágios muito precoces do desenvolvimento envolvendo a massa embrional do suspensor, que é altamente embriogênica. As multiplicações resultam em clivagens, rupturas e formação de gemas. Cada embrião é uma duplicata do genótipo dos outros e representa uma nova geração sexual. Polimbriogênese é muito comum em gimnospermas, particularmente nas coníferas. A *apomixia* resulta na reprodução de um zigoto que desvia do processo usual de meiose e fertilização. O genótipo do zigoto e do embrião resultante será o mesmo dos pais. Contudo, a semente produzida é assexual. As plantas obtidas são clones, sendo denominadas apomíticas.

Existem diversas organizações relacionadas à propagação de plantas espalhadas pelo mundo. Uma das mais importantes é a Associação Internacional de Propagadores de Plantas (IPPS), criada em 1951. Nos Estados Unidos, uma organização mais antiga como a Associação Americana de Viveiristas (AAN) foi

organizada em 1875, contando atualmente com mais de 3.000 membros. Tais organizações coordenam estudos, realizam encontros e editam diversas publicações na área.

1.3. Estrutura e Cuidados Necessários para a Propagação Vegetativa e Sexuada:

Para o sucesso da propagação vegetativa de plantas, cinco fatores ambientais são fundamentais: luz, água, controle de temperatura, nutrientes minerais e gases. Além disso, as plantas jovens requerem proteção especial contra patógenos e pestes, bem como o controle do nível de salinidade do substrato de crescimento. As casas de vegetação foram os principais avanços que permitiram e facilitaram os processos de propagação vegetativa de diversas espécies.

Antes do advento das casas de vegetação, as “camas quentes” eram o principal sistema utilizado para o cultivo e propagação de plantas. Esses sistemas consistiam da utilização de misturas de esterco fresco com material vegetal umedecidos, que durante o processo de fermentação libera calor para o meio. A mistura era colocada abaixo no leito de cultivo, sendo o sistema coberto por vidro. Esse sistema foi a base para a utilização dos sistemas de aquecimento atuais.

As casas de vegetação foram derivadas dos “invernadeiros” construídos na Europa, no século XVIII. Esses sistemas eram fabricados com ferro e vidro e podiam armazenar calor, principalmente durante o inverno. Aquecimento suplementar era obtido com a utilização de serpentinas que circulavam água aquecida nos substratos e no ambiente. Atualmente, casas de vegetação de todos os modelos são disponíveis, principalmente depois da criação dos filmes de polietileno. As casas de vegetação mais completas possibilitam controle da umidade relativa do ar, da temperatura, com resfriamento e aquecimento, e da luminosidade. Sistemas mais simples podem ser construídos com plástico, peças de ferro ou madeira. Sistemas de fluxo horizontal de

ar são de custo baixo e servem bem para a propagação de diferentes espécies de plantas.

No Brasil, o principal fabricante de casas de vegetação é a *Van Der Hoeven*, localizada em Holambra, SP. Em países frios o aquecimento é fundamental e é mantido por queima de combustíveis ou por energia elétrica. No Brasil, a maioria das casas de vegetação são aquecidas por resistências elétricas. A existência de tubulações com aquecimento termostaticado de água, colocadas abaixo dos leitos de germinação ou de enraizamento, favorecem e aceleram esses processos. Atualmente, em função da crise energética, a utilização de aquecimento solar tem sido ampliada. Em países da Europa e da América do Norte, a utilização de sistemas computadorizados possibilita o controle de inúmeros fatores, facilitando o controle e proporcionando condições ideais para o cultivo e propagação das plantas. Além das casas de vegetação existem também os telados e os sombrites. Esses sistemas, além de evitarem a entrada de pragas, possibilitam a redução da radiação luminosa que penetra no interior do ambiente, reduzindo a temperatura interna. O índice de sombreamento pode ser controlado em função da malha da tela utilizada.

1.4. Tipos de Solos e Meios de Cultivo:

O substrato de cultivo e de propagação deve apresentar determinadas características que podem facilitar e aumentar o sucesso do processo. O meio deve ser suficientemente firme e denso para sustentar as estacas ou as sementes. O material deve reter água o suficiente para as espécies submetidas à propagação. Deve ser suficientemente poroso para evitar excesso de encharcamento, que leva à fermentação do material. O meio deve ser livre de sementes de espécies invasoras, de nematóides e de diversos patógenos. Deve ser passível e tolerante à pasteurização ou a tratamentos químicos. Deve, ainda, fornecer nutrição mineral adequada quando as plantas são mantidas por períodos prolongados no substrato de propagação.

Os principais substratos empregados na propagação de plantas utilizam misturas de diferentes materiais. Os materiais mais empregados são a areia, a turfa (resíduo de ambientes alagados e pantanosos, com elevada capacidade de retenção de água, cerca de 15 vezes o seu peso; apresenta pH ácido, entre 3,2 e 4,5, e contém pequenas quantidades de nitrogênio), o musgo *Sphagnum* (obtido pela desidratação do musgo; absorve de 10 a 20 vezes o seu peso em água), a vermiculita (argila expansível; apresenta elevada capacidade de retenção de água e elevada capacidade de troca de cátions, podendo funcionar como reserva nutricional), a perlita (material silicoso derivado de rocha vulcânica; armazena de 3 a 4 vezes o seu volume em água; melhora aeração do substrato; não recomendada para plantas sensíveis ao flúor), as fibras minerais (preparadas com diferentes rochas minerais agregadas em espuma ou em outros materiais sintéticos), os flocos de poliestireno expandido, os humos de folhas e as cascas ou derivados de outros materiais em decomposição, fibras e restos de cultura. A elaboração do substrato vai depender do tipo de planta a ser propagado. No Brasil, um substrato pronto para a utilização é vendido pela Eucatex com o nome de Plantmax®.

O tratamento do substrato é fundamental quando a região ou o material são fontes de doenças fúngicas e bacterianas tais como *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* e *Fusarium*. A esterilização pode ser realizada em sistemas de autoclaves ou através da pasteurização, em que o meio de crescimento é aerado com um fluxo de ar aquecido. Pequenas quantidades de substrato podem ser esterilizadas em fornos de microondas. Logo após o aquecimento pode ocorrer acúmulo de amônia, que é tóxica para as plantas. Em seis semanas a amônia produzida é totalmente convertida em nitrato. A adição de superfosfato é indicada para reduzir os riscos de toxicidade causada pelo manganês liberado durante o aquecimento.

Uma alternativa é a fumigação do material com produtos químicos. O produto mais utilizado é o brometo de metila. Contudo, em função de sua toxicidade e da volatilidade, este deve ser aplicado apenas por pessoas qualificadas. Alguns fungicidas podem ser aplicados diretamente no solo. Dentre os mais conhecidos

podemos destacar o Benomyl (Benlate®) e o Captan (Orthocide®). O Benomyl é um fungicida sistêmico que inibe o crescimento de fungos de solo como *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Verticillium*. Não tem eficiência contra contaminantes de água como *Pythium* e *Phytophthora*. O Captan, quando adicionado ao meio de enraizamento, é eficiente contra *Pythium* e *Fusarium*, apresentando pequena inibição sobre *Rhizoctonia*.

Durante a propagação todo o material utilizado deve ser sanitizado. Diferentes tipos de doenças, inclusive as de origem virótica, podem ser multiplicadas pela utilização de utensílios e ferramentas contaminados. O ambiente utilizado para a propagação também deve ser desinfestado a cada dia de trabalho e para esse procedimento a utilização de soluções comerciais à base de hipoclorito de sódio é suficiente (1 parte de solução comercial para cada 9 partes de água limpa). Facas, canivetes, tesouras de poda e todas as demais ferramentas também devem ser esterilizadas periodicamente em solução de hipoclorito de sódio. O trânsito de pessoas alheias ao trabalho e de visitantes deve ser mantido em um mínimo possível.

O material vegetal utilizado deve ser selecionado, escolhendo sempre ramificações mais novas, descartando tecidos com sinais de doenças ou infestados por pragas. De preferência, devem-se utilizar as porções superiores dos ramos como fontes de propágulos. O material pré-selecionado, quando na forma de estacas, pode ser tratado com solução diluída (30 mg L^{-1}) à base de hipoclorito de sódio. Após as estacas serem produzidas, as bases podem ser mergulhadas em solução de diluída (30 mg L^{-1}) à base de hipoclorito de sódio e, em seguida, em uma mistura de fungicidas de largo espectro, tais como Captan e Benlate, antes de sofrerem qualquer tratamento hormonal.

Após o material ser colocado para enraizar o mesmo deve ser tratado periodicamente com solução nutritiva para fornecer os elementos necessários ao desenvolvimento da nova planta. As soluções de Hoagland e de Clarck são as mais utilizadas, embora formulações comerciais também possam ser empregadas. Existem também no mercado produtos que liberam gradativamente os nutrientes

necessários, reduzindo os riscos de danos por adubação excessiva. Esses produtos, embora mais caros, são mais seguros. Existem três tipos de fertilizantes de liberação lenta no mercado: a) grânulos ou pílulas encapsuladas (*pellets*) em material solúvel em água; b) material inorgânico com solubilização lenta e; c) materiais orgânicos de baixa solubilidade, que se decompõem por quebra biológica ou por hidrólise química. Um exemplo desse material é o Osmocote®, um sistema na forma de *pellets* que disponibiliza micronutrientes de forma lenta.

A qualidade microbiológica e química da água são fatores que também interferem no sucesso do processo de propagação. A presença de algas, bactérias e de coliformes fecais deve ser eliminada através de análises periódicas e da utilização de filtros ou sistemas de tratamento locais. A salinidade também deve ser checada, uma vez que a maior parte das espécies não é tolerante ao excesso de sais. A utilização de sistemas de deionização ou de osmose reversa, embora caros, pode resolver o problema. A adição de cloro ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) pode eliminar o desenvolvimento de patógenos e de algas.

A faixa de pH mais recomendada para o substrato encontra-se entre 5,5 e 7,0. Para reduzir o pH em solos alcalinos a utilização de sulfato de amônio é eficiente. Quando o solo é ácido, o fornecimento de nitrato de cálcio tem efeito de aumento no pH.

Se necessário o fornecimento complementar de iluminação, este pode ser realizado com a utilização de lâmpadas fluorescentes e, ou, lâmpadas alógenas. Lâmpadas a vapor de sódio também são eficientes. Atualmente, as lâmpadas de LED (*Light Emission Diode*) têm sido as preferidas devido ao baixo consumo de energia, durabilidade e a possibilidade de controle da qualidade e da intensidade da radiação. Deve ser fornecido um mínimo de radiação requerido para cada espécie.

Para algumas espécies é interessante o fornecimento complementar de dióxido de carbono (CO_2). Na natureza a concentração de CO_2 varia de 0,03 a 0,035%. No inverno, em casas de vegetação fechadas, a concentração de CO_2 pode reduzir a níveis bem baixo, de até 0,02%, limitando intensamente o crescimento das plantas,

principalmente das C_3 . O incremento da concentração atmosférica na faixa entre 1 a 2% favorece o desenvolvimento das plantas, com aumentos de até 200% na taxa de fotossíntese observada na concentração de 0,03%. Contudo, o aumento excessivo da concentração de CO_2 pode promover fechamento de estômatos pela acidificação das células guardas.

Os tipos de recipientes utilizados variam de acordo com o material, região, disponibilidade e com a exigência do mercado e das agências reguladoras. Existem recipientes mais sofisticados construídos com material plástico dobrável de baixa espessura. Outros recipientes mais baratos são os tubetes de PVC, sacos de polietileno, vasos de barro ou de PVC e as bandejas de poliestireno expandido (Isopor®). Os recipientes mais baratos são os jacás, construídos com lâminas finas de madeira, sendo muito utilizados nos viveiros por fruticultores. As bandejas de fibra mineral e PVC também são disponíveis no mercado. A grande vantagem desses materiais é que as mudas ficam organizadas, com um grande número de indivíduos por superfície. Além disso, o risco de enovelamento do sistema radicular é bastante reduzido, uma vez que existe um afunilamento do recipiente e por serem mantidos suspensos e sem contato com o solo, o crescimento das raízes é inibido. Alguns desses recipientes podem ser reutilizados e por isso devem ser desinfestados antes da reutilização. A utilização de água quente ($70^\circ C$), seguida da lavagem em solução diluída de cloro, elimina a maior parte dos agentes fitopatogênicos.

2. Manuseio e Produção de Sementes:

Cada espécie vegetal apresenta mudanças características durante o amadurecimento das sementes. Uma semente é considerada madura quando esta pode ser removida da planta sem prejudicar a sua germinação. Geralmente, esse momento é alcançado quando a semente apresenta o máximo em termos de seu peso seco. Se o fruto amadurece muito cedo ou se a semente é colhida quando o embrião encontra-se insuficientemente desenvolvido, a semente tende a ser muito

pequena e frágil, com peso reduzido, enrugada, pobre em qualidade e de vida-curta. Entretanto, para espécies cujas sementes apresentam casca-dura, como em diversas espécies lenhosas, a coleta precoce das sementes pode ser vantajosa. Se as sementes destas espécies tornarem-se secas, elas podem não germinar por bastante tempo. Por outro lado, se a coleta for muito atrasada, o fruto pode sofrer deiscência e as sementes podem cair ao chão, sendo levadas por ventos e pela água das chuvas e também por pássaros ou por outros animais. Portanto, deve ser feito um balanço entre o atraso e a coleta precoce de sementes, levando-se sempre em conta a obtenção de um grande número de sementes de alta qualidade.

As plantas podem ser divididas em três grupos de acordo com a maturação de seus frutos. O primeiro grupo inclui aquelas espécies com frutos que ressecam tanto as sementes quanto o involúcro do fruto. Estes frutos não sofrem deiscência e não são imediatamente disseminados após a maturação. Como exemplos temos o milho, o feijão, o trigo e outros grãos. O segundo grupo inclui espécies que produzem sementes secas em frutos que sofrem deiscência em resposta à maturação. Esse grupo inclui sementes em folículos, vagens, cápsulas, síliquas e cones (estróbilo das coníferas). Muitas espécies desse grupo são selvagens e não domesticadas. O terceiro grupo relaciona espécies que apresentam frutos com polpa. Nesse grupo encontram-se importantes espécies frutíferas e outras espécies utilizadas na nutrição humana.

A colheita e o manuseio das sementes dos diferentes grupos depende diretamente de suas características. As sementes do primeiro grupo são geralmente colhidas por equipamentos mecânicos, exigindo condições secas, uma vez que a chuva e o excesso de umidade podem causar danos mecânicos muitas vezes imperceptíveis. O ponto ideal de colheita destas sementes encontra-se quando a umidade do grão alcança de 12 a 15%. As sementes dos frutos do segundo grupo devem ser colhidas antes da completa maturação, uma vez que em função da sua deiscência, perdem-se sementes com o avanço da maturação e da redução da umidade das sementes. Contudo, até que se conheçam muito bem as sementes de determinada espécie, as mesmas podem ser colhidas imaturas. Como são colhidas

ainda com elevada umidade, as sementes devem ser secas em bandejas à temperatura ambiente, sob condições de UR do ar reduzida (no caso de sementes ortodoxas) durante uma a três semanas. Após a coleta dos frutos, pode ser necessária a sua extração, o que nem sempre é fácil pela inexistência de equipamentos ou em decorrência da fragilidade das sementes. As sementes do terceiro grupo, em função de sua polpa, devem ser rapidamente beneficiadas, com a retirada das sementes do interior dos frutos. Como o material é rico em polpa, após a retirada das sementes, todo o material deve ser deixado para fermentar, o que é realizado por cerca de 4 a 5 dias, à temperatura de 20°C. Em temperaturas mais elevadas o tempo de fermentação deve ser reduzido. Após esse período, as sementes são lavadas e posteriormente secas ao sol ou em dessecador. A extração por fermentação é particularmente desejável para sementes de tomate, uma vez que o processo pode controlar o cancro bacteriano. A técnica da flutuação também pode ser empregada durante o beneficiamento das sementes. Esta técnica consiste na colocação das sementes ou da polpa em água. As sementes viáveis, mais pesadas, vão para o fundo, enquanto sementes chochas e outros materiais estranhos flutuam.

A secagem das sementes deve ser realizada logo após o beneficiamento, exceto para as sementes recalcitrantes. Se mantidas amontoadas e sem espalhamento, mesmo por poucas horas, sementes que tenham mais de 20% de umidade podem aquecer e perder viabilidade. A secagem pode ser natural ou com ar forçado. A temperatura de secagem não deve exceder a 43°C. Se as sementes são ricas em água, a temperatura de 32°C é a melhor. Uma secagem muito rápida pode causar enrugamento e rachaduras, podendo produzir sementes com casca-dura. A umidade mínima de segurança para a maior parte das sementes encontra-se na faixa de 8 a 15%.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

As sementes recalcitrantes são sementes de vida-curta, representadas por espécies em que as sementes retêm a viabilidade por poucos dias, meses ou até anos. Com certos cuidados, as sementes destas espécies podem ser mantidas viáveis por períodos muito mais longos. Esse grupo inclui certas espécies de maturação na

primavera, árvores de regiões de clima temperado, como álamo (*Populus*), salgueiro (*Salix*) e o olmo (*Ulmus*). As sementes destas plantas caem no solo e germinam imediatamente. Muitas espécies tropicais que ocorrem em regiões de temperatura e umidade relativa elevadas também pertencem a esse grupo. Como exemplos de sementes recalcitrantes em espécies tropicais destacam-se a cana-de-açúcar, a seringueira, a macadâmia, o abacate, a manga, o cacau, o café e os citros, dentre outros. Algumas plantas aquáticas de clima temperado também apresentam esse fenômeno, como o arroz selvagem (*Zizania aquatica*) e os juncos, por exemplo. Diversas espécies produtoras de nozes também apresentam essa característica, como a noqueira-pecã (*Carya*), o castanha-da-índia (*Castanea*), o carvalho (*Quercus*) e a noqueira (*Juglans*), por exemplo.

As sementes ortodoxas compreendem aquelas espécies que permanecem viáveis por períodos de 2 a 3 anos, existindo casos de até 15 anos de viabilidade. Tais sementes se conservam melhor em baixa umidade e baixa temperatura. Inúmeras espécies pertencem a esse grupo. As sementes dessas espécies geralmente têm cascas-duras impermeáveis a água. Se a casca não for danificada tais sementes podem se manter viáveis por 15 a 20 anos. O máximo de vida pode ser de 75 a 100 anos ou mais. Recordes de longevidade foram relatados na literatura para diferentes espécies mantidas em herbários. As sementes do lotus indiano (*Nelumbo nucifera*) que se encontravam enterradas em um brejo turfoso na Manchuria por estimados 1000 anos germinaram perfeitamente quando as suas cascas impermeáveis foram quebradas. Algumas sementes mantêm viabilidade por muitos anos (50 a 70 anos ou mais) enquanto enterradas no solo. A longevidade parece estar relacionada com algum tipo de dormência induzida nas sementes pelas condições ambientais encontradas nas profundezas dos solos.

As condições de armazenamento que mantêm a viabilidade das sementes por maior tempo são aquelas em que a taxa de respiração e de outros processos metabólicos são reduzidos sem causar injúrias ao embrião. As condições mais importantes são o baixo teor de umidade da semente, a baixa temperatura de

armazenamento e modificações na atmosfera de armazenamento. O controle do nível de umidade da semente é provavelmente o fator mais importante para a manutenção da longevidade das sementes. As sementes de espécies ortodoxas são tolerantes à dessecação e não apenas podem resistir à secagem como também à baixa umidade do ar nas condições de armazenamento. A faixa de 4 a 6% de umidade é favorável ao prolongamento da armazenagem, embora um nível mais elevado de umidade seja permitido caso a temperatura seja reduzida. Para o tomate, por exemplo, se a temperatura de armazenamento é de 4,5 a 10°C, a percentagem de umidade deve ser de 13%. Se a temperatura é de 21°C, a umidade deve ser de 11%, e se a temperatura é de 26,5°C, a umidade deve ser de 9%. Diversos problemas podem ocorrer em resposta ao aumento da umidade da semente durante o armazenamento. De 8 a 9% ou mais, os insetos são ativos e reproduzem. De 12 a 14%, em 65% de UR ou mais, os fungos são ativos. Acima de 18 a 20% ocorre aquecimento. Acima de 40 a 60% pode ocorrer a germinação. Por outro lado, se a umidade da semente ficar muito baixa, entre 1 a 2%, pode ocorrer perda de viabilidade e redução na taxa de germinação. Sementes armazenadas nessa condição deverão ser hidratadas com vapor saturado de água para evitar injúrias.

A umidade da semente sempre está em equilíbrio com a umidade relativa do ar no ambiente de armazenamento. A longevidade da maioria das sementes é mantida quando a UR do ar encontra-se entre 20 e 25%. Variações na umidade da semente durante o armazenamento reduzem a longevidade da semente. A armazenagem em sistemas hermeticamente selados e resistentes à umidade é vantajosa. Nessa situação, a umidade da semente deve ser mantida baixa durante todo o tempo de armazenamento. A manutenção de sementes em recipientes lacrados em umidade de 10 a 12% e não na indicada, de 4 a 6%, é bem mais prejudicial que a armazenagem em recipientes não lacrados.

Sementes recalcitrantes apresentam vida-curta primariamente em função da sua sensibilidade à redução da umidade. Sementes de *Acer saccharinum* devem ser mantidas em umidade de 58% durante a maturação na primavera. A viabilidade é

perdida quando a umidade cai abaixo de 30 a 34%. Sementes dos citros podem ser submetidas apenas a pequena desidratação sem perderem a viabilidade. A viabilidade das sementes recalcitrantes de espécies de clima temperado pode ser preservada por mais tempo se mantidas em ambiente úmido antes da congelação. Nessa condição, as sementes podem ser mantidas por muitos anos. Entretanto, sementes de espécies tropicais, como de café e cacau, mostram injúria por resfriamento (*chilling*) abaixo de 10°C.

A redução da temperatura invariavelmente aumenta o período de armazenagem das sementes e, frequentemente, pode reverter os efeitos prejudiciais da elevada temperatura. Segundo Harrington, para sementes não adversamente afetadas pelas condições de baixa umidade relativa, para cada 1% de redução na umidade, na faixa entre 5 e 14%, ocorre a duplicação da longevidade das sementes e, para cada redução de 5°C de temperatura, entre 0 e 44,5°C, na temperatura de armazenamento, também há a duplicação do tempo de armazenamento da semente. Por outro lado, sementes armazenadas em baixa temperatura, mas em alta umidade relativa, rapidamente perdem viabilidade quando são transferidas para temperaturas elevadas. Temperaturas abaixo de zero, pelo menos de -18°C, podem aumentar o tempo de armazenamento em muitas espécies. Nessa condição, a umidade relativa deve ser equilibrada, próximo a 70% ou menos, uma vez que a água livre na semente pode congelar e causar injúrias às sementes. Armazenamento sob refrigeração deverá sempre ser combinado com desumidificação ou com selagem das sementes em recipiente à prova de umidade.

A criopreservação das sementes em nitrogênio líquido (-196°C) pode ser útil para o armazenamento, uma vez que o teor de umidade é mantido relativamente baixo, em cerca de 8 a 15%, e as sementes são mantidas em recipientes selados. Nessa situação, a velocidade do congelamento e do descongelamento são importantes fatores para a manutenção da viabilidade das sementes. Esse procedimento é ideal para armazenamento por tempo prolongado de sementes em bancos de germoplasma.

Muitas espécies com sementes ortodoxas podem ser armazenadas em sistemas abertos e sem controle de temperatura. Contudo, a longevidade é aumentada se o ambiente de armazenamento for mais uniforme. Sementes que apresentam casca impermeável à água podem apresentar viabilidade por 10, 20 ou mais anos, uma vez que tenham sido previamente secas. Entretanto, o empacotamento de sementes secas em recipientes hermeticamente fechados e à prova de umidade é um importante método de manuseio e de comercialização. Os recipientes variam em função da sua durabilidade, resistência, custo, capacidade protetora contra insetos e roedores e da habilidade em reter e transmitir umidade. Recipientes confeccionados em folhas de alumínio são impermeáveis à água. As sementes também podem ser protegidas da umidade pela mistura com agentes dessecantes, como a sílica gel tratada com cloreto de cobalto. A sílica gel (1 parte para cada 10 partes de sementes, por peso), pode absorver água em até 40% do seu peso. O cloreto de cobalto, azul quando seco, torna-se róseo quando a umidade relativa é de 45%, podendo atuar como um indicador adequado do excesso de umidade. Sementes em recipientes selados são mais sensíveis ao excesso de umidade do que aquelas sujeitas à flutuação da umidade em sistemas abertos. A umidade da semente em sistemas selados deve ser mantida entre 5 a 8% ou menos, dependendo da espécie.

Outra forma de conservação de sementes é o armazenamento condicionado que inclui o uso de desumidificadores e, ou, instalações para reduzir a temperatura e a umidade relativa. Tais instalações são caras, mas se justificam quando o valor das sementes é elevado, principalmente em empresas de melhoramento genético e nos bancos de germoplasma. Em regiões tropicais muito úmidas também pode ser necessário a construção de instalações adequadas. A umidade relativa nos ambientes com armazenamento condicionado não deve ser superior a 65 até 70%, visando o controle de fungos, não devendo ser mais baixa que 20 a 25%. Algo importante no controle da umidade em armazenamento a baixas temperaturas é que a umidade relativa aumenta com a redução da temperatura, podendo ocorrer condensação na

semente. A 15°C, a umidade de equilíbrio pode ser muito mais alta que a adequada para o armazenamento. Embora essa umidade não seja danosa às sementes quando mantidas em baixa temperatura, uma rápida deterioração irá ocorrer quando as sementes forem removidas para temperaturas mais elevadas. Conseqüentemente, a refrigeração deverá ser combinada com desumidificação ou com a selagem das sementes em recipientes à prova de umidade. Baixa umidade pode ser obtida com ventilação, impermeabilização da umidade e desumidificação, assim como pelo uso de recipientes selados ou dessecantes. Os desumidificadores podem utilizar dessecantes como a sílica gel ou soluções salinas saturadas. Muitas sementes que não podem ser secas podem ser misturadas com algum material com capacidade para retenção de água e colocadas em sacos de polietileno ou outro material, sendo refrigeradas entre 0 e 10°C. A umidade relativa durante o armazenamento deve ser mantida entre 80 e 90%. Esse procedimento é similar à estratificação.

A condição de armazenamento mais efetiva para sementes secas é umidade de 3 a 8%, colocadas em recipientes selados e armazenados à temperatura de 1 a 5°C. Temperaturas abaixo de zero podem ser mais eficientes desde que o valor econômico da semente justifique os custos adicionais do sistema. Nos Estados Unidos o Laboratório Americano de Armazenamento de Sementes foi criado em 1958, na Universidade do Colorado e preserva sementes de diferentes tipos de germoplasmas. As sementes obtidas de agências públicas, companhias e de pessoas engajadas no melhoramento genético e nas pesquisas com sementes são testadas quanto à viabilidade. Após comprovada a qualidade, as sementes têm a sua umidade reduzida para 5 a 7% e são armazenadas à temperatura entre -10 a -12°C em latas de metal hermeticamente fechadas. Os lotes são testados a cada cinco anos quanto à capacidade de germinação. Se a viabilidade cai, uma nova geração de sementes é produzida e armazenada.

O processo de germinação terá início se três condições fundamentais forem atendidas. Primeiramente, a semente deverá estar viável. Em segundo lugar a semente deverá ser submetida a condições ambientais adequadas, como

disponibilidade de água, temperatura, oxigênio e, em alguns casos, luz. Em terceiro lugar, qualquer condição de dormência primária deverá ter sido superada. Processos internos que levam à remoção da dormência primária são coletivamente denominados *pós-amadurecimento*, e resultam da interação do ambiente com condições específicas da dormência primária. O pós-amadurecimento requer um intervalo de tempo e, às vezes, condições e métodos específicos de manipulação das sementes. Mesmo na ausência de dormência primária, se as sementes são submetidas a condições ambientais desfavoráveis ou adversas, uma dormência secundária pode desenvolver levando ao atraso na germinação quando esta for induzida.

O primeiro estágio da germinação é a embebição, processo puramente físico em que componentes do endosperma da semente, principalmente o amido, interagem superficialmente com a água, que pode ser fornecida até mesmo por condições de elevação na umidade relativa do ar. Durante a embebição, ocorrem inchaço e aumento do tamanho da semente, o que pode causar ruptura da casca, facilitando a germinação. A embebição ocorre mesmo em sementes mortas, uma vez que está associada ao endosperma e não ao embrião. Após a embebição as reservas de proteínas, lipídios e, principalmente, de amido são degradadas com a participação de enzimas hidrolíticas, como a α -amilase, a β -amilase, a enzima desramificadora e a maltase, além de enzimas fosforolíticas, como a fosforilase do amido, de lipases e de outras proteases. Após a quebra das reservas as estruturas do embrião se desenvolvem com a protrusão da radícula, primeira evidência visível da germinação. O ponto de crescimento da parte aérea, a plúmula, cresce para fora da semente e a plântula em desenvolvimento emerge do solo.

A aplicação de testes para análise da viabilidade das sementes é fundamental para o sucesso de programas de propagação através de sementes. A viabilidade é expressa em termos da percentagem de germinação, valor que indica o número de plântulas produzidas a partir de um dado número de sementes. O vigor das sementes e das plântulas são atributos importantes, mas de difícil quantificação. O termo *vigor*

representa o conjunto de atributos fisiológicos que culminam com a germinação das sementes em níveis próximos aos obtidos à época da dispersão. O vigor geralmente é reduzido com o passar do tempo. Sementes com baixo vigor são mais sensíveis ao ataque por insetos e por bactérias e fungos, podendo não ter força suficiente para que a plântula rompa a barreira física do solo.

A germinação pode ser medida pela percentagem de germinação e pela taxa de germinação. O vigor pode ser indicado por estas medições, embora a taxa de crescimento da plântula obtida e a sua aparência morfológica devam ser consideradas. Às vezes, um crescimento anormal das plântulas é decorrente da baixa qualidade das sementes. As determinações do percentual de germinação devem levar em conta o fator tempo, indicado pelo número de plântulas produzidas no intervalo de tempo analisado. A *taxa de germinação* pode ser determinada através de diferentes métodos. Um deles determina o número de dias requerido para a produção de um determinado percentual de germinação. Outro método calcula a média do número de dias requerido para que a radícula ou a plúmula tenham emergido.

$$\text{Média de dias} = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_xT_x}{\text{Número total de sementes germinadas}}$$

Onde: *N* representa o número de sementes germinadas em intervalos consecutivos de tempo; *T* indica o tempo compreendido entre o início do teste e o final de um determinado intervalo de medição. Kotowski utiliza o recíproco dessa fórmula multiplicado por 100 para determinar o coeficiente de velocidade. Gordon sugere o termo resistência à germinação como representante do tempo (horas ou dias) para a germinação média, baseado nas sementes que germinam. Czabator sugere a utilização do valor de germinação (VG) para sementes de espécies lenhosas perenes, para as quais a germinação pode ser lenta. Esse valor inclui tanto a taxa de germinação quanto a percentagem. Para calcular o VG uma curva de germinação deve ser obtida através da contagem periódica das radículas ou das plúmulas que emergem. Os valores importantes na curva são **T**, que representa o ponto em que a taxa de germinação começa a reduzir e o ponto **G**, que representa o percentual final

de germinação. Esses pontos dividem a curva em duas partes, uma fase rápida e uma fase lenta. O valor do pico (**VP**) é obtido do percentual de germinação (*P*) no ponto **T** dividido pelo número de dias (*B*) para alcançar este ponto. A média da germinação diária (**MGD**) é a percentagem final de germinação (*Y*) dividida pelo número de dias (*X*) para alcançar a germinação final. Por exemplo:

$$VG = VP \times MGD$$

$$VG = \frac{68}{13} \times \frac{85}{34}$$

$$VG = 5,2 \times 2,5$$

$$VG = 13,0$$

Quando uma semente é separada da planta mãe, na maioria dos casos, ela apresenta dormência primária. Esta não somente previne a germinação imediata como também regula a época e o local onde a germinação vai ocorrer. Na natureza diferentes tipos de dormência primária podem ocorrer. A dormência secundária é um mecanismo de sobrevivência que pode ser induzido sob condições ambientais desfavoráveis podendo resultar em atraso ou prolongamento no tempo germinação. O conhecimento das características ecológicas no habitat natural da espécie com dormência primária pode auxiliar na superação do fenômeno. A dormência primária é interessante na maioria dos casos, favorecendo a não germinação imediata da semente, que em algumas situações pode ocorrer no interior do fruto. Essa dormência também auxilia no armazenamento, aumentando a longevidade da semente.

O termo *dormência* pode ser definido como a suspensão temporária do crescimento visível de qualquer estrutura da planta que contenha um meristema, mesmo que todas as condições ambientais favoráveis à germinação sejam fornecidas. Quando são fornecidas condições ambientais adequadas a uma semente e esta germina imediatamente, considera-se que a semente encontrava-se em estado de *quiescência*. A dormência primária tem origem genética, podendo ser causada por fatores ligados ao embrião e à casca da semente. A terminologia associada à dormência é ampla e em alguns casos controversa. Hartman e Kester definem três

termos para enquadrar os diferentes tipos de dormência. A *ecodormência* seria decorrente de um ou mais fatores ambientais inadequados ou inexistentes. Esse termo, na realidade, é equivalente ao conceito de quiescência, em que semente não germina pela falta ou pelo fornecimento de fatores ambientais inadequados à semente. A *paradormência* está relacionada a fatores físicos ou a sinais bioquímicos externamente originados. Na semente o controle ocorre por qualquer estrutura localizada ao redor do embrião, não sendo restrita a sinais bioquímicos. Essa categoria pode ser facilmente identificável pela pronta germinação e crescimento da plântula em seguida à excisão do embrião. A *endodormência* é regulada por fatores fisiológicos no interior da semente. Esse tipo de dormência se caracteriza pela não germinação e formação da plântula após a excisão do embrião.

A dormência causada pela dureza da casca ou pela impermeabilidade à água é um tipo de dormência de natureza física, geneticamente controlada, sendo característica de várias famílias com Leguminosae, Malvaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Geraniaceae e Solanaceae, dentre outras. O endurecimento da casca também pode ser decorrente de condições ambientais presentes durante a maturação e o armazenamento das sementes. A impermeabilidade das cascas das sementes é devida à presença de células denominadas macroesclereídeos, além da deposição de ceras e de substâncias cuticulares. A desintegração das cascas ou os estresses mecânicos possibilitam a entrada da água e, conseqüentemente, a germinação das sementes. Em algumas sementes como nas nozes, nos frutos do tipo drupa e nas oliveiras, dentre outras espécies, é necessário um longo período para que as barreiras sejam degradadas e a germinação aconteça. A retirada dessa barreira facilita e acelera o processo.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Quadro 1. Principais categorias e terminologias relacionadas à dormência em sementes

Tipo de dormência da semente	Descrição	Terminologia geral		
		Ecodormência	Paradormência	Endodormência
I. Não dormência:				
Nenhuma	Quiescência	X		
II. Dormência primária:				
Física	Casca		X	
Mecânica	Casca		X	
Inibidor	Casca		X	
Morfológica	Embrião não desenvolvido		X	X
Fisiológica	Relacionado às membranas		X	
-	Relacionado às membranas	X	X	
Termodormência	Relacionado às membranas	X	X	
- Fotodormência	Relacionado às membranas	X	X	
Intermediária	Combinação		X	X
Embrião	Interna		X	X
- Epicótilo	Interna		X	X
Dupla	Combinações		X	X
III. Dormência secundária:				
Diversas		X	X	X

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Substâncias químicas também podem acumular em frutos e em sementes durante o desenvolvimento do embrião, inibindo a germinação. A germinação destas sementes, em alguns casos, pode ser promovida pela retirada da casca ou pela lavagem em água corrente. Alguns exemplos da presença de inibidores podem ser observados em frutos carnosos ou suculentos como nos citros, em abóboras, nos frutos com caroços (drupas), nas maçãs, pêras e uvas, e nos tomates. Do mesmo modo, os frutos secos e os frutos cobertos, como, por exemplo, frutos de *Penisetum ciliare* e de trigo, assim como as cápsulas de mostarda (*Brassica*), podem inibir a germinação. As principais substâncias associadas à inibição são os fenóis, as cumarinas e o ácido abscísico. Inibidores específicos de germinação são importantes para certas sementes de plantas de desertos. Esses inibidores são lavados das sementes por chuvas prolongadas. Como estas substâncias são eliminadas pelas chuvas, elas foram denominadas “pluviômetros químicos”. A dormência em sementes de íris é devida à ocorrência de um inibidor solúvel em água e em éter, presente no endosperma, que pode ser eliminado pela lavagem em água ou com a excisão do embrião. Alguns inibidores interferem no desenvolvimento normal do embrião, causando dormência morfológica. Algumas sementes de espécies da família das Cruciferae (mostarda), de linho, de *Lavendula* (Labiatae) e de violeta (Violaceae) apresentam uma camada mucilaginosa interna que contém inibidores de germinação.

A dormência ocorre também em sementes em que o embrião não se desenvolve completamente à época da disseminação das sementes. O desenvolvimento do embrião ocorre após a embebição e antes da germinação, sendo favorecido por um período em temperaturas mais elevadas. As sementes de algumas espécies possuem embriões rudimentares que apresentam apenas um pequeno pró-embrião embebido em um endosperma compacto. Exemplos, nesse caso, são relatados na família Ranunculaceae (ranúnculo), Papaveraceae (papoula) e Araliaceae (ginseng). Outras sementes apresentam embriões não desenvolvidos, com forma de torpedo, ocupando a metade do tamanho da cavidade da semente. Como exemplos, nesse caso, temos espécies das famílias Umbelifereae (cenoura), Ericaceae (azaléa) e

Primulaceae (cyclâmem), dentre outras. Em certas espécies lenhosas de clima temperado como o azevinho (*Ilex*), além do embrião rudimentar, existem outros tipos de dormência adicionais, como casca-dura e embriões dormentes. Diversas espécies tropicais, muitas das quais monocotiledôneas, têm sementes com embriões não desenvolvidos e requerem um longo período sob temperatura elevada para germinar. Por exemplo, sementes de diversas espécies de palma requerem armazenamento por vários anos para germinar. Contudo, esse período pode ser reduzido para três meses pela manutenção das sementes entre 38 e 40°C, ou para apenas 24 horas pela excisão dos embriões e seu cultivo asséptico. O ácido giberélico (1000 mg L^{-1}) pode acelerar a germinação de sementes de palma, sendo necessário o tratamento da casca para possibilitar a penetração do regulador de crescimento. Outros exemplos incluem *Actinidia*, em que as sementes requerem dois meses e *Annona squamosa*, em que as sementes requerem três meses de temperatura levemente aquecida. Em orquídeas ocorre tanto a presença de embriões rudimentares quanto não desenvolvidos. As sementes das orquídeas não são consideradas dormentes no mesmo sentido das demais sementes, sendo sua preparação para germinação facilitada por métodos assépticos especiais.

A *dormência fisiológica* é um tipo de dormência primária que existe em sementes de inúmeras espécies logo após a colheita. Esse tipo de dormência é transitório e tende a desaparecer com a perda de água durante o armazenamento. Em diversas espécies cultivadas de cereais e de gramíneas e em espécies ornamentais, a dormência fisiológica pode durar de um a seis meses, desaparecendo com a desidratação da semente durante o armazenamento. Para diversas sementes não cultivadas, a dormência fisiológica pode ser mais longa e também pode dar origem à dormência secundária, principalmente se sementes úmidas são enterradas no solo. Sementes que apresentam dormência fisiológica tendem a apresentar requerimentos ambientais mais específicos para a germinação do que as sementes não dormentes. O controle da dormência fisiológica parece residir na semipermeabilidade dos revestimentos fisiologicamente ativos na semente que

circundam o embrião (interior da casca, vestígios de nucelo e, ou, endosperma, perisperma ou endosperma). Estas camadas permitem a entrada da água mas, aparentemente, controlam outros aspectos não completamente compreendidos. Em algumas espécies foi demonstrado que as membranas semipermeáveis podem restringir as trocas gasosas, limitar a obtenção de oxigênio e prevenir o escape de dióxido de carbono. As membranas também podem prevenir a lavagem de inibidores de germinação.

A *dormência embrionária* envolve o controle do próprio embrião. Ela se caracteriza pelo requerimento por um período de um a três meses de resfriamento enquanto a semente encontra-se em condições de embebição e aeração. Embriões dormentes são mais comuns em sementes de árvores e arbustos e em plantas herbáceas de regiões temperadas. Estas sementes amadurecem no outono, passando o inverno na umidade da cobertura morta de folhas (líteo) no solo, germinando na primavera. Viveiristas há bastante tempo, sabem que essas sementes requerem resfriamento úmido. Esse requerimento levou os horticultores à prática da *estratificação*, em que as sementes são colocadas entre camadas de areia úmida ou de terra em caixas ou no próprio solo e expostas a temperaturas baixas (*chilling*) no ambiente ou em refrigeradores. Uma vez que a dormência em sementes é controlada tanto pela casca quanto por condições endógenas relacionadas ao embrião, esta representa uma combinação de para- e endodormência. A endodormência é biologicamente equivalente ao período de “repouso” das gemas das plantas de clima temperado. A dormência embrionária tem efeito direto sobre a morfologia do embrião, sendo necessária para o completo desenvolvimento, representado pelo crescimento e enverdecimento dos cotilédones, engrossamento da radícula, desenvolvimento do hipocótilo e desenvolvimento normal do sistema radicular. Embriões não tratados com resfriamento originam plantas fisiologicamente anãs. As mudanças que ocorrem progressivamente com as sementes durante o resfriamento úmido são definidas como *pós-amadurecimento*. Estas requerem umidade, aeração, temperaturas baixas (*chilling*) e tempo. A desidratação das sementes durante o

período de resfriamento úmido e pós-amadurecimento pode levar as sementes a uma dormência secundária. Quando o final do período de resfriamento é alcançado, as sementes absorvem água rapidamente promovendo a quebra da casca da semente, com eventual emergência da radícula, às vezes mesmo sob temperaturas baixas. A desidratação das sementes, nesse estágio, leva à ocorrência de injúrias. A oxigenação durante o período de pós-amadurecimento depende da temperatura. O aumento da temperatura reduz a solubilidade do oxigênio além de aumentar a fixação do oxigênio por compostos fenólicos. A temperatura é o principal fator no controle da pós-maturação de embriões dormentes. As temperaturas mais efetivas para promoção do resfriamento úmido são aquelas observadas, em média, durante o inverno e início da primavera, no ambiente natural onde a espécie ocorre. Temperaturas entre 2 e 7°C são geralmente as mais efetivas, com temperatura mínima de -5°C. Temperaturas elevadas podem tornar o pós-amadurecimento mais lento, embora acelere a germinação após o completo desenvolvimento do embrião. Plantas anãs, produzidas por excisão de embriões antes da completa pós-maturação, são decorrentes principalmente da exposição a temperaturas elevadas. Sementes de pessegueiro em temperaturas de 23 a 27°C ou maiores produzem plantas anãs, apresentando, contudo, desenvolvimento normal se as plantas forem mantidas em baixas temperaturas. Existem sementes com requerimentos mais específicos durante a pós-maturação. As sementes desse grupo apresentam requerimentos de pós-maturação específicos para a radícula, hipocótilo e epicótilo. Estas sementes se enquadram em dois grupos. Sementes que germinam inicialmente durante períodos mais quentes, em um ou três meses, induzindo o crescimento de raízes e do hipocótilo, mas que requerem de um a três meses posteriores, em condições de baixas temperaturas, para possibilitar o crescimento do epicótilo. Nesse grupo incluem-se espécies de lírio, peônia (*Paeonia*) e *Hepatica acutiloba*. Outro grupo engloba espécies que requerem um período de baixas temperaturas para o pós-amadurecimento do embrião, seguido de um período de temperaturas mais quentes para o crescimento das raízes e de um segundo período de frio para estimular o

crescimento das brotações. Na natureza, espécies desse grupo requerem duas estações para a completa germinação. Isto ocorre para diversas espécies nativas perenes das zonas temperadas.

Na natureza a dormência primária é uma adaptação para o controle do tempo e das condições para a germinação das sementes. A dormência secundária é uma adaptação que previne a germinação de uma semente embebida se outras condições ambientais não são favoráveis. Essas situações podem incluir condições desfavoráveis de temperaturas elevadas, temperaturas muito baixas, escuridão prolongada (escotodormência), iluminação prolongada por luz branca (fotodormência), exposição prolongada à luz vermelho-longo, estresse hídrico e anoxia. Tais condições estão particularmente envolvidas nos ritmos sazonais e na sobrevivência prolongada de sementes de plantas invasoras sob condições de solo. A indução de dormência secundária pode ser ilustrada por experimentos com sementes de alface recém-colhidas. Se a germinação é induzida a 25°C, as sementes requerem luz. Contudo, se as sementes são embebidas em água, no escuro, por dois dias, embriões excisados germinam imediatamente, ilustrando que apenas dormência primária se fazia presente. Contudo, se a embebição no escuro ocorre durante oito dias, embriões excisados não germinam, pois esses desenvolvem dormência secundária. A liberação da dormência secundária pode ser induzida por resfriamento, às vezes por luz e, em vários casos, por tratamentos com hormônios indutores de germinação, principalmente as giberelinas.

O controle da dormência e da germinação é exercido por diferentes substâncias de natureza hormonal de origem endógena. As giberelinas compreendem a classe de substâncias de natureza hormonal mais diretamente envolvidas no controle e na promoção da germinação. O ácido giberélico (GA₃) é a giberelina mais amplamente utilizada, embora outras giberelinas, como o GA₄₊₇, por exemplo, também sejam bastante ativas. As giberelinas geralmente ocorrem em altas concentrações nas sementes em desenvolvimento, mas, geralmente, têm sua concentração reduzida em sementes maduras dormentes, particularmente em

eudicotiledôneas. A aplicação de giberelinas pode liberar certos tipos de dormência, incluindo a dormência fisiológica, a fotodormência e a termodormência. As giberelinas atuam em dois estágios durante a germinação. Inicialmente, as giberelinas iniciam a indução da síntese das enzimas que atuam na quebra das reservas. Em um segundo estágio, as giberelinas atuam na ativação do sistema de mobilização de reservas e durante o terceiro estágio da germinação (germinação propriamente dita). Em sementes de trigo, as giberelinas têm sua concentração aumentada no embrião em resposta à embebição. Elas são translocadas para três ou quatro camadas de células localizadas na camada de aleurona que se encontra ao redor do endosperma, induzindo a síntese *de novo* da enzima α -amilase. A enzima α -amilase, em conjunto com outras enzimas hidrolíticas, move-se para o endosperma onde atua na degradação do amido, que é convertido em açúcares mais simples, principalmente sacarose, sendo estes açúcares translocados para os pontos de crescimento, fornecendo energia, através da respiração, para o desenvolvimento das plântulas.

O ácido abscísico (ABA) é um composto natural que atua não apenas na germinação de sementes, mas no crescimento e desenvolvimento em geral. O ABA parece ter papel na prevenção de germinação precoce durante o desenvolvimento do embrião no óvulo. Níveis elevados de inibidores têm sido considerados responsáveis pela não germinação de embriões rudimentares. O ABA tende a aumentar com a maturação dos frutos podendo prevenir a viviparidade e induzir dormência primária. O ABA já foi isolado da casca de sementes de pêssego, nóz, maçã, rosa e ameixa. A concentração do ABA reduz com a estratificação. A aplicação de ABA pode inibir a germinação de sementes não dormentes e reverter os efeitos da aplicação de giberelinas. Em geral, a inibição é temporária, desaparecendo com o tempo ou com a transferência das sementes para solução sem ABA.

A atividade de citocininas tende a ser elevada em frutos e sementes em desenvolvimento, mas decresce e torna-se de difícil detecção em sementes maduras. Acredita-se que, durante a germinação das sementes, as citocininas compensem os

efeitos de inibidores, principalmente do ABA, e que elas apresentam papel “permissivo” para a ação das giberelinas durante a germinação. As citocininas são consideradas ativas na germinação, embora em um estágio diferente da ação do ácido giberélico.

O etileno é uma importante substância de ocorrência natural e de natureza gasosa envolvida em diversos aspectos do crescimento vegetal. Sementes dormentes de *Symphoricarpos*, uma planta ornamental, e de madressilva (*Lonicera*), assim como sementes de milho e de outros cereais respondem ao etileno. A produção de etileno em sementes germinando de feijão e de ervilha foi demonstrada no ano de 1935. O etileno é um agente de promoção natural da germinação de certos tipos de sementes. O etileno, aparentemente, tem papel limitado na germinação, embora sua ação promotora tenha sido observada em trevo-subterrâneo (*Trifolium subterranean*), amendoim (*Arachys hypogea*) e em *Striga asiatica*, uma planta invasora.

Outras substâncias também estimulam a germinação, embora não se saiba como isto ocorre. Uma dessas substâncias é o nitrato de potássio. Outra substância que apresenta efeito na germinação é a tiouréia, que pode reverter certos tipos de dormência, tais como os efeitos da casca das sementes de *Prunus*, espécie que apresenta dormência embrionária profunda, assim como estimular a germinação de sementes de alface inibidas por temperaturas elevadas. Os efeitos da tiouréia parecem ser devidos a sua atividade de citocinina, superando a inibição. Duas outras substâncias naturais, *fusicocina* e *cotilenina*, apresentam o mesmo efeito da combinação de giberelina mais citocinina.

A capacidade de absorção de água em sementes secas durante o estágio de embebição é medida em termos de potencial hídrico, que em uma semente “seca” pode alcançar valores menores que -100 MPa. O potencial negativo é principalmente decorrente do componente matricial, ou seja, das estruturas coloidais do embrião, das áreas de armazenamento e das cascas das sementes, além do potencial osmótico, em menor intensidade.

A embebição ou lavagem prévia das sementes são processos que aceleram a emergência da plântula durante a germinação, aumentando a uniformidade do processo, evitando algumas condições adversas no solo. As sementes, em algumas situações, são lavadas e, portanto, previamente embebidas em água antes do plantio. Sementes de algumas espécies herbáceas podem ser beneficiadas por uma embebição durante oito horas. Contudo, tais sementes podem ser danificadas por períodos mais longos de embebição (24 h ou mais). Sementes grandes são particularmente vulneráveis à embebição prolongada. Um excesso de água pode ficar aprisionado entre os cotilédones e “sufocar” o embrião. Danos têm sido associados à ação de microorganismos e também à redução na oxigenação. Se uma embebição prolongada é necessária, a água deverá ser trocada pelo menos uma vez a cada 24 h. Sementes dormentes de espécies lenhosas podem ser lavadas e embebidas por períodos prolongados, sem riscos de injúria.

O *condicionamento osmótico* é outra técnica utilizada para aumentar as taxas de germinação. Nesse caso, utilizam-se soluções externas com elevado potencial osmótico, visando a redução do potencial osmótico (tornando-o mais negativo) no interior da semente. Isto possibilita que atividades metabólicas associadas à germinação ocorram, prevenindo ou atrasando, contudo, a emergência da radícula. A substância mais empregada para o condicionamento osmótico é o polietileno glicol (PEG 6000), uma substância inerte. Outras substâncias como soluções salinas de NaCl e KNO₃ podem ser utilizadas, embora sejam tóxicas para algumas espécies.

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes relacionados à germinação de sementes, o que se explica parcialmente pelo controle que ela exerce sobre a dormência e, ou, liberação sendo relacionada à adaptação climática. A temperatura é particularmente importante para o crescimento subsequente da plântula. Sementes secas podem tolerar extremos de temperatura. Visando o controle de doenças, as sementes podem ser colocadas em água quente por períodos curtos sem provocar danos às mesmas. Na natureza, os incêndios são frequentemente efetivos na superação da dormência sem causar qualquer dano às

sementes. As sementes de diferentes espécies, nativas ou cultivadas, são categorizadas em grupos de requerimentos por temperaturas específicas, que são relacionadas ao seu clima de origem. Sementes tolerantes à baixa temperatura geralmente são nativas de zonas temperadas, apresentando germinação numa ampla faixa de temperatura, de 4,5°C e, às vezes, até próximo à temperatura de congelação, com limite letal de 30 até 40°C. A temperatura ótima para germinação nesse grupo encontra-se entre 24 e 30°C. Exemplos incluem brócolos, cenoura e repolho, dentre outros. Sementes que requerem baixas temperaturas são de regiões frias, falhando na sua germinação em condições de temperaturas mais quentes. Espécies nesse grupo tendem a ser anuais de inverno, as quais têm a germinação inibida no verão quente, ocorrendo no final frio do outono quando as chuvas de inverno começam. Esta categoria envolve termodormência (dormência relativa) que está presente em muitas espécies com dormência fisiológica. Ela tende a desaparecer com o pós-amadurecimento e armazenamento seco. Exemplos incluem várias plantas como aipo, alface e cebola, assim como algumas sementes de espécies que produzem flores ou são ornamentais, como o coleus, ciclâmem e primula, dentre outras. Sementes que requerem temperatura quente falham na sua germinação em temperaturas abaixo de 10°C, como ocorre com aspargo, milho-doce e tomate, ou abaixo de 15°C, como em feijão, beringela, pimentão e curcubitáceas. Estas espécies são originárias principalmente de regiões tropicais e subtropicais. Outras espécies como o feijão-de-lima, o algodão, a soja e o sorgo também são sensíveis à injúria por resfriamento (*chilling*) quando expostas à temperaturas de 10 a 15°C durante a embebição inicial. O plantio no solo frio pode injuriar o eixo embrionário e resultar em plântulas anormais. Flutuações na temperatura são mais indicadas que germinação em temperaturas constantes. Uma diferença de 10°C é ideal. Este requerimento é especialmente importante para sementes dormentes recém-colhidas. Sementes de um pequeno número de espécies não germinam a temperatura constante. Tem sido sugerido que a razão pela qual as sementes embebidas localizadas muito profundamente no solo não germinam devido as

flutuações de temperatura desaparecem com o aumento da sua profundidade no solo.

A troca de gases entre o meio de germinação e o embrião é essencial para uma germinação rápida e uniforme. O oxigênio é essencial para a respiração. O consumo de oxigênio pode ser medido muito rapidamente após o início da embebição da semente. A taxa de consumo de oxigênio é um indicador do progresso da germinação, tendo sido sugerida como uma medida do vigor da semente. Geralmente, o consumo de oxigênio é proporcional ao nível de atividade metabólica. Solos muito encharcados podem apresentar deficiência de oxigênio, o que ocorre em função da sua baixa solubilidade em água e da sua baixa taxa de difusão nesse meio. A concentração de oxigênio também diminui muito com o aprofundamento do solo. O dióxido de carbono (CO_2) é um produto da respiração e sob condições de baixa aeração pode acumular no solo. Em baixas profundidades do solo o CO_2 pode inibir a germinação em alguma extensão, embora pareça ter pouco efeito, afetando apenas a dormência. Níveis elevados de CO_2 podem ser efetivos na superação da dormência das sementes em algumas espécies. Sementes de algumas espécies germinam bem sob condições de alagamento, principalmente de espécies aquáticas. Sementes de arroz podem germinar sob camadas rasas de água. Em níveis de oxigênio reduzidos, sementes de arroz diferem em seu desenvolvimento em comparação às sementes de outras monocotiledôneas. O desenvolvimento da parte aérea é estimulado e a plúmula cresce em extensão para fora da água em direção ao ar. O crescimento das raízes é suprimido e uma ancoragem bem fraca é observada, a menos que a camada de água seja drenada.

A luz também apresenta efeitos diretos sobre a germinação das sementes. A luz atua no processo pela ação do fitocromo, sendo a quantidade e, principalmente, a qualidade, extremamente importantes. A luz é um fator diretamente envolvido em diferentes situações. Certas espécies epífitas como o visco (*Viscum album*) e figueira de estrangulamento (*Ficus aurea*) apresentam requerimento absoluto por luz, perdendo rapidamente a viabilidade em poucas semanas pela ausência desse fator.

Diversas espécies com sensibilidade à luz caem na categoria de sementes com dormência fisiológica, incluindo diversas gramíneas, diferentes hortaliças herbáceas e espécies com flores, além de várias invasoras e espécies nativas. A sensibilidade à luz é caracterizada pelo pequeno tamanho das sementes, cujo plantio bem superficial é fundamental para a sobrevivência. Se plantadas muito profundamente o epicótilo pode não romper a camada de solo. Algumas espécies cultivadas importantes como a begônia, *Kalanchoe*, prímula e *Saintpaulia* (violeta-africana) apresentam sensibilidade à luz para a germinação. Diversas sementes de coníferas que possuem dormência intermediária também apresentam sensibilidade à luz. A dormência intermediária é típica de espécies coníferas, em que as sementes respondem ao resfriamento (*chilling*), embora não apresentem um requerimento absoluto. O resfriamento incrementa a taxa de germinação, embora sem ele a germinação eventualmente ocorra. Estas sementes apresentam grande quantidade de tecidos de reserva ao redor do embrião. O controle da germinação, nessas espécies, parece estar relacionado à casca da semente, uma vez que após a sua retirada a germinação ocorre prontamente. A germinação é, contudo, inibida pela luz em poucas espécies. Alguns exemplos são o maxixe, *Phacelia*, *Nigelia*, *Allium*, *Amaranthus* e *Plox*. Algumas dessas espécies são de desertos e somente germinam em grandes profundidades, onde a umidade é maior. Algumas espécies de flores são listadas nessa classe com destaque para calêndula, delfínio, amor-perfeito, flox-anual, e verbena anual.

Em diversas situações as membranas das células localizadas nas cascas das sementes e, ou, no endosperma parecem atuar como sensores de luz. O requerimento por luz pode ser eliminado por tratamentos com baixas temperaturas ou com alternância de temperaturas. A utilização de lâmpadas artificiais apresenta efeito específico sobre o processo. Lâmpadas fluorescentes, que são enriquecidas em radiação no vermelho são indicadas. Lâmpadas incandescentes, ricas em radiação infravermelho (vermelho-longo), tendem a inibir o processo, o que é um reflexo das fotoconversões por que passam as moléculas do fitocromo. Na natureza, a qualidade da luz que alcança as sementes pode ter influência sobre o desenvolvimento. Os

frutos verdes transmitem luz rica em vermelho-longo, que pode induzir dormência nas sementes ao longo da sua maturação. Experimentos com plantas de *Arabidopsis* mostram que suas sementes são dormentes quando estas são cultivadas sob lâmpadas incandescentes antes da colheita, não sendo dormentes, contudo, se as plantas forem cultivadas sob lâmpadas fluorescentes. Plantas de *Chenopodium album* são dormentes se expostas a dias longos e não dormentes se expostas dias curtos.

Na luz solar natural, comprimentos de onda na região do vermelho dominam, em uma proporção de 2:1, em relação ao vermelho-longo, o que leva a um maior acúmulo de fitocromo na forma F_{VL} , que em muitos casos é a forma fisiologicamente ativa. No interior da folhagem das copas o vermelho-longo predomina e a relação vermelho/vermelho-longo pode ser menor que 0,12:1,0 chegando até 0,7:1,0, o que pode inibir a germinação de inúmeras espécies. A luz vermelha penetra menos profundamente no solo que a luz vermelho-longo, o que altera a proporção das duas faixas do espectro com o aprofundamento no solo. Sementes sensíveis à luz quando enterradas no solo, permanecerão dormentes até que as mesmas sejam exposta à luz pelo cultivo do solo (aração e gradagem). A sensibilidade à luz pode ser desenvolvida na forma de dormência secundária pela exposição de sementes não sensíveis à luz quando estas são embebidas em condições de altas temperaturas, alta pressão osmótica ou na presença de gases. A luz deve ser fornecida às sementes como um processo para aceleração da germinação.

Durante a germinação de sementes diversos testes podem ser realizados. O primeiro passo é a amostragem, na qual um número representativo de sementes é aleatoriamente coletado e submetido a testes específicos. O primeiro teste a ser aplicado é o de pureza, que evita a contaminação do lote com sementes estranhas, livrando a área de plantio da introdução de invasoras de difícil erradicação. A determinação do teor de umidade é um passo fundamental para o sucesso da germinação. Existem diferentes tipos de medidores eletrônicos de umidade. A secagem forçada ou natural aumenta a longevidade e a capacidade de germinação em sementes ortodoxas. O teste seguinte visa à determinação da viabilidade, que

pode ser obtida pela germinação direta, retirada do embrião e cultivo asséptico ou em papel filtro, além do teste do tetrazólio.

Diversos tratamentos podem ser aplicados visando à quebra da dormência das sementes. Quando a dormência é relacionada à casca, a escarificação é um método bastante eficiente. A escarificação é um processo de quebra, arranhadura, alteração mecânica e, ou, amolecimento da casca da semente tornando-a permeável à água e aos gases. A escarificação mecânica é simples e efetiva para inúmeras espécies. Estas sementes são secas após tais tratamentos e podem ser armazenadas ou plantadas imediatamente. A utilização de lixas, limas ou a quebra com um martelo são métodos simples para uma quantidade relativamente pequena de sementes. Para grandes quantidades de sementes, escarificadores especiais são usados. Testes relacionados ao tempo e à intensidade de escarificação devem ser desenvolvidos para evitar danos às sementes. A imersão de sementes em água quente é outra técnica de escarificação bastante utilizada. A faixa de temperatura varia de 77 a 100°C. As sementes são rapidamente retiradas da água quente e resfriadas gradualmente em água fria por 12 a 24h. As sementes da maioria das espécies submetidas a esses tratamentos devem ser plantadas imediatamente.

A escarificação ácida é outra técnica utilizada para quebra da dormência. Para tanto, soluções concentradas de ácido sulfúrico (gravidade específica 1,84) são utilizadas na razão de uma parte de sementes para duas partes de ácido. A quantidade de sementes tratadas não deve ser muito grande para se evitar o desenvolvimento intenso de calor. A mistura deve ser agitada lenta e cuidadosamente para uniformização do tratamento e para evitar o aumento intenso da temperatura. O tempo de tratamento varia de menos de dez minutos para algumas espécies a até seis ou mais horas para espécies com tegumento mais duro. Ao final do tratamento, as sementes devem ser lavadas para a remoção do ácido. A colocação das sementes em grandes volumes de água adicionada de pequenas quantidades de bicarbonato de sódio irá neutralizar todo o ácido sulfúrico aderido. Outra opção é a lavagem em água corrente por dez minutos. As sementes devem ser

preferencialmente plantadas imediatamente após o tratamento ácido. Sementes grandes de algumas leguminosas respondem a um único tratamento com ácido sulfúrico. Entretanto, algumas espécies de rosáceas, nos gêneros *Cotoneaster* e *Rosa*, que apresentam pericarpos duros, apresentam melhores resultados se tratadas com ácido e posteriormente com estratificação sob aquecimento. Um terceiro grupo de plantas, tais como *Hamamelis* e *Tilia*, que apresentam pericarpos bastante robustos devem ser tratados inicialmente com ácido nítrico e, somente depois, com ácido sulfúrico.

A estratificação para algumas espécies pode ser realizada em condições de campo. As sementes de algumas espécies com casca dura que apresentam dormência dupla podem ser plantadas no verão ou no início do outono, enquanto a temperatura é elevada. O inverno, então, submete as sementes a uma estratificação refrigerada, aumentando a germinação posterior. Algumas espécies nativas que apresentam tegumento da semente muito duro germinam após incêndios florestais, onde as cascas das sementes são modificadas pelas temperaturas altas. Sementes de *Pinus radiata* respondem a temperaturas elevadas, uma vez que o aquecimento causa a fusão de resinas que selam o cone, possibilitando a germinação. A coleta de sementes de casca dura ainda imaturas é uma alternativa para superar a resistência das cascas, evitando a dormência das sementes. Tais sementes devem ser imediatamente plantadas sem secagem prévia.

3. Seleção de Fontes e Manejo na Propagação Vegetativa:

A propagação vegetativa ou assexual é utilizada para a produção de uma planta genotipicamente idêntica à planta-mãe. Novas raízes e novas brotações são regeneradas a partir de ramos, folhas e raízes, por estaquia ou por mergulhia. Raízes e brotações são unidas formando uma planta única por enxertia. Algumas espécies de plantas crescem e reproduzem naturalmente por estruturas vegetativas especiais, tais como estolhos, bulbos, cormos, rizomas, tubérculos e outros propágulos, o que

pode ocorrer por separação ou por divisão. A propagação vegetativa é possível devido às células vivas conterem em seus núcleos toda a informação genética necessária para reproduzir uma planta inteira e idêntica à qual ela foi retirada. Esta propriedade é denominada *totipotência celular*. A divisão nas células vegetativas ocorre nos meristemas apicais. As plantas crescem e desenvolvem e durante esse processo as células meristemáticas tornam-se programadas para diferenciarem em tipos específicos de células que darão origem aos ramos, às folhas, às raízes e, eventualmente, às flores e aos órgãos reprodutivos. A ordenação progressiva desses eventos ocorre em estágios ontogênicos (ciclo de vida) da planta, descritos como embriônico, juvenil e adulto (maturidade), resultando nos ciclos de vida sexual ou apomítico. Em plantas anuais e bianuais o ciclo de vida dura um ou dois anos. Em espécies perenes, a planta continua a crescer e a reproduzir através de fases consecutivas de crescimento vegetativo e de reprodução.

Os métodos tradicionais de propagação foram expandidos pela inclusão da micropropagação, em que novas plantas podem ser produzidas a partir de pequenas estruturas como os embriões, as gemas apicais e os meristemas, o que ocorre sob condições assépticas. Novas plantas de algumas espécies podem ser regeneradas vegetativamente a partir de protoplastos, células, calos, micrósporos e de outros tecidos isolados. Associado às técnicas de cultivo *in vitro*, novos métodos de melhoramento genético tornaram-se disponíveis, incluindo a possibilidade de isolamento e transferência de fragmentos de DNA, representando genes específicos provenientes de células vegetativas (somáticas) para outras células ou combinando duas diferentes células em um sistema alternativo à reprodução normal das plantas. Estas técnicas, denominadas genericamente de engenharia genética, estão incluídas no contexto da biotecnologia.

Diversas espécies importantes de interesse agrícola são propagadas mais facilmente, mais convenientemente e mais economicamente por métodos assexuais do que por sementes. Um dos maiores avanços na agricultura primitiva foi a observação de que diversas espécies de interesse como a videira, a oliveira e a

figueira podiam ser propagadas através do enterramento de pedaços de ramos no solo, levando à produção de raízes e, posteriormente, de novas plantas. Outras plantas importantes como a batata, o inhame e a cana-de-açúcar podem ser rapidamente propagadas por separação ou por divisão de tubérculos, bulbos, rizomas ou por outras estruturas vegetativas. A propagação vegetativa não é um fenômeno natural para muitas espécies de plantas. Nesses casos, técnicas especiais foram desenvolvidas para facilitar a propagação dessas espécies. Exemplos são as pomáceas, como a maçã, a pêra e o pêsego, dentre outras, que não enraízam muito rapidamente. O desenvolvimento de facilidades para a propagação como as casas de vegetação, os reguladores de crescimento e os sistemas de nebulização aumentaram as chances de sucesso nos processos de propagação vegetativas das espécies com maior dificuldade de regeneração de raízes. De acordo com Código de Nomenclatura para Plantas Cultivadas, a população de plantas com a mesma base genética resultante de uma única planta original é denominada *clone*. A propagação clonal é um método altamente eficiente para a fixação de caracteres genéticos superiores, o que contrasta com a sequência de gerações requerida para populações provenientes de sementes. Além disso, algumas espécies não produzem sementes e somente podem ser propagadas através de métodos assexuais. Como exemplos temos a uva sem sementes, as bananas, a laranja-da-baía e os figos. Uma vez que os clones são geneticamente idênticos eles também apresentam características fenotípicas altamente uniformes, produzindo frutos com características padronizadas, numa mesma época, facilitando tratos culturais e aumentando o preço final do produto. Muitos clones são preservados pelos humanos há mais de 2000 anos como as uvas “*Cabernet Sauvignon*” e “*Thompson seedless*” e a pêra “*Bartlett*” (*Willians Bom Chretien*), originada de sementes na Inglaterra, em 1770. A maçã “*Delicious*” é outro exemplo. Originada em 1870 nos EUA, talvez seja a cultivar mais plantada em todo o mundo. A uniformidade genética dessas plantas, tal qual nas monoculturas, tem desvantagens. Membros de um clone têm uniformemente susceptibilidade a insetos, doenças e a outras condições ambientais prejudiciais. A propagação de plantas em

sua fase adulta (maturidade fisiológica) de crescimento reduz a duração do período de juvenilidade e de não florescimento, o que é característico em plantas provenientes de sementes. Plantas propagadas vegetativamente irão invariavelmente produzir flores mais rapidamente. Muitas espécies perenes herbáceas tais como orquídeas e espécies bulbosas requerem 5 a 10 anos antes de o florescimento iniciar, sendo que plantas propagadas vegetativamente, a partir de indivíduos adultos, irão florescer anualmente durante suas fases vegetativas (bulbificação) ou reprodutiva (florescimento), dependendo de condições do ambiente e do manejo.

Os clones podem, em alguns casos, apresentar variabilidade, sendo as plantas com tais características denominadas *variantes*. Algumas variações são resultado de efeitos do ambiente, da idade ou de condições fisiológicas, não persistindo durante a propagação vegetativa. As variações genéticas, por outro lado, podem desenvolver nos clones e normalmente persistem durante a propagação vegetativa. Estas ocorrem primariamente em decorrência de acidentes na divisão celular (mitose) e podem induzir alterações genéticas permanentes nos clones. Na prática, tais alterações, também denominadas *variação somática*, podem não ser facilmente identificadas exclusivamente pelo fenótipo das variações, sendo também devidas a outras causas como as epigenéticas, patológicas e ambientais. As variações *epigenéticas* resultam da expressão gênica embora não envolvam alterações nos próprios genes. As variações epigenéticas são mais especificamente associadas ao RNA, afetando a síntese de proteínas estruturais ou a produção de enzimas regulatórias. Variações epigenéticas são revertidas durante a formação do zigoto (tanto sexual quanto apomítico), mas são mais estáveis durante as mitoses e a propagação vegetativa. O objetivo primário da propagação vegetativa é a reprodução de uma cultivar específica. Alterações somáticas e outros tipos de alterações permanentes podem criar sérios problemas. Todavia, elas são responsáveis pela criação de novas cultivares.

Quadro 2. Resumos das fontes de variabilidade observadas nos clones:

I. Fenotípicas (desenvolvimento e ambiente):

Perífise (adiantamento ou acerto causado pelo ambiente sem efeito permanente na maturidade genética da planta)

II. Epigenéticas (mudanças de fase)

Topófise: posição do propágulo na planta-mãe

Ciclofise: idade ontogênica do meristema apical

III. Alterações genéticas e quimeras:

Mutações:

Gênica e cromossomal

Mitocondrial

Cloroplastídica

Varição em cultivares ou espécie-específica

IV. Patogênica:

Sistêmica:

Vírus ou tipo-vírus

Viróide

Organismos do tipo micoplasma

Organismos do tipo rickettsia

Nematóides

Certas bactérias

Patógenos não sistêmicos:

Bactérias

Fungos

A transição do estágio de juvenilidade para o de crescimento adulto é um fenômeno genético e epigenético. Os tipos de variações produzidas e a duração da fase de juvenilidade são herdados. Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar as diferenças entre as fases juvenil e adulta. Sob o ponto de vista celular, propõe-se que as células dos meristemas juvenis e adultos são epigeneticamente diferentes. Evidências para essa hipótese são dadas pela capacidade de pontos de crescimento individuais reterem potencial adulto/juvenil quando propagados. Além disso, células

e tecidos apresentam diferentes performances em cultura. Diferenças hormonais também parecem ocorrer. Experimentos mostram que brotos adultos enxertados em plantas juvenis tendem a retornar à juvenilidade, o que aparentemente é decorrente de substâncias fornecidas pelas folhas da parte juvenil. Tratamentos com ácido giberélico induzem retorno do estágio adulto para o juvenil em plantas de hera (*Hedera helix*), ocorrendo o oposto em coníferas. Tratamentos com ácido abscísico revertem a mudança de fase. As células dos meristemas apicais são influenciadas pelas células localizadas em regiões imediatamente próximas a elas. As plantas tendem a envelhecer, mostrando redução nas taxas de crescimento e exibindo alterações no tipo de ramificação. Esse envelhecimento fisiológico é natural e normalmente pode ser revertido por renovação ou revigoração de ramos vegetativos. Esse envelhecimento também pode ser controlado por podas, tratamentos nutricionais e, ou, pelo controle da produção.

Variações genéticas podem ocorrer em plantas propagadas vegetativamente. As mutações são modificações genéticas que produzem alterações permanentes no genótipo das plantas. As mutações podem afetar o material genético nuclear (cromossomos) ou citoplasmático (plastídeos e mitocôndrias). As mudanças cromossômicas são resultantes de rearranjos em uma ou em mais de uma das quatro bases nitrogenadas do DNA (mutações de ponto) ou por deleções, duplicações, translocações e inversões de partes de alguns cromossomos. As alterações podem ser resultado de adições ou subtrações de cromossomos individuais (aneuploidias) ou da multiplicação de conjuntos completos de cromossomos (poliploidias). Mutações associadas aos plastídeos geralmente levam à perda de clorofilas e à produção de indivíduos albinos ou variegados. As mutações podem se tornar visíveis ou permanecerem latentes. Mutações latentes se tornarão visíveis em um clone quando as células desse indivíduo ocuparem uma grande parte dos pontos de crescimento em um ramo ou setor, afetando o fenótipo. Muitas das mutações em ramos são misturas de tecido mutantes e não mutantes que ocupam camadas ou setores distintos de uma planta. Estas combinações são denominadas

quimeras, termo que designa plantas compostas por tecidos com mais de um genótipo. Diversas espécies de plantas de valor econômico, principalmente, ornamentais, têm nas quimeras a explicação de seu fenótipo de valor econômico. As quimeras têm origem nos meristemas, estando relacionadas aos planos de divisão das células meristemáticas (periclinais ou mericlinais). Algumas variações observadas em plantas podem não ser de origem quimérica, podendo ser causadas por elementos denominados *transposons*. Estes são segmentos de DNA que podem migrar de um indivíduo para outro, geralmente de bactérias, causando mutações nas células da planta receptora. As quimeras também podem ser estabelecidas artificialmente por enxertias.

3.1. Bases Anatômicas e Fisiológicas da Propagação por Estacas:

Na propagação por estacas de caules e ou por borbulhas (estacas com uma gema) somente é necessário a formação de um novo sistema radicular adventício. Nas estacas de raízes devem ser iniciada tanto nova sistemas de gemas quanto de raízes adventícias. O mesmo ocorre para as estacas de folhas. Essa capacidade de regeneração de uma nova planta completa é uma propriedade essencial de todas as células vivas. A regeneração depende de duas características fundamentais. Uma é a totipotência. A outra é a desdiferenciação, capacidade que células previamente desenvolvidas e diferenciadas possuem de retornar à condição meristemática e desenvolver um novo ponto de crescimento. Algumas células apresentam essa capacidade em maior extensão do que outras e, por isso, o propagador deve ter a habilidade para selecionar especificamente a fonte adequada e fornecer as condições ambientais ideais para a regeneração. As *raízes adventícias* originam de qualquer parte da planta diferente daquela observada no desenvolvimento normal durante a ontogenia da parte aérea e do sistema radicular das plântulas (durante a formação do embrião na semente). Raízes adventícias também podem originar por regeneração a partir de estacas de raízes. As raízes adventícias também se formam naturalmente.

Um exemplo são as raízes “escora” de milho e de outras monocotiledôneas, que originam de regiões intercalares localizados na base dos internódios. As raízes da figueira-de-bengala (*Ficus benghalensis*), que se originam dos troncos, se estendendo até o solo, também são outro exemplo. Plantas que se regeneram a partir de rizomas, bulbos e de outras estruturas similares a estas também são denominadas adventícias.

As raízes adventícias podem ser *pré-formadas* e, ou, resultantes de *ferimentos ou cicatrização*. As *raízes pré-formadas* desenvolvem naturalmente em ramos ou caules enquanto elas ainda estão ligadas à planta-mãe, podendo emergir mesmo sem serem separadas. *Raízes de cicatrização* desenvolvem somente após a estaca ser produzida, sendo formadas em resposta aos efeitos dos ferimentos durante a preparação da estaca. Estas últimas são consideradas como formadas *de novo*. Quando uma estaca é produzida, células vivas da superfície cortada são injuriadas e expostas, iniciando o processo de cicatrização do ferimento. Imediatamente após o ferimento ser criado o processo de cicatrização inicia em paralelo à formação das raízes, o que ocorre em três etapas. Na primeira etapa as células injuriadas morrem. Uma placa necrótica é formada, selando o ferimento com material de cortiça (suberina), fechando o xilema com gomas. Esta placa auxilia na proteção da superfície da estaca contra a dessecação e a entrada de patógenos. Numa segunda etapa, células vivas, localizadas próximas à placa necrótica, começam a dividir após alguns dias e uma camada de células de parênquima (calos) forma periderme de cicatrização. Certas células na vizinhança do câmbio vascular e do floema começam a dividir e iniciam a formação das raízes adventícias. As mudanças anatômicas que ocorrem na formação *de novo* das raízes adventícias podem ser divididas em quatro estágios. No primeiro, ocorre a desdiferenciação de células específicas e já diferenciadas. Em seguida, ocorre a formação das iniciais radiculares a partir de determinadas células localizadas próximas aos feixes vasculares ou do tecido vascular, que se tornam meristemáticas por desdiferenciação. Subsequentemente, as iniciais radiculares se desenvolvem originando o primórdio radicular. Por último, ocorre o crescimento e a emergência do primórdio radicular para fora dos tecidos do

caule, o que ocorre em paralelo à formação de conexões vasculares entre o primórdio radicular e os tecidos vasculares da estaca.

A localização precisa no interior da estaca onde as raízes adventícias originam intriga os anatomistas e fisiologistas há bastante tempo. Em plantas herbáceas, as raízes adventícias usualmente originam próximas ou entre os feixes vasculares, embora os tecidos envolvidos no sítio de origem possam variar amplamente dependendo da espécie de planta. Por exemplo, em tomate e abóbora as raízes adventícias originam de células de parênquima do floema. Em *Crassula* elas originam da epiderme e, em *Coleus*, do periciclo. Em feijão-castor as raízes originam entre a bainha vascular. As iniciais radiculares em cravo originam em camadas de células de parênquima no interior de uma bainha de fibras. Em algumas espécies, os ápices das raízes em desenvolvimento não conseguem romper as fibras, emergindo na base das estacas. Em espécies lenhosas perenes, onde uma ou mais camadas de xilema secundário e floema estão presentes, as raízes adventícias em estacas de caule originam de células de parênquima ativas, primariamente no floema secundário novo, mas, às vezes, também a partir de outros tecidos como dos raios vasculares, câmbio, floema, lenticelas ou medula. Geralmente, a origem e o desenvolvimento de raízes adventícias ocorrem endógenamente, próximo ou bem ao lado (de fora) dos tecidos vasculares. Muitas plantas lenhosas de fácil enraizamento desenvolvem raízes adventícias a partir das células de parênquima, nos raios do floema. Em seguida à emergência através do caule, as raízes adventícias desenvolvem a coifa e completam a conexão vascular com a estaca original.

O tempo para que as iniciais radiculares sejam ativadas após a transferência das estacas para o meio de enraizamento varia amplamente. Após três dias é possível observar microscopicamente a formação de raízes em crisântemo. Em cravo, cinco dias são necessários. Em rosa, sete dias. A emergência visível de raízes ocorre em dez dias para crisântemo, mas requer três semanas para cravo e para rosa. As células de parênquima dos raios do floema de estacas de *Ficus pumila*, uma espécie que enraíza facilmente, sofrem divisão anticlinal (desdiferenciação), sendo a formação dos

primórdios radiculares mais rápida que em plantas de difícil enraizamento, mesmo se estas últimas forem tratadas com uma concentração ótima de auxina.

As iniciais radiculares latentes ou pré-formadas permanecem dormentes até que os ramos sejam utilizados para a produção de estacas e estas sejam colocadas em condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento e emergência dos primórdios das raízes adventícias. Em algumas espécies, os primórdios originam raízes aéreas em plantas intactas, tornando-se bastante proeminentes. A posição de origem dessas raízes pré-formadas é similar a das raízes adventícias formadas *de novo*. Em alguns porta-enxertos clonais de maçã e de cereja e também em árvores velhas de algumas cultivares de maçã e marmelo, estas raízes latentes pré-formadas causam intumescências denominadas *nódulos*. Espécies apresentando raízes pré-formadas geralmente enraízam rápida e facilmente, embora isso também possa acontecer com espécies que não apresentam tais raízes. Em plantas de chorão (*Salix*), primórdios de raízes latentes podem ser observados pela retirada da casca com a visualização da ocorrência de protuberâncias no caule.

Os calos geralmente desenvolvem na base das estacas quando estas são colocadas em condições ambientais favoráveis ao enraizamento. Os *calos* são massas irregulares de células de parênquima em diferentes estágios de lignificação. Os calos proliferam a partir de células localizadas na base das estacas na região do câmbio vascular, embora células do córtex e da medula também possam contribuir para a sua formação. Frequentemente, as raízes aparecem através dos calos, levando à crença de que a formação dessas massas irregulares de células é essencial para o enraizamento. A formação de calos e de raízes são processos independentes um do outro, embora ambos envolvam divisão celular. A ocorrência simultânea de ambos é devida à dependência por condições internas e ambientais similares. Em algumas espécies, entretanto, a formação de calos aparentemente é precursora da formação de raízes adventícias. A origem de raízes adventícias a partir de tecidos de calos tem sido associada às espécies que apresentam dificuldade de enraizamento, como em *Pinus radiata*, *Sedum* e *Hedera helix*.

O desenvolvimento de um *anel de esclerênquima* contínuo entre o floema e o córtex, externamente ao ponto de origem das raízes adventícias, o que frequentemente ocorre com a maturidade fisiológica, constitui uma importante barreira anatômica para o enraizamento. Em *Hedera helix* e em *Ficus pumila*, tais anéis estão associados às estacas recalcitrantes, enquanto os tipos de fácil enraizamento foram caracterizados pela descontinuidade ou pela presença de poucas camadas de células de anel de esclerênquima. Tratamentos com auxinas e o aumento da umidade no meio de enraizamento causam considerável expansão celular e proliferação no córtex, floema e câmbio, resultando em quebra na continuidade do anel de esclerênquima. Contudo, mesmo nessas condições, algumas espécies frutíferas de difícil enraizamento não apresentam rizogênese.

Diversas espécies de plantas, incluindo mono- e eudicotiledôneas, podem ser propagadas por estacas de folhas. Embora a origem de novas brotações e de novas raízes em estacas de folhas seja bastante variável, elas geralmente desenvolvem de meristemas primários e secundários, sendo mais comum a partir dos meristemas secundários. Os meristemas primários são grupos de células descendentes diretamente de células embriônicas que nunca cessam sua atividade meristemática. Meristemas secundários são grupos de células que diferenciaram e que foram funcionais em algum tecido diferenciado e, então, sofreram desdiferenciação em novas células ou zonas meristemáticas, resultando na origem de novos órgãos vegetais. Folhas destacadas de *Bryophyllum* têm a capacidade para originar nas suas margens pequenas plantas denominadas “embriões”, que são formadas por um pequeno grupo de células localizadas nas margens das folhas. Em folhas adultas a divisão celular nos embriões foliares cessa, mantendo-os dormentes. Se uma folha é destacada e colocada em um ambiente úmido em contato com um substrato, as raízes jovens rapidamente rompem através da epiderme foliar e tornam-se visíveis em poucos dias. As raízes crescem inclinadas em direção ao solo e, após algumas semanas, diversas plantas novas e independentes são formadas enquanto a folha original morre.

Em estacas de folhas de *Begonia rex*, *Saintpaulia*, *Lilum longiflorum* e *Crassula*, novas plantas podem desenvolver como resultado de ferimentos a partir de meristemas secundários originários de células adultas localizadas na base da lâmina foliar ou do pecíolo. Em lírio, os primórdios de gemas originam nas células de parênquima localizadas no lado superior da escama bulbosa, sendo que o primórdio radicular origina de células de parênquima logo abaixo do primórdio da gema. Em violeta-africana, novas raízes e brotações originam-se *de novo* pela formação de células meristemáticas a partir de células das folhas previamente diferenciadas. As raízes são produzidas endógenamente por células de paredes finas, localizadas entre os feixes vasculares. Os novos brotos originam de células subepidérmicas e do córtex imediatamente abaixo da epiderme, sendo geralmente exógenas na origem. As raízes emergem inicialmente, se ramificam, e continuam a crescer por algumas semanas, antes do desenvolvimento dos novos brotos ocorrer. A iniciação radicular e o desenvolvimento são independentes da brotação e da formação das gemas adventícias. O mesmo processo ocorre para diversas espécies de begônia. Embora a folha de origem forneça nutrientes para as plantas jovens, ela não faz parte da nova planta. Em batata-doce e em *Peperomia*, novas raízes e brotações de estacas de folhas originam de tecidos dos calos que se desenvolvem sobre a superfície cortada pela atividade de meristemas secundários.

O desenvolvimento de brotações adventícias e, em muitos casos, de raízes adventícias, ocorre por regeneração de pedaços de raízes (estacas de raízes). Em algumas espécies, as gemas adventícias formadas rapidamente a partir das raízes de plantas intactas podem dar origem a ramos, produzindo ramos “ladrões”. Em raízes jovens, as gemas podem ter origem endógena a partir do periciclo, próximo ao câmbio vascular. Em raízes velhas, as gemas podem ter origem exógena, com crescimento visível de calos a partir do felogênio ou de tecidos dos raios. Os primórdios das gemas podem desenvolver dos tecidos dos calos produzidos nos ferimentos produzidos nas bases injuriadas das estacas, podendo também ter origem ao acaso a partir do parênquima cortical. A regeneração de novos meristemas

radiculares em estacas de raízes é mais difícil do que a produção de gemas adventícias. Novas raízes podem não ter sempre origem adventícia, podendo desenvolver a partir de iniciais radiculares latentes contidas nas ramificações mais velhas das raízes e presentes nos ápices radiculares. Geralmente, tais raízes ramificadas têm origem em células diferenciadas do periciclo e da endoderme, ou de ambos, adjacentes ao cilindro vascular central. Iniciais radiculares adventícias têm sido observadas originando em regiões do câmbio vascular nas raízes.

A regeneração de novas plantas a partir de estacas de raízes ocorre por diferentes vias, dependendo da espécie. Em algumas espécies, as estacas de raízes produzem primeiro brotações adventícias e somente depois raízes, que se formam, frequentemente, na base das novas brotações, ao invés de se originarem de partes das raízes. Em outras espécies, um sistema radicular bem desenvolvido é formado paralelamente ao desenvolvimento dos primeiros brotos. Estacas de raízes de algumas espécies formam brotações adventícias bastante vigorosas, mas nenhuma raiz é formada e a estaca eventualmente morre. Em outras espécies, acontece o inverso. As estacas de raízes produzem um sistema radicular vigoroso, mas sem formação de parte aérea, resultando também na morte da estaca.

3.2. Bases Fisiológicas da Iniciação de Raízes e de Brotações Adventícias:

Os fitormônios ou (fitorreguladores vegetais) são substâncias orgânicas, sem características de nutrientes, produzidos naturalmente pelas plantas, que em baixas concentrações regulam processos fisiológicos. Normalmente, os fitormônios se movem na planta do sítio de síntese para o sítio de ação. Reguladores de crescimento são substâncias sintéticas, com atividade biológica análoga aos fitormônios e que também atuam em baixas concentrações. Dentre as principais classes de fitormônios e reguladores de crescimento relacionados ao enraizamento e à formação de raízes adventícias, destaque deve ser dado para as auxinas. O ácido indolacético (AIA), sintetizado a partir do triptofano, é a principal auxina natural. O ácido naftaleno

acético (ANA) e, principalmente, o ácido indolbutírico (AIB) apresentam atividade auxínica, sendo bastante utilizadas na indução de raízes adventícias em estacas, apresentando maior eficiência que o AIA. Inúmeros trabalhos demonstraram a importância das auxinas para o início do processo de enraizamento em estacas, sendo essenciais para as primeiras divisões celulares, no início da formação das raízes.

A formação de raízes adventícias é um processo de desenvolvimento que envolve uma sequência de eventos histológicos, onde cada estágio apresenta diferentes requerimentos para substâncias de crescimento. A formação de raízes em estacas de ervilha envolve duas etapas básicas. No estágio de inicialização, quando os meristemas radiculares são formados, uma primeira etapa tem a participação ativa das auxinas. Com duração de cerca de quatro dias, durante os quais a auxina deve ser suprida continuamente, as raízes terão origem ou a partir de gemas terminais ou da ativação pela auxina aplicada. No estágio seguinte, quando a auxina não é ativa, a sua retenção não afeta adversamente a formação das raízes. No estágio final do processo, o ápice radicular cresce através do córtex emergindo na epiderme do ramo. O sistema vascular então desenvolve em um novo primórdio radicular e torna-se conectado aos feixes vasculares adjacentes. Nesse estágio não há resposta à aplicação de auxinas.

Geralmente, uma alta relação auxina:citocinina favorece à formação de raízes adventícias. A relação inversa, por sua vez, favorece à formação de gemas. Espécies com níveis elevados de citocininas apresentam maiores dificuldades de enraizamento do que aquelas com níveis mais baixos. Contudo, para algumas espécies e em baixas concentrações, a aplicação de citocininas favorece ao enraizamento. As citocininas podem atuar como substâncias protetoras contra enraizamento ou, indiretamente, como indutoras de rejuvenescimento, podendo também afetar o transporte de carboidratos para a base das estacas. Estacas de folhas são excelentes materiais para o estudo das relações auxina:citocinina. Citocininas em concentrações extremamente elevadas (13 mg L^{-1}) promovem a formação de gemas e inibem a

formação de raízes em estacas de folhas de *Begonia* sob condições assépticas, enquanto auxinas, em concentrações elevadas, apresentam efeito oposto. Em baixa concentração (2 mg L^{-1}), o AIA promove a formação de gemas, aumentando a influência das citocininas. Também em baixa concentração ($0,8 \text{ mg L}^{-1}$), a cinetina estimula os efeitos do AIA na promoção do enraizamento. Concentrações muito elevadas de citocininas aplicadas às estacas de folhas maximizam a formação de gemas adventícias, embora reduzam a qualidade dos brotos.

Em concentrações muito elevadas (10^{-3} M), as giberelinas inibem a formação de raízes adventícias. Evidências indicam que a inibição é causada por um efeito direto no local, prevenindo as primeiras divisões celulares envolvidas na transformação de tecidos diferenciados dos ramos para a condição meristemática. Giberelinas têm a função reguladora da síntese de proteínas e de ácidos nucléicos podendo afetar o enraizamento pela interferência nesses processos, particularmente na transcrição. A inibição da formação de raízes pelas giberelinas é dependente do estágio de desenvolvimento do enraizamento. Com materiais herbáceos, a inibição é geralmente maior quando a giberelina é aplicada três a quatro dias após a obtenção da estaca. Por outro lado, estacas de *Salix* e de *Ficus* não são adversamente afetadas por giberelinas durante a iniciação radicular, mas após o primórdio ter iniciado, a giberelina causa redução do número de células no primórdio, o que é deletério para a formação de raízes.

Os efeitos do ácido abscísico sobre o enraizamento são contraditórios e dependentes da concentração. Por sua vez, retardantes de crescimento atuam geralmente aumentando a capacidade de enraizamento, o que ocorre, aparentemente, em função de seus efeitos antagônicos sobre a biossíntese ou sobre a ação das giberelinas, que normalmente inibem o enraizamento. Além disso, como o crescimento é reduzido, uma maior quantidade de assimilados torna-se disponível para o enraizamento na base das estacas. Anti-giberelinas sintéticas e inibidores da biossíntese de giberelinas incluem o cloreto de clormequate (CCC), o paclobutrazol (PP333, Bonzi), um triazol denominado PP XE-1019 (relacionado ao PP333) e o ancimidol

(Arest). O ácido triiodo benzóico (TIBA) retarda o crescimento de plantas e inibe o enraizamento em função de seus efeitos sobre o transporte basípeto das auxinas. Retardantes de crescimento que antagonizam a biossíntese das giberelinas e, ou, reduzem o alongamento dos brotos geralmente promovem o enraizamento através de mecanismos de ação ainda não esclarecidos.

O etileno pode aumentar, reduzir ou não apresentar qualquer efeito sobre o enraizamento. Na concentração de 10 mg L^{-1} , a aplicação de etileno induz a formação de raízes em estacas ou em tecidos de folhas, estimulando também o crescimento de raízes latentes e preexistentes. A aplicação de auxinas pode regular a produção de etileno, sugerindo que o etileno induzido pela aplicação de auxina pode causar a iniciação de raízes. A promoção do enraizamento pelo etileno ocorre mais frequentemente em plantas intactas do que em estacas, mais em plantas herbáceas do que em lenhosas e mais facilmente se a planta possuir iniciais radiculares pré-formadas.

Na metade do século XVIII, Duhamel du Monceau sugeriu que a formação de raízes na base das estacas era decorrente do transporte de substâncias da parte aérea para a base das estacas. Sachs, em 1882 postulou a existência de uma substância específica, produzida nas folhas, que movia para a base das estacas e seria responsável pelo enraizamento. Em 1925, van der Lek demonstrou que a presença de gemas era fundamental para o desenvolvimento de raízes, que ocorrem logo abaixo das gemas em estacas de salgueiro, álamo, groselha e uva, fato que indicava que substâncias similares a hormônios eram formadas no início do desenvolvimento das gemas e transportadas, via floema, para a base das estacas, onde estimulavam a formação de raízes. A existência de um fator específico de enraizamento foi demonstrada pela primeira vez por Went, em 1929, quando ele estabeleceu que se extratos de folhas de *Acalypha* fossem aplicados às bases de plantas de *Acalypha* ou de mamão, a formação de raízes podia ser induzida. Bouillene e Went encontraram substâncias estimuladoras de enraizamento em cotilédones, folhas e gemas. Eles denominaram tais substâncias de “rizocalina”.

Nos testes realizados por Went visando a formação de raízes em plantas de ervilha utilizando diferentes substâncias, a presença de pelo menos uma única gema era essencial para o sucesso no enraizamento. Estacas sem gemas não enraizavam mesmo com o tratamento com solução rica em auxinas. Esses resultados indicaram que alguma(s) outra(s) substância(s) além das auxinas são(é) necessária(s) para a formação das raízes. Em 1938, Went postulou que fatores específicos, diferentes das auxinas, sintetizados nas folhas, também eram necessários para o enraizamento. A presença de gemas nas estacas parece ser necessária apenas nos primeiros dias de enraizamento, podendo ser retiradas após o quinto dia, pelo menos em estacas de ervilha. Contudo, em espécies que não apresentam iniciais pré-formadas, a retirada de gemas geralmente causa completa inibição na formação de raízes. Em algumas espécies, se um anel de casca é retirado logo abaixo da gema, a formação de raízes é reduzida, indicando que alguma substância é translocada da gema para a base das estacas através do floema. Tem sido demonstrado que estacas muito lenhosas se coletadas na metade do inverno, quando as gemas estão dormentes, não apresentam estímulo ao enraizamento. Contudo, se as estacas são coletadas no início do outono ou na primavera, quando as gemas estão ativas, elas apresentam forte efeito na promoção do enraizamento. Algumas espécies de clima temperado como maçã e ameixa têm sua capacidade de enraizamento aumentada no final do inverno, o que aparentemente ocorre em função do frio promover a quebra da dormência das gemas, favorecendo a sua brotação e o enraizamento. Para a maior parte das plantas a presença de folhas nas estacas favorece ao enraizamento. Os carboidratos translocados das folhas sem dúvida nenhuma contribuem para a formação das raízes. Folhas e gemas são reconhecidamente os principais órgãos produtores de auxinas. A enxertia de uma porção da folha de uma planta de fácil enraizamento na porção basal de estacas com dificuldade para enraizar aumenta a capacidade de enraizamento da última.

Bouillenne e Bouillenne-Walrand propuseram que a “rizocalina” seria composta por um complexo de três componentes: a) um fator específico, translocado

das folhas, caracterizado como um orto-dihidroxifenol; b) um fator não específico (auxina), que é translocado e encontrado em níveis biológicos bastante reduzidos; c) uma enzima específica, localizada nas células de determinados tecidos como o periciclo, câmbio ou floema que aparentemente, é uma polifenol oxidase. Eles propuseram que o orto-dihidroxifenol reage com a auxina sendo necessária a presença da enzima, dando origem à rizocalina, o que é considerado a primeira etapa na cadeia de reações que leva ao início do enraizamento. Hess isolou vários cofatores de enraizamento para estacas de *Phaseolus aureus* (feijão-mungo) e de *Hedera helix* (hera). Alguns desses cofatores foram identificados, sendo o número 4, um terpenóide oxigenado e o número 3, um ácido isoclorogênico. Em relação ao composto 3, Hess demonstrou que o catecol, um composto fenólico, reage sinergisticamente com o AIA na indução de raízes em feijão-mungo. Como o catecol é rapidamente oxidado para uma quinona e como o feijão-mungo é uma boa fonte de fenolases, parece que a oxidação de um orto-dihidroxifenol é a primeira etapa que leva ao enraizamento, conforme sugerido por Bouillenne e Bouillenne-Walrand.

A ação dos compostos fenólicos na promoção do enraizamento pode ser, pelo menos em parte, decorrente de efeitos protetores dessas substâncias sobre o AIA naturalmente presente nas estacas, o que ocorre por ação enzimática. Em hera, o efeito protetor do catecol foi demonstrado quando estacas foram tratadas com AIA e com ANA, respectivamente. O AIA é naturalmente degradado pelo sistema enzimático, sendo que o catecol apresenta efeito altamente sinérgico. Contudo, quando o ANA é adicionado, este, por não sofrer ação do sistema enzimático natural, não é degradado, dispensando a presença do catecol que, nesse caso, não apresenta efeito sinérgico sobre o enraizamento. Usando técnicas de cultivo *in vitro*, o 1,3,5-trihidroxibenzeno (floroglucinol), uma substância fenólica, atua sinergisticamente ao AIB na promoção de enraizamento em alguns porta-enxertos de maçã, o que não se verifica para outros. Floroglucinol também estimula o enraizamento em diferentes espécies de *Rubus* e de *Prunus*. Jarvis tentou integrar fatores bioquímicos ao desenvolvimento anatômico de raízes adventícias através do estudo dos quatro

estágios de desenvolvimento. Suas premissas consideravam que: - a) uma concentração de auxina elevada seria necessária para a inicialização do enraizamento, sendo inibitória à organização e ao crescimento posterior do primórdio, o que demonstra a importância de um sistema enzimático de quebra do AIA; b) a atividade do sistema enzimático de quebra é controlada por compostos fenólicos (*o*-fenois são inibidores de enzimas de oxidação do AIA), uma vez que a presença de borato, que complexa com *o*-fenois, resulta em inibição nas enzimas de degradação do AIA. A falta de resposta à aplicação externa de auxinas pode ser decorrente da falta de enzimas necessárias à síntese do conjugado de enraizamento auxina-fenol, da falta de ativadores enzimáticos, da presença de enzimas inibidoras ou da separação física de reagentes enzimáticos devido à compartimentação celular.

As plantas podem ser separadas em três classes em relação à iniciação da formação de raízes adventícias:

1. Aquelas em que os tecidos apresentam todas as substâncias naturais, incluindo as auxinas, essenciais para o enraizamento. Essas, quando colocadas em condições adequadas rapidamente apresentam enraizamento.
2. Aquelas em que os cofatores de ocorrência natural estão presentes em grande quantidade, mas a auxina é limitante. Nessas plantas a aplicação de auxinas induz rapidamente o enraizamento.
3. Aquelas em que falta(m) a atividade de um ou mais dos cofatores internos, embora a auxina natural possa ou não estar presente em abundância. Aplicação externa de auxinas apresenta pouco ou nenhum efeito.

3.3. Fatores que Afetam a Regeneração de Plantas a Partir de Estacas:

A manutenção da hidratação da estaca é fundamental para o sucesso do enraizamento. Além disso, a coleta de estacas provenientes de plantas submetidas ao estresse hídrico geralmente leva a dificuldades no enraizamento, o que pode estar

relacionado ao aumento dos níveis endógenos de etileno e do ácido abscísico. A temperatura também influencia o processo, sendo desejável o seu aumento na base da estaca e, em alguns casos, a sua redução na parte aérea, evitando a brotação precoce da estaca antes do enraizamento. A luz geralmente acelera o processo de enraizamento, uma vez que possibilita a manutenção da produção de carboidratos através da fotossíntese, principalmente em estacas com folhas. Por outro lado, o estiolamento das plantas favorece ao enraizamento subsequente, o que aparentemente é decorrente do aumento da sensibilidade das estacas às auxinas. O estiolamento tem sido associado a alterações em substâncias fenólicas que podem atuar como cofatores de enraizamento ou como inibidores das enzimas de degradação do AIA. O sombreamento também favorece o enraizamento por causar alterações anatômicas nos tecidos da estaca aumentando o potencial de iniciação dos primórdios radiculares, o que ocorre devido ao aumento do número de células indiferenciadas no parênquima e à ausência de barreiras mecânicas. A redução na produção de ligninas em células de suporte estrutural, como fibras e esclereídeos, pode alterar a disponibilidade de metabólitos fenólicos que, por sua vez, podem contribuir para o aumento da iniciação de raízes. A redução do suprimento de nitrogênio também parece favorecer o enraizamento, o que aparentemente é um reflexo do balanço entre carboidratos e esse macronutriente. O zinco é outro nutriente que parece favorecer o enraizamento. Sua ação está relacionada ao triptofano, precursor do AIA. A aplicação desse aminoácido aumenta o enraizamento em plantas de videira. O manganês, em excesso, tem efeito prejudicial sobre o enraizamento. Esse micronutriente pode aumentar a atividade das enzimas de oxidação do AIA.

O anelamento da base das estacas, processo que bloqueia o transporte de carboidratos, hormônios e de outros possíveis fatores de enraizamento, geralmente resulta em aumento na capacidade de enraizamento. O anelamento pode ser feito ainda com a estaca mantida na planta doadora. O rejuvenecimento de plantas doadoras também favorece o sucesso no enraizamento. As partes basais das plantas

são mais juvenis que as partes mais distais (cone de juvenilidade). A decaptação das plantas é uma técnica de rejuvenescimento muito utilizada, sendo as brotações posteriormente formadas ainda juvenis, mesmo que a planta já tenha frutificado. A redução no potencial de enraizamento com o envelhecimento pode ser associada à redução nos níveis de compostos fenólicos.

3.4. Adição de Reguladores de Crescimento:

Visando a indução de enraizamento em estacas, diferentes substâncias químicas ou naturais foram testadas até a descoberta dos reguladores de enraizamento. Zimmerman mostrou, em 1933, que certos gases insaturados tais como o etileno, o monóxido de carbono e o acetileno estimulavam a iniciação de raízes adventícias assim como o desenvolvimento de iniciais radiculares latentes. Estacas de diversas plantas herbáceas respondem a esses gases com o aumento do enraizamento. A descoberta de que auxinas naturais, como o ácido indol-acético (AIA) e o ácido indolbutírico (AIB), e sintéticas, como o ácido naftaleno-acético (ANA) estimulam a produção de raízes em estacas de ramos e de folhas foi o maior avanço na história da propagação. Alguns compostos fenóxi apresentam promoção no enraizamento quando em baixas concentrações. O ácido 2,4-dicloro-fenóxi-acético (2,4-D), um herbicida seletivo, apresenta potente ação estimuladora de enraizamento quando aplicado em baixas concentrações. Contudo, essa substância apresenta a desvantagem de inibir o desenvolvimento das brotações e ser muito tóxica para as plantas em altas concentrações. A mistura de mais de uma substância estimuladora de enraizamento é, às vezes, mais efetiva que o fornecimento de uma delas isoladamente. A mistura de partes iguais de IBA e de ANA pode induzir maior capacidade de enraizamento e um maior número de raízes por estaca.

Uma questão frequentemente levantada é manutenção da viabilidade de soluções auxínicas preparadas. Soluções não esterilizadas de AIA são rapidamente destruídas por ação bacteriana. Em solução estéril, esse material permanece ativo

por vários meses. *Acetobacter* destrói o AIA, embora não apresente efeito sobre o IBA. Soluções não contaminadas de ANA e 2,4-D mantêm sua atividade por alguns anos. Em solução, o AIA é sensível à luz, sendo rapidamente inativado. Soluções concentradas de IBA ($24,6 \text{ mM} \cong 5000 \text{ mg L}^{-1}$) em isopropanol são bastante estáveis, podendo ser armazenadas por até seis meses em temperatura ambiente mesmo em recipientes de vidro transparente sob condições de irradiância de até $6 \mu\text{moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sem perda de atividade. ANA e 2,4-D mostram-se totalmente estáveis na presença de luz. O sistema enzimático natural de oxidação do AIA não apresenta efeitos sobre o IBA e o ANA. Embora a aplicação de auxinas artificiais possa ser realizada nos ápices das estacas (as auxinas sintéticas também apresentam transporte basípeto polar conforme o AIA natural), a aplicação dessas substâncias na base das estacas apresenta maior eficiência. Estacas com ou sem folhas absorvem a mesma quantidade de auxinas, indicando que a corrente transpiratória não apresenta efeitos sobre o enraizamento.

Durante e imediatamente após o enraizamento, as estacas estão sujeitas ao ataque por vários microrganismos. Tratamentos com fungicidas fornecem proteção e resultam numa maior taxa de sobrevivência e na produção de raízes de melhor qualidade. O Captan é o fungicida mais utilizado, podendo ser aplicado em conjunto com as auxinas. Esse fungicida é especificamente desejável para o tratamento de estacas, uma vez que ele não sofre decomposição rápida, apresentando longo efeito residual. O aumento da taxa de enraizamento em estacas tratadas com fungicidas é mais decorrente do controle das doenças do que de algum estímulo direto ao enraizamento, com raras exceções. Por outro lado, a redução no enraizamento pode ser decorrente da fitoxidez do agente antibiótico.

A realização de ferimentos na base das estacas é benéfica para o enraizamento de algumas espécies como, por exemplo, de estacas de azalea (*Rhododendrum*) e juniperos, além de outras espécies lenhosas. Posteriormente ao ferimento, a produção de calos e o desenvolvimento radicular são frequentemente facilitados ao longo das margens feridas ou danificadas. Tecidos feridos são estimulados à divisão

celular e à produção de primórdios radiculares. Aparentemente, o acúmulo natural de auxinas e de carboidratos na área ferida e o aumento na taxa de respiração na base das estacas, cria uma nova área de dreno, favorecendo ao enraizamento. Além disso, o ferimento estimula a produção de etileno, fitormônio também envolvido no estímulo à formação de raízes adventícias. O ferimento favorece, ainda, à absorção de água e de reguladores de crescimento. Além disso, os tecidos de algumas espécies desenvolvem um anel de esclerênquima formado por células de fibras localizadas externamente ao córtex nas regiões de origem das raízes adventícias.

3.5. Técnicas de Propagação por Estacas:

As estacas são o mais importante meio de propagação de plantas ornamentais, de espécies florestais e frutíferas e de outras plantas de interesse econômico. Este método apresenta diversas vantagens, podendo originar inúmeras plantas a partir de um limitado número inicial, sendo relativamente barato, rápido e simples, não requerendo técnicas especiais. Grande uniformidade é obtida, sendo que as plantas produzidas não apresentam variações genéticas. Entretanto, nem sempre é possível produzir plantas diretamente a partir de estacas, podendo ser vantajoso ou necessário o uso de porta-enxertos resistentes a alguma condição adversa ou a algum organismo fitopatogênico proveniente do solo. Em alguns casos, a utilização de porta-enxertos pode ser necessária para produzir ação de redução no porte ou, de modo contrário, induzir o envigorecimento da planta obtida. A propagação a partir de estacas, de modo similar a outros métodos de propagação vegetativa, pode potencialmente aumentar a carga de doenças, principalmente as virais, disseminar outras doenças e aumentar a sensibilidade às diferentes patologias e pragas, uma vez que as plantas clonadas não apresentam a mesma diversidade genética das plantas obtidas por sementes. A maioria das plantas pode ser propagada vegetativamente por mais de um tipo de estaca. O tipo de estaca escolhido para a propagação depende de características do indivíduo, dos custos e da facilidade do método

selecionado. Uma medida desejável ao propagador é o estabelecimento de bancos de matrizes onde a uniformidade é elevada, contendo indivíduos com taxonomia estabelecida ("tipos verdadeiros"), onde os mesmos devem ser livres de qualquer contaminação por patógenos e mantidos com nutrição adequada.

As estacas de ramos podem ser divididas em quatro tipos: lenhosas, semi-lenhosas, semi-herbáceas e herbáceas. As estacas *lenhosas* são aquelas obtidas a partir de indivíduos adultos, apresentando madeira dura. Estas são coletadas após a abscisão foliar do outono ter ocorrido e antes de novas brotações terem emergido na primavera. O uso de estacas lenhosas é um método barato e de fácil execução. As estacas são resistentes e podem ser transportadas a distâncias relativamente longas, não sendo rapidamente perecíveis. As estacas lenhosas são preparadas durante o inverno, quando as gemas estão dormentes. Estacas lenhosas são muito utilizadas por propagadores que trabalham com espécies decíduas e para algumas espécies ornamentais. Algumas poucas espécies frutíferas são propagadas por estacas lenhosas como, por exemplo, o figo, a uva, a oliveira e outras 'prunóideas'. Algumas árvores como salgueiro e álamo também são propagadas por estacas lenhosas. As estacas lenhosas devem apresentar grandes quantidades de reservas. Porções apicais dos brotos, que são geralmente mais fracas, são descartadas. Geralmente, as porções central e basal dão origem às melhores estacas, com exceções. As estacas lenhosas variam de 10 a 76 cm de comprimento, dependendo da espécie. A presença de pelo menos duas gemas é fundamental, sendo uma na base das estacas. A retirada de gemas da base das estacas de algumas espécies como, por exemplo, de *Rosa multiflora*, pode ser necessária para evitar brotações nesta região. O diâmetro das estacas lenhosas varia de 0,6 a 2,5 cm, podendo, em alguns casos, apresentar até 5 cm. Três diferentes tipos de estacas lenhosas podem ser produzidos. As estacas *francas*, que não incluem qualquer tecido lenhoso velho, sendo as mais comuns e as que apresentam melhores resultados. Nas estacas *talão* (esporão), uma pequena porção do tecido lenhoso velho é mantida. Já nas estacas em *cruzeta* (martelo), uma seção curta completa do tecido lenhoso velho é mantida. Quando existem

dificuldades na identificação dos ápices e das bases morfológicas das estacas, é recomendada a realização de cortes inclinados na porção apical das mesmas para evitar a inversão da polaridade. Em regiões frias, as estacas obtidas no inverno são colocadas em leitos de areia na posição invertida até que a temperatura aumente e estas sejam definitivamente plantadas na posição correta. Esta técnica visa armazenar as estacas até que a temperatura aumente, embora possa acelerar a formação de calos e a iniciação de raízes na base das estacas, além de retardar o desenvolvimento das gemas. Uma técnica alternativa para estacas de difícil enraizamento é o tratamento das mesmas com a aplicação de IBA na faixa de 2500 a 5000 mg L⁻¹. As estacas são colocadas na posição correta, mas, ao contrário de outras técnicas, as gemas são expostas a baixas temperaturas, evitando a brotação. Por sua vez, as bases das estacas são submetidas a temperaturas mais elevadas (18 a 21 °C). O material é mantido nessas condições durante quatro semanas e, posteriormente, transplantado antes das gemas emergirem. Este método foi desenvolvido pela Estação de Pesquisas de East Malling, na Inglaterra.

Estacas *semi-lenhosas* são preparadas a partir de espécies lenhosas sempre-verdes (não caducifólias). Diversas espécies ornamentais como camélia, azaléia e azevinho são propagadas através desse tipo de estaca. As estacas são dos tipos talão ou cruzeta, obtidas de porções com um ano. Geralmente é aplicado o IBA à 1000 mg L⁻¹ (em estacas com caules mais escuros e lenhosos) ou, então, à 500-700 mg L⁻¹ (para estacas com caules lenhosos esverdeados). As estacas apresentam altura de 7,5 a 15 cm, mantendo-se geralmente as folhas dos ápices. Se as folhas forem muito grandes, estas são cortadas ao meio. Estacas basais podem ser utilizadas em alguns casos. O meio de enraizamento ideal para estas estacas inclui a adição de uma mistura de vermiculita e perlita na proporção de 1:1 (v/v).

Estacas *semi-herbáceas* são obtidas de tecidos macios e suculentos crescidos na primavera, sendo oriundos de espécies decíduas ou sempre-verdes. Diversas espécies ornamentais são propagadas dessa maneira, como por exemplo, magnólia, forsítia e espiréia. Estacas semi-herbáceas são de enraizamento fácil e rápido,

embora requeiram maiores cuidados e equipamentos. Esse tipo de estaca sempre é produzido com folhas, o que aumenta os cuidados necessários contra a dessecação. As estacas desse tipo enraízam em duas, quatro ou cinco semanas. As melhores fontes de material para esse tipo de estaca são aquelas com certo grau de flexibilidade, mas maduras o suficiente para quebrarem quando dobradas intensamente. Ramos muito finos e fracos localizados no interior das copas devem ser evitados. Os ramos laterais das plantas-mãe são as melhores fontes de material propagativo. Estas estacas medem de 7,5 a 12,5 cm de altura, contendo duas ou mais gemas. A base da estaca é feita logo abaixo da gema. As folhas das porções inferiores são removidas, mantendo-se apenas as folhas apicais, com a intensidade de redução da área foliar dependente do tamanho da folha. Todas as flores e gemas florais devem ser removidas.

Estacas *herbáceas* são obtidas de plantas suculentas ou herbáceas como o gerânio, crisântemo, coleus, cravo e outras espécies. Elas medem de 7,5 a 12,5 cm de comprimento, com ou sem folhas na porção superior. Diversas espécies de flores são propagadas por estacas herbáceas. Elas são enraizadas nas mesmas condições das estacas semi-herbáceas, exigindo elevada umidade. Aquecimento basal é benéfico para esse tipo de estaca. Embora substâncias indutoras de enraizamento não sejam requeridas, elas frequentemente aumentam a uniformidade e melhoram o desenvolvimento do sistema radicular. Estacas herbáceas de algumas espécies exsudam uma seiva viscosa, como em gerânio, abacaxi e cactos, sendo recomendado um ressecamento inicial da base antes da inserção no leito de enraizamento, visando reduzir o ataque por microorganismos. O tipo de estaca, basal ou apical, e a posição das gemas nas estacas herbáceas, pode influenciar o crescimento das brotações e a qualidade do sistema radicular.

Estacas de folhas, de lâminas foliares ou de lâmina e pecíolo podem originar novas plantas. A violeta-africana e a begônia são exemplos típicos de plantas obtidas por estacas de folhas, podendo ser propagadas com ou sem pecíolo. Os cuidados com a manutenção da umidade devem ser mantidos nesse tipo de material propagativo.

Em alguns casos torna-se necessária a manutenção das gemas, consistindo em estacas de folhas com gemas, formadas por uma lâmina, o pecíolo, e um pequeno pedaço de caule com a gema axilar mantida. Tais estacas são interessantes em espécies onde a formação de raízes a partir de folhas ocorre, mas não há a produção de brotações adventícias. Como exemplos temos a amora-preta, limão, camélia e azaléia, além de diversas espécies tropicais arbustivas. Esse tipo de material propagativo é muito interessante quando a quantidade de propágulos é pequena. As estacas são inseridas no leito de enraizamento após a aplicação do promotor de enraizamento, com as gemas mantidas na profundidade de 1,3 a 2,5 cm. Manutenção de umidade e o aquecimento do meio de enraizamento são recomendáveis.

Estacas de raízes são mais bem obtidas a partir de pedaços de raízes de plantas matrizes jovens no final do inverno ou no início da primavera, época em que as raízes encontram-se bem supridas de substâncias nutritivas antes do crescimento iniciar. Em estacas de raízes a manutenção da polaridade também é essencial. Para se evitar a inversão da estaca o terminal proximal (próximo ao colo) deve ser marcado de modo diferenciado do terminal distal (mais próximo à coifa). O terminal proximal deverá sempre ser colocado para cima. Para muitas espécies o plantio horizontal a 2,5 ou 5 cm de profundidade é adequado, evitando a inversão da polaridade. Plantas ornamentais variegadas propagadas por estacas de raízes perdem a variegação. Estacas de raízes muito delicadas devem ter de 2,5 a 5 cm de comprimento e serem plantadas horizontalmente, cobertas com 1 a 2 cm de substrato. Estacas de raízes mais fortes devem ser plantadas em tamanhos de 5 a 7,5 cm de comprimento, deitadas ou verticalmente, observando-se a polaridade. Estacas de raízes maiores apresentam de 5 a 15 cm de comprimento, sendo plantadas de 5 a 7,5 cm de profundidade. Alguns exemplos de espécies propagadas dessa maneira incluem *Aronia*, *Clethra*, *Comptonia*, *Euonymus*, *Spirea* e *Viburnum*.

Visando a obtenção de propágulos, diversos sistemas de podas podem ser realizados nas plantas matrizes. No decepamento modificado as plantas sofrem corte drástico, próximo à base. Contudo, esta não é submetida ao enterramento com solo

como no processo de decepamento tradicional. Esta técnica elimina brotações reprodutivas e é benéfica para *Hydrangea* e *Senecio*. Na poda drástica, as plantas matrizes são reduzidas à metade do seu crescimento anual. Isso evita o crescimento intenso e também elimina os ramos reprodutivos. É utilizada para *Forsythia* e *Weigela*. Na poda moderada, as plantas são cortadas a um terço da metade do crescimento do ano, causando menor intensidade de morte da parte aérea restante que nos dois métodos predecessores. É utilizado para *Viburnum* e azalea. Na poda leve apenas um corte dos ápices é realizado. Em alguns casos o anelamento dos caules aumenta a qualidade das estacas obtidas. Há casos de anelamento onde o tratamento com substâncias indutoras de enraizamento (AIB) é realizado antes da retirada da estaca, com a mesma ainda ligada à planta mãe. Uma vez que o primórdio se torna visível na forma de um pequeno inchaço nos calos, a estaca é removida e enraizada sob nebulização.

O estiolamento é outra técnica utilizada visando o aumento do enraizamento. O sombreamento é uma técnica empregada que produz estiolamento satisfatório, evitando a utilização de tratamentos químicos. Não é necessária a completa escuridão, sendo suficiente a redução em 95 a 98% da intensidade luminosa. A posterior colocação de fitas que impeçam a passagem da luz na base das estacas, na presença ou não de estimuladores de crescimento, acelera e melhora o processo de enraizamento. Nessa condição, o IBA é adicionado na concentração de 8.000 mg L^{-1} , misturado ao talco. Fitas de velcro® facilitam o processo. Após aproximadamente 4 semanas as estacas são removidas e colocadas para enraizar, com ou sem a retirada da região submetida à penumbra. Nesse caso, um segundo tratamento com IBA é realizado, na concentração de 4.000 mg L^{-1} em etanol a 50% (v/v). Em seguida as estacas são enraizadas sob nebulização.

O enraizamento pode ser induzido pela realização de ferimentos na base das estacas. Esta técnica é adequada para diversas espécies tais como junípero, azalea, bordo, magnólia e azevinho. A retirada de folhas basais nas estacas tem sido utilizada como um método de indução de ferimentos. Os ferimentos e anelamentos realizados

na base das estacas podem ser realizados manualmente, com a lâmina de canivetes ou facas ou com lâminas mais afiadas. Estacas maiores podem ser efetivamente feridas pela remoção de finas seções de casca a cerca de 2,5 cm da base, de ambos os lados, expondo o câmbio mas não o lenho. Esta técnica é interessante para magnólia e azalea. Para melhores resultados a estaca é posteriormente tratada com substâncias indutoras de enraizamento. O esmagamento da base das estacas com martelos é uma técnica de ferimento também empregada. A implicação teórica desse processo é praticamente a mesma dos demais, ou seja, facilitar a penetração das substâncias estimuladoras de enraizamento e a saída do primórdio radicular do interior da estaca.

O tratamento das estacas com reguladores de crescimento visa o aumento da percentagem de estacas enraizadas, acelerar a inicialização das raízes e aumentar o número e a qualidade das raízes produzidas, aumentando a uniformidade global. Os principais estimuladores de enraizamento pertencem à classe das auxinas, com destaque para o IBA e para o ANA, embora outras substâncias também sejam utilizadas. O IBA é, na maioria dos casos, o melhor material, o que se explica pela sua baixa toxicidade em uma ampla faixa de concentrações. Entretanto, mesmo o IBA pode ser tóxico para estacas herbáceas de algumas espécies. O potássio (K), juntamente com formulações salinas, tornam o IBA e o ANA solúveis em água. Por outro lado, nas formulações ácidas, estas auxinas necessitam ser dissolvidas em álcool (isopropanol, etanol, metanol), acetona ou dimetil sulfóxido (DMSO). Para espécies lenhosas, as formas aril-ésteres do AIA e do AIB e a forma aril-amida do AIB, são mais efetivas na promoção do enraizamento que a formulação ácida.

Os métodos de aplicação das auxinas sintéticas variam conforme a fonte utilizada. Preparações comerciais em pó são obtidas de diferentes empresas. Estas preparações são aplicadas por mistura com outro pó inerte, como o talco, ou, então, na via líquida. A mistura com talco tem sido pouco utilizada atualmente, uma vez que em função da dificuldade na homogeneização do sistema pode causar desuniformidade de enraizamento e toxicidade nas estacas. O tempo de tratamento

varia nos métodos de imersão em solução líquida. Quando soluções diluídas são utilizadas, as estacas são deixadas por mais tempo em contato com a solução, geralmente por 24 h, sendo imediatamente transferidas para o meio de enraizamento. A concentração de IBA utilizada varia de 20 a 200 mg L⁻¹. Esta técnica é mais lenta e não muito popular. O método de imersão rápida é o mais empregado. Pelo método, as estacas são rapidamente mergulhadas em soluções concentradas de AIB, na faixa de 500 a 10.000 mg L⁻¹, diluídas em etanol a 50%. Apenas a base (0,5 a 1,0 cm) é mergulhada na solução por cerca de 3 a 5 segundos. As estacas são, então, imediatamente inseridas no meio de enraizamento. As estacas podem ser mergulhadas em feixes, o que aumenta o rendimento. Quando se utilizam estacas lenhosas, a profundidade de mergulho da estaca pode ser de 2,5 cm ou mais.

Posteriormente ao tratamento com as substâncias de enraizamento, as estacas devem ser imediatamente plantadas nos substratos de enraizamento, sendo mantidas em ambiente com controle de luminosidade, umidade relativa e temperatura. Caso seja possível, a umidade relativa do ar deve ser elevada, com temperatura da parte aérea ligeiramente mais baixa que a do leito ou do substrato de enraizamento. Para isso as casas de vegetação são o principal equipamento utilizado. Após manutenção adequada nessa condição, as plantas devem ser submetidas a um período de “endurecimento” antes da transferência para o campo. Esse processo consiste na redução gradativa da umidade relativa do ar, fazendo com que a nova planta vá, lentamente, se adaptando a condição de estresse hídrico. Essa condição induz aumento no tamanho do sistema radicular e a formação de raízes secundárias, facilitando a absorção de água e de nutrientes e, conseqüentemente, o pegamento pós-viveiro.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

3.6. Aspectos Teóricos da Enxertia e da Borbulhia

As origens da enxertia podem ser rastreadas desde os tempos mais remotos. Existem evidências de que a arte da enxertia era conhecida pelos Chineses há pelo

menos 1000 anos antes de Cristo. Aristóteles (384 a 322 A.C.) discutiu a enxertia em seus manuscritos com considerável entendimento. Durante o Império Romano a enxertia era muito popular e diferentes métodos foram descritos na época. Paulo, o apóstolo, comentou sobre a enxertia entre uma “boa” oliveira e outra “selvagem” (Romanos 11:17-24). O período da renascença (1350 a 1600 D.C.) experimentou uma renovação no interesse pelas práticas de enxertia. No século XVI, as enxertias de fenda e de encostia foram amplamente utilizadas na Inglaterra, sendo necessária para o sucesso da técnica a união de camadas do câmbio, embora, na época, a natureza desse tecido ainda não tivesse sido entendida ou apreciada. Os propagadores das épocas mais antigas tiveram muitos problemas em função da inexistência de ceras de qualidade (mastiques) para enxertia. Misturas de argila e esterco eram utilizadas para cobrir a região de união dos enxertos.

No início do século XVIII, Stephen Hales, no seu estudo relacionado à “circulação da seiva” nas plantas, enxertou uma árvore (por encostia) a três árvores da mesma espécie. Nesse caso, Hales relatou que a árvore central se mantinha viva mesmo se fosse separada de seu sistema radicular. Thouin, em 1821, descreveu 119 métodos de enxertia, discutindo as mudanças no hábito de crescimento das plantas como resultado da técnica. Vöchting, no final do século XIX, em continuação aos trabalhos de Duhamel, estudou a anatomia da união dos enxertos. Bailey, no *Livro do Viveirista (The Nursery Book)*, publicado em 1891, descreveu e ilustrou os métodos de enxertia e de borbulhia comumente usados nos estados Unidos e na Europa. Os métodos atualmente empregados diferem muito pouco dos descritos por Bailey.

A *enxertia* consiste na arte de conectar dois ou mais pedaços de tecidos vivos de tal maneira que eles sejam unidos e, subsequentemente, após o crescimento, originam uma planta única. A *borbulhia* é uma técnica similar à enxertia, exceto no tamanho do enxerto, que apresenta dimensão reduzida contendo, geralmente, apenas uma gema. O enxerto (*epibioto*) é uma parte ou um pedaço de tecido que contém diversas gemas dormentes e que quando unido ao porta-enxerto (*hipobioto*), constitui a porção superior que dará origem aos ramos e aos galhos. Esse material

deve ser obtido de uma cultivar desejável e livre de patógenos. O porta-enxerto é a porção inferior à enxertia, sendo responsável pela formação do sistema radicular da nova planta. O *inter-enxerto* (*interbioto*) corresponde a um pedaço de ramo que é inserido entre dois enxertos. Esse material é utilizado por razões diversas, como para evitar incompatibilidades entre enxerto e porta-enxerto, para fazer uso de um tronco resistente ao frio ou para retirar vantagens com o controle do crescimento.

O câmbio vascular é uma fina camada de células localizadas entre a casca (floema) e o lenho (xilema). Essas células são meristemáticas. Para o sucesso da união da enxertia é essencial que o câmbio do enxerto seja colocado rigorosamente em contato com o câmbio do porta-enxerto. Os calos, por sua vez, são massas de células de parênquima que desenvolvem nos tecidos e próximos aos tecidos vegetais danificados. Eles ocorrem na junção da união da enxertia, dando origem a células vivas, tanto do enxerto quanto do porta-enxerto. A produção e a interligação dessas células de parênquima (ou calos) constitui uma importante etapa no processo de cicatrização e no sucesso da enxertia.

Diversas razões justificam a utilização de enxertias e borbulhias. Alguns grupos de plantas não podem ser comercialmente propagados por estacas, uma vez que elas não conseguem enraizar ou apresentam baixos percentuais de enraizamento. Além disso, as gemas e os enxertos normalmente são obtidos de plantas na fase adulta, evitando os efeitos da juvenilidade e atrasos na frutificação. Diversas espécies de plantas de interesse econômico exigem enxertias com materiais específicos para originar plantas adequadas. Para diversas espécies de plantas existem porta-enxertos tolerantes a condições desfavoráveis de solo tais como alagamento e presença de metais pesados ou, então, resistentes às doenças e pragas de origem edáficas. Além disso, alguns porta-enxertos podem “transformar” plantas com elevado vigor em plantas de menor porte, facilitando os tratos culturais. A enxertia-dupla se justifica por diversas razões. O inter-enxerto (*interbioto*) evita certas incompatibilidades, podendo apresentar resistência a doenças ou ao frio, características não apresentadas, em alguns casos, nem pelo enxerto e nem pelo porta enxerto.

A substituição ou a renovação de uma cultivar implantada em uma área pode ser alcançada pela substituição das suas copas. Pomares velhos ou não produtivos podem ser substituídos ou renovados por novas cultivares. Uma possibilidade interessante é a formação de copas de diferentes espécies através de enxertias múltiplas. Em uma árvore de citros é possível enxertar laranja, limão, pomelo, mandarins e limas. Em plantas de pessegueiro existe a possibilidade de se enxertar ameixa, amêndoa, damasco e nectarina. Como algumas espécies apresentam maior vigor, torna-se necessária a realização de podas de condução para se evitar que uma espécie se torne dominante. A reposição de partes danificadas das árvores causadas por danos mecânicos ou por agentes fitopatogênicos ou por pragas em geral, também pode ser obtida por encostia de copas. Com a utilização de enxertia de ponte (encostia) uma porção danificada pode ser reparada. Outra vantagem da enxertia é a redução da juvenilidade, aumentando a rapidez do processo reprodutivo. Dessa forma, espécies que levam vários anos para florescer podem entrar em produção em um ou dois anos.

Ocasionalmente, casos de enxertia natural podem ocorrer em ramos que se tocam, sendo o movimento de “vai e vêm” necessários para o início da junção. Plantas de hera Inglesa (*Hedera helix*) formam tais enxertos. Enxertos naturais são mais comuns entre as raízes e os ramos de uma mesma espécie. Enxertias de raízes entre espécies diferentes são raras. A anatomia da enxertia natural em raízes aéreas tem sido estudada. O contato inicial é estabelecido pela formação e fusão de pêlos epidérmicos. Tais enxertias, como as demais, possibilitam a transmissão de agentes fitopatogênicos como os vírus, os fungos, as bactérias e os micoplasmas.

A união entre os tecidos na região de enxertia exige que o câmbio vascular de ambos os tecidos se tornem alinhados. Seções frescas dos tecidos do enxerto mantêm a capacidade meristemática e quando são colocadas em contato com um tecido similar do porta-enxerto podem sofrer atividade cambial. A manutenção de condições adequadas de temperatura e umidade nas células da região de contato e em células vizinhas é fundamental. A resposta de cicatrização ao ferimento ocorre

em seguida à união dos tecidos. Nesse estágio, ocorre a formação de material necrótico a partir do conteúdo das células e das paredes celulares que foram lesados, tanto no enxerto quanto no porta-enxerto. Na etapa seguinte, um calo de conexão é formado a partir de camadas de células externas não danificadas na região do câmbio, tanto do enxerto quanto do porta-enxerto, originando células de parênquima que prontamente interligam e conectam os tecidos, fechando os espaços entre o enxerto e o porta-enxerto. O tecido formado corresponde aos calos. Na etapa seguinte o câmbio é formado. Certas células dos calos recentemente formado paralelamente às camadas intactas do câmbio do enxerto e do porta-enxerto diferenciam em novas células cambiais. Finalmente, ocorre a formação dos tecidos vasculares, onde novas células cambiais produzem tecidos vasculares, com o xilema para o lado de dentro e o floema para o lado de fora, estabelecendo-se uma conexão vascular secundária entre o enxerto e o porta-enxerto, condição básica para o sucesso da união da enxertia.

A cicatrização de uma união de enxertia é considerada uma cicatrização de um ferimento. Essa resposta à injúria deverá ocorrer, por exemplo, se cortarmos longitudinalmente um pedaço de galho, dividindo-o ao meio. O galho poderá cicatrizar rapidamente se os dois lados forem rapidamente unidos e mantidos em contato. Novas células de parênquima serão produzidas pela proliferação abundante de células da região do câmbio de ambos os lados, formando os tecidos dos calos. Algumas das células de parênquima produzidas diferenciam em células do câmbio, que subsequentemente, produzem xilema e floema. Se entre os dois lados da separação longitudinal de um ramo for introduzido um tecido de outra planta contendo uma quantidade suficiente de células da sua região cambial e se esse tecido for mantido em contato com ambos os lados dos tecidos da planta seccionada, a proliferação de células de parênquima de todas as áreas cambiais poderá resultar em uma rápida e completa cicatrização. A união da enxertia é essencialmente uma cicatrização de um ferimento, com um tecido estranho sendo incorporado no local do ferimento. Esse tecido adicional, o enxerto, não terá sucesso de crescimento se a

conexão vascular não for restabelecida, possibilitando a obtenção de água e de sais minerais para o enxerto e de assimilados da fotossíntese para o porta-enxerto. No local da enxertia não há fusão de células (fusão de protoplastos), o que poderia resultar em células híbridas. De modo contrário, as células produzidas no enxerto e no porta-enxerto mantêm sua identidade genética.

Como durante o processo de cicatrização da enxertia as células de parênquima produzidas apresentam paredes celulares muito finas, estas rapidamente podem sofrer dessecação em ambientes quentes e secos. Portanto, a enxertia deve ser realizada em ambientes com temperatura mais amenas e com umidade relativa do ar mais elevada. A rápida proteção da região de enxertia com fitas ou mastiques também evita ou reduz as contaminações por organismos fitopatogênicos. O parelhamento de tecidos do câmbio é fundamental para o sucesso da enxertia para a maioria das plantas. Em monocotiledôneas, entretanto, a presença de camadas do câmbio não é necessariamente requerida. Durante a cicatrização, as células mortas de cada uma das superfícies (pelo menos uma camada de células morre) sofrem necrose. Tais células desaparecem ou ficam empacotadas entre as células de parênquima formadas subseqüentemente. Abaixo das células mortas, as células vivas mostram aumento da atividade citoplasmática, com pronunciado acúmulo de dictiossomos (parte do complexo de Golgi) ao longo da interface de enxertia, promovendo a interligação das células de parênquima entre o enxerto e o porta-enxerto. Os dictiossomos aparentemente secretam materiais nos espaços de parede celular entre os componentes do enxerto através da liberação de vesículas que migram até a membrana plasmática, resultando em uma adesão rápida entre as células de parênquima e a interface de enxertia. A partir dessas células vivas, novas células de parênquima (calos) proliferam durante um a seis dias, tanto no enxerto quanto no porta-enxerto. Essas células são provenientes de tecidos de parênquima dos raios do floema e de partes imaturas do xilema. As camadas do câmbio previamente existente apresentam pouca participação no início do desenvolvimento do calos. Essas células de parênquima contendo tecidos de calos esponjosos

penetram na fina camada necrótica com dois ou três dias e rapidamente preenchem os espaços entre o enxerto e o porta-enxerto, fornecendo algum suporte mecânico e possibilitando hidratação e transferência de nutrientes entre as seções. Com o tempo, uma camada marrom se estabelece entre os calos formados, sendo mais ou menos contínua e constituída por células mortas e amassadas. Estas células são gradualmente reabsorvidas e desaparecem com o tempo. Tecidos vasculares pré-existentes (traqueídeos e vasos) são selados pela deposição de gomas e resinas. A formação de novos tecidos vasculares possibilita a continuidade cambial. O tipo de célula formada pelo câmbio é influenciado pelas células do câmbio adjacente ao enxerto. Por exemplo, as células dos raios do xilema são formadas onde o câmbio está em contato com os raios do xilema do enxerto e os elementos do xilema onde eles estão em contato com elementos do xilema. Folhas desenvolvem no enxerto mas não no porta-enxerto. Os novos tecidos do xilema originam da atividade de tecidos do enxerto e não do porta-enxerto pré-existente. Isso foi comprovado pela enxertia de anéis de casca de uma espécie de maçã que possui tecidos de xilema púrpura em uma espécie com xilema branco. O xilema subsequentemente formado após a enxertia foi inteiramente púrpura. A completa conexão dos tecidos de condução de xilema e floema entre enxerto e porta-enxerto deve ocorrer antes que novas folhas sejam originadas a partir das gemas do enxerto. Em alguns casos, a formação dos novos tecidos de condução pode ter origem pela diferenciação de células dos próprios calos. Uma camada de câmbio forma-se subsequentemente entre os dois elementos vasculares. A indução de tecidos vasculares em calos pode ser ativada pelo controle da concentração de açúcares e de reguladores de crescimento. A adição de sacarose (2,5 a 3,5%) + ANA (0,5 mg L⁻¹) ou de AIA promove a diferenciação de xilema e floema nos calos, com o desenvolvimento de câmbio entre eles. Entretanto, a cicatrização em processos de enxertia varia em alguns detalhes dependendo do tipo de processo utilizado.

3.6.1. Fatores que Influenciam a Cicatrização na Região de União da Enxertia:

Um dos sintomas da incompatibilidade na enxertia entre plantas pouco relacionadas é a completa falta ou a baixa percentagem de sucesso na união de enxertos. Enxertias entre plantas incompatíveis podem ter uma união inicial satisfatória e posteriormente falhar. Todavia, algumas plantas mesmo sem apresentar incompatibilidade, têm mais dificuldades para apresentar sucesso em enxertias. Uma vez que um dos requerimentos para o sucesso na enxertia está relacionado à produção de calos próximo às camadas do câmbio, a enxertia, de modo geral, é confinada às eudicotiledôneas, envolvendo tanto as angiospermas quanto as gimnospermas. Ambas possuem uma camada de câmbio vascular contínua entre o xilema e o floema. Nas monocotiledôneas, que não possuem câmbio vascular, a enxertia é mais difícil e apresenta baixa percentagem de pegamento. Mesmo assim, pela utilização das propriedades meristemáticas dos meristemas intercalares, sucessos na enxertia têm sido obtidos para diversas espécies de gramíneas assim como para outras monocotiledôneas.

A enxertia pode ser realizada entre diferentes espécies de um mesmo gênero, podendo, em alguns casos, ser realizada entre espécies de diferentes famílias. Exemplos de enxertia entre espécies de *Citrus* são muito comuns. Diferentes espécies de *Prunus* podem ser enxertadas em porta-enxertos de pessegueiro (*Prunus persica*), como exemplo a amêndoa (*Prunus amygdalus*), damasco (*Prunus armenica*), ameixa Européia (*Prunus domestica*) e ameixa Japonesa (*Prunus salicina*). Contudo, as enxertias interespecíficas recíprocas nem sempre apresentam sucesso. Enxertias entre diferentes gêneros são mais complicadas, mas existem relatos de sucessos como no caso da laranja trifoliata (*Poncirus trifoliata*), usada comercialmente como porta-enxerto redutor de porte para laranja (*Citrus sinensis*). O marmeleiro (*Cydonia oblonga*) é utilizado como porta-enxerto anão para certos tipos de pessegueiro (*Pyrus comunis*). A combinação inversa não é possível. Sucessos na enxertia entre indivíduos de diferentes famílias são raros. Contudo, enxertias com conexão vascular foram

relatadas entre trevo-doce (*Melilotus alba* - Leguminosae) como porta-enxerto de girassol (*Helianthus annuus* – Compositae).

A habilidade de duas diferentes espécies de plantas serem enxertadas com sucesso e desenvolverem satisfatoriamente em uma planta composta define o termo *compatibilidade*. O oposto representa a *incompatibilidade*. Algumas espécies aparentemente compatíveis, com o passar do tempo mostram sintomas da incompatibilidade. Alguns sintomas da incompatibilidade podem ser facilmente observados. A má-formação na união de enxertia, resultante da incompatibilidade, pode ser correlacionada com certos sintomas externos. Além da morte do enxerto ou de partes do tecido enxertado em um período de tempo muito curto, principal sinal da incompatibilidade, diferenças muito grandes na taxa de vigor entre enxerto e porta-enxerto também são bons indicativos. A incompatibilidade é claramente indicada pelas quebras que ocorrem em árvores na região de união de enxertia após alguns anos do processo. A quebra geralmente é clara e lisa, podendo se dar até mesmo um ou dois anos após a união entre o enxerto e o porta-enxerto.

Existem três tipos de incompatibilidade: localizada, translocada e induzida por vírus. Na incompatibilidade *localizada* o processo está relacionado com o contato entre enxerto e porta-enxerto. A separação dos componentes pela inserção de um inter-enxerto mutuamente compatível resolve o problema. Nos casos de incompatibilidade *localizada*, a união é mecanicamente fraca, a conexão com câmbio e tecidos vasculares é interrompida, embora, em alguns casos, possa ocorrer união forte. Os sintomas externos desenvolvem-se lentamente, sendo resultado do grau de distúrbio anatômico no local de união de enxertia. Na incompatibilidade *translocada* o problema não é contornado pela inserção de um inter-enxerto mutuamente compatível. Esse tipo de incompatibilidade envolve degeneração do floema e pode ser reconhecido pelo desenvolvimento de uma linha marrom e necrótica na casca. Com a restrição no fluxo de assimilados ocorre um engrossamento na porção superior ao enxerto. Na incompatibilidade *causada por vírus*, a união da enxertia falha devido à presença desses patógenos. Em alguns casos, essa incompatibilidade

pode ser inicialmente atribuída unicamente aos materiais vegetais utilizados. Contudo, somente a posterior, a presença de vírus latentes ou de micoplasmas, transmitidos pela enxertia de materiais sensíveis em tolerantes e vice-versa é detectada. Um exemplo importante nesse caso ocorre com os citros, onde a laranja-doce (*Citrus sinensis*) é enxertada em laranja-ácida (*Citrus aurantium*). Estudos relacionados à “tristeza” ou ao “declínio” dos citros no Brasil e na Califórnia mostraram que problemas na incompatibilidade entre esses materiais são decorrentes da presença de vírus. A laranja-doce é tolerante ao vírus, enquanto a laranja-ácida não é, o que causa incompatibilidade quando o vírus encontra-se presente. O “declínio” do pessegueiro, uma doença inicialmente atribuída aos vírus, mas causada por um micoplasma, também impossibilita algumas combinações de enxertia.

Embora a incompatibilidade seja claramente relacionada a diferenças genéticas entre o enxerto e o porta-enxerto, os mecanismos específicos para cada caso não são bem conhecidos. Como um grande número de espécies geneticamente diferentes pode ser combinado por enxertia, diversas diferenças fisiológicas, bioquímicas e anatômicas são reunidas, com a possibilidade de interações favoráveis ou não. Um possível mecanismo para a incompatibilidade são as diferenças fisiológicas e bioquímicas entre o enxerto e o porta-enxerto. Essa hipótese é suportada por estudos envolvendo combinações incompatíveis entre cultivares de pêra enxertadas em porta-enxertos de marmeleiro. As evidências experimentais suportam algumas conclusões. Por exemplo, quando certas cultivares de pêra são enxertadas em porta-enxertos de marmeleiro um glicosídeo cianogênico denominado *prunasina*, normalmente encontrado no marmeleiro, mas não em tecidos do pessegueiro, é translocado do marmeleiro para a pereira através do floema. Os tecidos da pereira “quebram” a prunasina na região do enxerto produzindo, dentre outras substâncias, o ácido hidrocianico. Este “quebra” enzimática é acelerada por temperaturas elevadas. A presença desse ácido resulta na falta de atividade cambial na região da enxertia, com pronunciado distúrbio anatômico entre o xilema e o

floema. Os tecidos do floema são gradualmente destruídos acima da região de enxertia. A condução de água e de nutrientes é seriamente reduzida nesses tecidos de condução. A redução nos níveis de açúcares estende-se até as raízes do marmeleiro levando à decomposição da prunasina, liberando ácido hidrocianico, e à morte de grandes áreas de floema no marmeleiro. A solubilidade em água e o transporte rápido da enzima (que “quebra” o glicosídeo) ocorre em diversas cultivares de pêra, embora elas apresentem diferenças na quantidade dessas enzimas. Isso explica por que certas cultivares de pêra são compatíveis com porta-enxertos de marmeleiro enquanto outras não são. Em espécies de pessegueiro além da prunasina, a *amigdalina* é outro glicosídeo cianogênico que apresenta produtos de “quebra” tóxicos ao metabolismo (cianeto e benzaldeído, respectivamente), levando a problemas de incompatibilidade. A produção de cianeto e benzaldeído pode ser a causa do insucesso na enxertia entre espécies de *Prunus*, uma vez que elas inibem a formação de calos.

Estudos envolvendo microscopia eletrônica mostram que as paredes celulares de enxertos compatíveis em pêra e marmelo concentram lignina na linha de união em níveis mais acentuados que nas células que não pertencem a esses tecidos. Nas combinações incompatíveis, as paredes adjacentes dos dois componentes da enxertia não acumulam lignina, apresentando ligações apenas por fibras de celulose. Esses estudos levaram à conclusão de que o processo de lignificação da parede está envolvido na formação de uma união resistente na enxertia entre pêra-marmelo. Reações que inibem a formação de lignina e o estabelecimento de uma lamela média mútua entre os dois componentes resultam em uniões fracas. Em estudo, ao nível celular, com uma combinação incompatível entre *Sedum telephoides* (Crassulaceae) e *Solanum pennellii* (Solanaceae) foi observado inicialmente uma cicatrização similar a que ocorre em combinações compatíveis (*Sedum* em *Sedum*). Contudo, na combinação incompatível, 48 h após a enxertia, as células da interface de enxertia foram isoladas por uma camada de suberina ao longo da parede celular, sofrendo uma senescência e um colapso letal, originando uma camada necrótica que aumenta

em espessura. Associado à senescência nas células de *Sedum*, há um intenso aumento em uma enzima hidrolítica, a fosfatase ácida. Ao invés da ocorrência de inter-conexão dos calos, formação do câmbio e conexão vascular, uma espessa camada necrótica impede a conexão vascular, o que leva à dessecação do enxerto e a sua morte. De modo interessante, o porta-enxerto de *Solanum* não mostra a resposta de rejeição que o enxerto de *Sedum* apresenta. A utilização de marcadores bioquímicos, como a atividade de enzimas peroxidases provenientes de tecidos do câmbio, pode auxiliar na prevenção às incompatibilidades.

3.7. Técnicas de Enxertia:

Inúmeros são os processos pelos quais se pode praticar a enxertia. Tais processos podem ser agrupados em três categorias distintas: garfagem, borbulhia e encostia.

A *garfagem* caracteriza-se por empregar para operação de enxertia um segmento de caule ou galho (garfo). O tamanho do “*garfo*” é variável, contando normalmente com 2 a 4 gemas. Conforme a região, há diferentes nomes para um mesmo tipo de enxertia, com destaque para as modalidades de garfagem em fenda, garfagem em fenda dupla, garfagem em fenda incrustada, garfagem em fenda lateral, garfagem em meia-fenda, garfagem em fenda a cavalo, garfagem a inglês simples, garfagem a inglês complicado.

A garfagem *em fenda* também é denominada garfagem de topo ou de fenda cheia ou, ainda, de fenda completa. Ela consiste em se decepar o porta-enxerto, a certa altura do solo e, com o canivete, fazer uma fenda de 3 a 4 cm no porta-enxerto. A base do enxerto é cortada em forma de cunha, fazendo a junção de tal forma que haja coincidência dos diâmetros, evitando deixar espaços vazios, ou que pelo menos um dos lados seja coincidente. Em seguida deve haver o amarrão com o fitilho. Podem ser colocados dois garfos por porta-enxerto quando este apresenta grande diâmetro (garfagem em *fenda dupla*). A garfagem em *fenda incrustada* é adotada quando se

trata de enxertos sensivelmente mais finos que os porta-enxertos. Ela consiste em decepar o porta-enxerto a certa altura do solo, fazendo uma incrustação na lateral do porta-enxerto de forma triangular. O enxerto é preparado com a extremidade cortada de forma inversa à incrustação do porta-enxerto. As partes são colocadas em contato e amarradas com o fitilho. A garfagem em *fenda lateral*, também denominada garfagem lateral, consiste em remover um segmento do caule do porta-enxerto e do enxerto (5 a 6 cm), permitindo que haja contato entre eles. As partes são colocadas em contato e amarradas com o fitilho. Na garfagem em *meia fenda* o enxerto é cortado em bisel duplo. O porta-enxerto é decepado transversalmente, fazendo-se uma incisão igual à largura do bisel. O enxerto é introduzido na fenda de modo que haja coincidências de camadas, sendo amarradas com o fitilho. A garfagem em *fenda a cavalo*, também denominada garfagem no enxerto, consiste em decepar o porta-enxerto, a certa altura do solo, fazendo com que ele tome a forma de uma cunha. O enxerto é cortado e nele é feita uma fenda. As partes são juntadas e amarradas com o fitilho. É o contrário da garfagem em fenda. Na garfagem a *inglês simples*, tanto no porta-enxerto como no enxerto, faz-se um corte em bisel e unem-se as duas partes com o fitilho, recobrimo com saco plástico. Na garfagem a *inglês complicado* acrescenta-se ao corte em bisel, como no caso anterior, um novo corte a 1/3 da extensão do bisel, o que aumenta muito a aderência e o pegamento entre as partes justapostas, embora implique em maior dificuldade na realização. Em seguida, faz-se o encaixe e o amarrio com o fitilho. Algumas máquinas ou equipamentos foram desenvolvidos para efetuar enxertias automaticamente. Contudo, sua utilização é bastante limitada, sendo mais comum em plantas de videira.

Em contraste à enxertia de garfagem, em que o enxerto consiste de um pedaço destacado de tecidos dos ramos com várias gemas, a *borbulhia* utiliza apenas uma gema e uma pequena seção de casca, com ou sem lenho. Os métodos de borbulhia comumente empregados dependem do “escorregamento” da casca. Esse termo indica uma condição em que a casca (periderme, córtex, floema e câmbio) pode ser facilmente separada do xilema, e deve coincidir com o período do ano em

que a planta encontra-se em crescimento ativo, quando as células do câmbio encontram-se em divisão e os tecidos recém-formados são facilmente removidos da casca e do lenho. A operação de borbulhia é bastante rápida, podendo alcançar valores de 2000 a 3000 enxertias por dia em plantas de roseira, com 90 a 100% de sucesso. A utilização da borbulhia normalmente é confinada a plantas jovens com poucas ramificações.

Dependendo da espécie, a enxertia por borbulhia pode ser realizada com gema ativa ou com gema dormente. O porta-enxerto deve estar soltando a casca, condição essencial para realizar esse tipo de enxertia. O enxerto por borbulhia pode formar uma união mais forte, principalmente durante os primeiros anos, além de ser menos susceptível ao arrancamento por ventos fortes. Há diferentes modalidades de enxertia por borbulhia: borbulhia em T normal, borbulhia em T invertido, borbulhia em janela, borbulhia em escudo e borbulhia anelar.

Na borbulhia em *T normal* (e em *T invertido*), a incisão em T normal é usada para casos comuns e em T invertido para casos em que o cavalo apresenta grande circulação de seiva. Fende-se o cavalo com o canivete no sentido transversal e, depois, no sentido perpendicular, de modo a formar o T normal. A gema é retirada segurando-se o garfo em posição invertida, levanta-se a casca com o dorso da lâmina do canivete, introduzindo-se a borbulha. O T invertido difere do T normal apenas na posição normal do ramo, ou do garfo, para a retirada da borbulha. Esse processo é o preferido pela maioria dos operadores. Deve-se ter o cuidado de fazer a operação o mais rápido possível, para evitar que ocorra a desidratação e oxidação da gema e do porta-enxerto. O amarrio é feito de baixo para cima, utilizando-se uma fita de polietileno, a qual deverá ser retirada tão logo o enxerto tenha brotado. A borbulhia de gema com lenho tem utilização justificada quando a casca não se desprende facilmente, dificultando a enxertia em T. Assim, retira-se a gema com uma porção de lenho, a qual é introduzida no porta-enxerto em uma incisão de mesmo tamanho da borbulha. A borbulhia *em janela*, também denominada borbulhia tipo placa, consiste em fazer uma incisão transversal e duas longitudinais, de modo a formar uma janela

onde é inserida a borbulha. A borbulha em *placa ou em escudo* consiste em se abrir uma placa quadrada ou retangular no porta-enxerto, bem como em retirar-se uma placa com as mesmas dimensões do ramo com as gemas. Para tanto, usa-se um canivete de lâmina dupla. Na borbulha *anelar* deve-se retirar um anel da casca do porta-enxerto e substituir por um anel de casca do enxerto, este dotado de uma gema ou borbulha.

A enxertia por borbulha normalmente é realizada a uma altura de 5 a 20 cm do nível do solo de acordo com a espécie, embora possa ser realizada em qualquer ponto da planta. Decorridos 15 a 30 dias, dependendo da espécie, os amarrios podem ser retirados efetuando-se, a seguir, o forçamento da gema, que pode ser realizado de diversas maneiras como pela decapitação parcial, ou pela torção ou encurvamento do cavalo. Após a brotação da gema, o cavalo é totalmente decapitado.

Apesar de ser o processo de enxertia mais antigo, a *encostia* é o menos empregado, principalmente quando se trata da propagação de plantas em larga escala, uma vez que esse método é complicado e moroso, além de produzir plantas de pior qualidade. Esse processo consiste em se promover a reunião de ramos de duas plantas, cavalo e cavaleiro, estando este último ainda ligado à planta-mãe. Os dois ramos são postos em contato mediante cortes realizados. A separação do ramo-enxerto só é feita depois de verificar a soldadura das duas partes. Existem diversas técnicas de encostia.

Na encostia *lateral simples*, é feito um corte na superfície da casca do enxerto e do porta-enxerto, unindo-se as superfícies com fita de polietileno, ráfia, barbante ou outro material. Na encostia *em lingueta*, que é semelhante à anterior, é feito um segundo corte em ambas as partes, de forma a proporcionar um encaixe entre o porta-enxerto e o enxerto. Na encostia *no topo*, a qual é semelhante à encostia lateral simples, o porta-enxerto é cortado em bisel no seu ápice.

Há outras formas especiais de enxertia. Sua utilização em nível comercial é bem mais restrita, mas estas podem ter aplicação em casos particulares. Uma dessas

formas especiais de enxertia é a *sobre-enxertia*, na qual o porta-enxerto utilizado é uma planta adulta, já previamente formada. A sobre-enxertia é útil em casos em que a copa foi seriamente danificada por pragas ou doenças, em caso de necessidade de troca da cultivar-copa e quando da falta de plantas polinizadoras em um pomar. Normalmente é feita por garfagem (fenda cheia ou fenda dupla), substituindo total ou parcialmente a copa. Dessa forma, é possível produzir-se, em uma mesma planta, diferentes cultivares. A *interenxertia*, caso em que é interposto um enxerto intermediário entre o porta-enxerto e o enxerto, normalmente, através de garfagem é útil quando o enxerto e o porta-enxerto são incompatíveis entre si, devendo-se utilizar um interenxerto compatível com ambos, principalmente quando há necessidade de controlar o vigor da copa devido ao porta-enxerto induzir elevado vigor. A *subenxertia*, realizada quando houve um dano significativo no sistema radicular da planta, consiste em se enxertar, na copa, um novo porta-enxerto, que será total ou parcialmente responsável pela absorção de água e nutrientes. A garfagem, especialmente de fenda dupla, é o sistema mais adotado nesse caso. A *enxertia de ponte* é realizada quando a planta apresenta um dano significativo na casca, a ponto de interromper o fluxo de água, nutrientes e assimilados ou quando o sistema radicular da árvore encontra-se viável e a parte-aérea também, embora uma porção do tronco tenha sido comprometida. Esses danos podem ser causados por acidentes, por roedores, pelo frio ou por doenças e, quando apresentam grande extensão quase sempre levam a planta à morte. Nesse caso, normalmente a enxertia de garfagem permite que sejam colocados ramos sobre a região danificada, de modo a restabelecer o fluxo normal de substâncias.

A enxertia é um método que exige, fundamentalmente, habilidade e cuidados na sua realização. Para tanto, um bom treinamento do enxertador é o primeiro passo para o sucesso da enxertia. Para a realização da enxertia são necessárias algumas ferramentas básicas como tesoura de poda, canivete de enxertia (com lâmina e espátula, podendo ser de lâmina simples ou dupla), pedra de afiar, etiquetas e produtos para desinfestação (normalmente, é utilizado o hipoclorito de sódio). Além

disso, os materiais para amarrão e proteção são indispensáveis. Para tanto, são utilizados os mastiques (misturas de resina, cera de abelha, sebo e solventes), fios de ráfia ou barbantes e fitas de polietileno. Os mastiques apenas reduzem a perda de água e a entrada de microorganismos. Os fios de ráfia ou barbantes apenas dão sustentação ao conjunto de porta-enxerto/enxerto. Assim, devem ser utilizados em conjunto. As fitas de polietileno, além de manter a união da enxertia, reduzem a desidratação do enxerto, as trocas gasosas e a entrada de microorganismos. Sacos plásticos, colocados sobre o conjunto porta-enxerto/enxerto são úteis como câmaras úmidas, no caso de ser realizada a enxertia de garfagem no período de primavera-verão. As máquinas de enxertia são ferramentas extremamente úteis na enxertia em escala comercial, quando se trabalha com grandes volumes de mudas ou não se dispõe de pessoal com grande habilidade.

3.8. Mergulhia:

A *mergulhia* é um método de propagação vegetativa pelo qual um ramo da planta é posto a enraizar quando ainda faz parte da mesma, dela não sendo separado antes de se completar o seu enraizamento. É um processo usado na obtenção de plantas que dificilmente se enraízam por meio de ramos destacados (estaquia), embora sua aplicação comercial seja muito restrita, uma vez que o rendimento é baixo e necessita de muita mão-de-obra. Os fatores que favorecem a regeneração de plantas através da mergulhia são a ausência de luz (que provoca estiolamento do ramo e, por consequência, acúmulo de auxinas e redução dos níveis de lignina e de compostos fenólicos), a cobertura com solo úmido e poroso, a nutrição adequada e a elevada atividade fisiológica da planta-mãe, além da pouca idade dos ramos, a aplicação de fitorreguladores e a prática de anelamento.

Os principais tipos de mergulhia são: aérea e subterrânea. Na mergulhia *subterrânea* há as modalidades simples normal, simples invertida, contínua chinesa, contínua serpenteada e mergulhia de cepa. A mergulhia *aérea* ou *alporquia* é uma

das técnicas mais antigas para se proceder artificialmente a propagação vegetativa, tendo sido utilizada na China há mais de mil anos. Na alporquia, as raízes formam-se na parte-aérea da planta, após a realização de incisões em um galho ou ramo, cobrindo o ponto lesionado com um substrato. Esse substrato pode ser solo preparado ou musgos e deve proporcionar ao ramo coberto uma boa aeração, umidade e temperatura moderada, sendo envolto no ramo e fixado por meio de tecidos ou plásticos.

Normalmente, faz-se a alporquia em ramos de 1 ano, nos quais eliminam-se as brotações laterais em cerca de 15-30 cm antes da gema terminal. Em seguida, faz-se uma incisão anelar no ramo, de modo que o fluxo de carboidratos, auxina e de outras substâncias de crescimento originadas das folhas e das gemas acumule na região onde se pretende o enraizamento. Em geral, a alporquia é realizada a uma distância aproximada de 25 cm antes da extremidade. Podem-se colocar o ácido indolbutírico, o ácido indolacético, o ácido naftalenoacético ou o ácido 2-3-diclorofenoxiacético no ponto lesionado, o que favorece o enraizamento. A alporquia, como em todos os tipos de mergulhia, deve ser feita na época em que as plantas estejam em plena atividade vegetativa. O tempo gasto para realizar a separação do ramo que sofreu alporquia é de aproximadamente dois a três meses, dependendo da espécie. A melhor forma de determinar a época de remoção do ramo que sofreu alporquia é observar a formação de raízes através do plástico transparente. O principal fator limitante da alporquia é manter úmido o substrato envolto no galho, em razão da altura e do fato de este estar amarrado ao galho.

Na mergulhia *simples normal*, um ramo é parcialmente enterrado no solo, deixando sua extremidade superior emergente posicionada verticalmente com o auxílio de um tutor. Do ramo a ser propagado, devem-se retirar as brotações laterais e as folhas que se encontram entre 10 e 60 cm da extremidade. Posteriormente, o ramo é encurvado para o solo e enterrado a uma profundidade de 10 a 15 cm, deixando-se, em média, os últimos 25 cm do ramo para fora. A época ideal para utilizar esse processo é normalmente no princípio da primavera, usando-se gemas

dormentes de um ano de idade em ramos baixos e flexíveis, que podem se dobrar facilmente até o solo. Como regra geral, os ramos de mais de um ano não são indicados para se fazer a mergulhia. Na mergulhia *simples invertida*, o ramo tem sua extremidade superior enterrada no solo. Nesse caso, em virtude de as gemas estarem em posição invertida, o desenvolvimento da planta é modificado, e esta apresenta curvaturas nas folhas e menor porte. Nesse processo, o ramo é puxado para baixo e sua extremidade é enterrada no solo a cerca de 10 cm de profundidade, o mais próximo possível da planta-mãe, para que cresça na vertical. Para facilitar a permanência do ramo nesta posição é indicada a colocação de um tutor. Na mergulhia *contínua chinesa*, o ramo apresenta-se enterrado ao longo do seu comprimento, ficando à mostra apenas sua extremidade apical. O sucesso desse método depende do crescimento das gemas voltadas para cima e do enraizamento correspondente na face do ramo voltada para baixo. É semelhante à mergulhia simples normal, com a diferença de se poder obter novas plantas de um único ramo. Na mergulhia *contínua serpenteada*, a colocação do ramo compreende uma alternância de entradas e saídas no solo, permitindo a formação de mudas normais e invertidas, além de dar ao conjunto um aspecto de serpentina. A mergulhia *de cepa* baseia-se no fato de a capacidade de enraizamento estar ligada à juvenildade da planta. Faz-se uma poda um pouco acima do nível do solo para forçar a emissão de novas brotações a partir de gemas adventícias e dormentes. Em seguida à brotação, é realizada uma amontoa sobre a cepa visando obter-se o enraizamento das brotações. A formação de raízes durante a mergulhia pode ser estimulada por vários tratamentos do caule que causam a interrupção do fluxo de seiva originada nas folhas e nas gemas dos ramos em desenvolvimento, provocando o acúmulo de substâncias de crescimento (carboidratos, auxinas e outros fatores de crescimento) próximo ao local do tratamento. A prática de incisões, anelamentos, etc. aumenta as possibilidades de enraizamento devendo, também, ser feita a desfolha das partes que serão enterradas. Em alguns casos, a aplicação de substâncias estimuladoras de enraizamento no local lesionado, feita em talco, lanolina ou em uma solução, pode

ser benéfica. Outro ponto importante é a manutenção do contato do ramo com o meio de enraizamento que, na mergulhia subterrânea, é realizado por meio de grampos, tutores ou forquilhas. A formação de raízes depende do substrato, que apresenta capacidade de manutenção da umidade, boa aeração e temperatura moderada. Períodos prolongados de seca e solos compactados ou pesados impedem o desenvolvimento das raízes, principalmente nas etapas iniciais do enraizamento. Para facilitar o contato do ramo com o meio de enraizamento e melhorar as condições do solo, sugere-se que seja preparado um sulco com aproximadamente 30 cm de profundidade, no qual podem ser colocados substratos que facilitem o enraizamento.

Outro fator importante em todas as mergulhias subterrâneas é a questão do desmame, ou seja, a separação do ramo da planta-mãe, o qual deverá ser progressivo e operado na base do ramo. Esse procedimento somente deve ser realizado quando houver certeza de que se completou o enraizamento. A mergulhia pode ser natural como um processo de reprodução, sendo observada em amora-preta silvestre ou em amora-preta rasteira, embora também possa ser induzida artificialmente.

3.9. Propagação por Raízes e Ramos Especializados:

Runners: São ramos especializados que se desenvolvem das axilas de folhas da coroa das plantas, crescendo horizontalmente na superfície do solo, formando novas plantas nos nós. O morangueiro é uma planta que apresenta tal característica. Em diversas espécies de morangueiro, os *runners* são formados por influência do fotoperíodo. Os *runners* são produzidos em fotoperíodos maiores que 12 ou 14 horas. Novas plantas são produzidas em nós alternados. Os *runners* produzem raízes mas ainda permanecem ligados à planta-mãe. Novos *runners* são produzidos a partir das plantas filhas. Os ramos de conexão morrem ao final da primavera e no inverno e cada planta se torna individualizada.

Estolhos: São produzidos por algumas plantas por crescimento modificado de ramos e se processa horizontalmente no solo. Estes podem ser prostrados ou alastrados. Estruturas similares aos estolhos estão envolvidas na tuberização, como no caso da batata.

Suckers: São brotações que originam em plantas abaixo do solo. A utilização mais precisa desse termo é para brotações que originam a partir de gemas adventícias nas raízes. Contudo, na prática, ramificações que ocorrem no colo também apresentam essa classificação.

Divisão de Coroas: É um importante método de propagação para herbáceas perenes e para alguns arbustos lenhosos em função da extrema simplicidade. É a técnica utilizada para a propagação em abacaxi e em outras espécies como o lírio, por exemplo.

Bulbos: São órgãos subterrâneos especializados constituídos de um talo central vertical carnoso e curto que suporta um ponto de crescimento apical fechado no ápice ou, então, um primórdio floral recoberto por uma escama densa e carnosa. Os bulbos são produzidos por monocotiledôneas e, geralmente, são estruturas modificadas para armazenamento ou para a reprodução. Muitos bulbos consistem de escamas bulbosas, que nos bulbos tunicados são morfologicamente contínuas, recobrendo folhas basais. As escamas externas dos bulbos são geralmente carnosas e contêm material de reserva. No centro do bulbo encontra-se ou um meristema vegetativo ou uma gema floral não expandida. Os meristemas desenvolvem nas axilas das escamas originando bulbos em miniatura, denominados *bulbilhos*, que quando crescem em tamanho são denominados *rebentos*. Em diversas espécies de lírio os bulbilhos podem ser formados na axila das folhas ou em porções abaixo do solo ou, ainda, nas porções aéreas dos caules. Existem dois tipos de bulbos: os tunicados e os não tunicados. Os bulbos tunicados (laminados) são encontrados em alho, cebola, narciso e tulipa. Esses bulbos apresentam escamas bulbosas externas secas e membranosas. A cobertura, ou túnica, fornece proteção contra dessecação e contra injúria mecânica. Raízes primárias adventícias encontram-se presentes nos bulbos

dormentes enquanto estes são armazenados. Os bulbos não tunicados são observados em lírio. Esses bulbos não possuem a cobertura de proteção seca. As escamas são separadas e ligadas em uma placa basal. Esses bulbos são danificados com maior facilidade. Em muitas espécies raízes contrácteis, espessas e curtas, puxam o bulbo em direção ao solo. As tulipas não produzem raízes contrácteis, mas produzem *droppers*, estruturas similares aos estólons que crescem a partir do bulbo e produzem um bulbo no ápice.

Cormos: Os cormos representam a base entumescida do eixo de um ramo revestido por folhas secas similares a escamas. Em contraste aos bulbos, que são predominantemente folhas em escamas, os cormos são caules duros e subterrâneos apresentando nós e entre-nós distintos. A massa dos cormos consiste em tecidos de armazenamento formados por células de parênquima. Num corno maduro, a base seca das folhas persiste em cada um dos nós, revestindo o corno. Essa cobertura, conhecida como túnica, protege o corno contra injúrias e dessecação. O ápice do corno apresenta uma brotação apical que irá desenvolver na forma de folhas ou de ramos florais. Gemas axilares são produzidas em cada um dos nós. Dois tipos de raízes são produzidas nos cormos. As raízes fibrosas desenvolvem da base do corno-mãe e expandem-se. Raízes carnosas contrácteis desenvolvem da base dos novos cormos. Gladíolo e açafreão são plantas cormosas típicas. Na época de plantio, os cormos representam estruturas de propagação vegetativa. Novas raízes desenvolvem a partir da base e uma ou mais gemas iniciam o desenvolvimento de folhas. A floração tem início com poucas semanas após o início do crescimento vegetativo. Quando ocorre o espessamento da base, novos cormos se formam acima do corno velho nos anos subsequentes. Estruturas similares aos estólons suportam cormos em miniatura (cormelos) no ápice, com desenvolvimento apical a partir da base dos novos cormos. Em gladíolo existe uma competição entre o crescimento vegetativo e o reprodutivo que é controlada pelo fotoperíodo. Dias curtos estimulam desenvolvimento vegetativo enquanto dias longos resultam em floração. Com o

aumento do tamanho dos cormos novos, o cormo velho inicia um murchamento e desintegra, sendo seus nutrientes utilizados para a produção de flores.

Tubérculos: Originam de ramos especiais a partir do hipocótilo e, menos frequentemente, do epicótilo, apresentando crescimento vertical e limitado. Os tubérculos são um tipo de caule entumescido e modificado que funciona como um órgão de armazenamento subterrâneo. A batata (*Solanum tuberosum*) é um exemplo notável de planta que produz tubérculos. Um tubérculo apresenta todas as partes de um caule típico, embora seja muito mais entumescido. Externamente, os olhos presentes em disposição regular sob a superfície, representam os nós, cada um consistindo de uma ou mais pequenas gemas recobertas por uma cicatriz foliar. O arranjo dos nós é em espiral, iniciando com a gema terminal e terminando com a cicatriz oposta, resultante da ligação ao estolho. A gema terminal do tubérculo é apical, orientada distalmente à coroa da planta. Conseqüentemente, o tubérculo mostra a mesma dominância apical de qualquer caule. Dominância apical também ocorre em tubérculos de inhame (*Dioscorea alata*). Internamente o tubérculo de batata é composto por células de parênquima dilatadas contendo grande quantidade de amido. Além disso, o tubérculo apresenta a mesma estrutura interna de qualquer caule, com medula, áreas vasculares e córtex. O processo de tuberização ocorre a partir de caules estiolados sob condições de fotoperíodo curto ou intermediário, temperaturas noturnas baixas, alta intensidade luminosa, baixo conteúdo mineral e aumento de citocininas e de inibidores, como o ácido abscísico, além de redução nos níveis de giberelina. A tuberização é causada pela produção de uma substância indutora relacionada a uma proteína de tuberização produzida nas folhas e no tubérculo mãe. A propagação pode ser realizada com o tubérculo inteiro ou com partes deste, desde que pelo menos uma gema (olho) seja mantida na porção. *Begonia evansiana* e *Dioscorea batatas* produzem pequenos tubérculos aéreos na axila das folhas. Estes podem ser removidos e, posteriormente, plantados. Nessas espécies, dias curtos induzem a tuberização.

Raízes e caules tuberosos: Uma raiz ou um caule tuberoso inclui vários tipos de estruturas com crescimento tuberoso espesso que funcionam como órgãos de armazenamento. Anatômica e morfológicamente essas estruturas são diferentes dos tubérculos. A batata-doce (*Ipomea batatas*), a mandioca (*Manihot esculenta*) e a dália (*Dahlia*) são exemplos de plantas que apresentam raízes tuberosas. A batata-doce apresenta raízes entumecidas nas quais tanto gemas adventícias quanto raízes adventícias são produzidas. Os caules tuberosos são produzidos pelo engrossamento de porções do hipocótilo das plântulas, podendo incluir os primeiros nós do epicótilo e uma parte da raiz primária. Plantas típicas com esse tipo de material são o cliclâmem e a begônia. Essas estruturas apresentam orientação vertical, com uma ou mais gemas vegetativas produzidas na porção superior ou na coroa. Raízes fibrosas são produzidas na porção basal da estrutura. Plantas que produzem raízes tuberosas são geralmente bianuais. O fotoperíodo e não a temperatura é o fator de controle dominante para a tuberização. Dias curtos induzem tuberização, o que também é estimulado por retardantes de crescimento. Raízes tuberosas são produzidas sob dias longos e após aplicação de giberelinas. Raízes tuberosas de mandioca são formadas pela ativação de células meristemáticas na presença de citocininas. O método de propagação usual das raízes tuberosas é por divisão da coroa, onde cada seção ostenta uma gema vegetativa.

Rizomas: Os rizomas originam-se da plúmula do embrião e representam um tipo especializado de caule em que o eixo principal da planta cresce horizontalmente ou logo abaixo da superfície do solo. Diversas plantas de interesse econômico apresentam essa característica como, por exemplo, a banana, a cana-de-açúcar, o bambu e diversas outras gramíneas. Outras espécies ornamentais também apresentam rizomas, como a *Iris* e o Lírio-do-Vale. Um exemplo de dicotiledônea que apresenta rizoma é o mirtilo de baga azul (*Vaccinium angustifolium*), que possui caules subterrâneos classificados como rizoma. Muitas samambaias e outras criptógamas apresentam rizomas ou estruturas similares a rizomas. Nos rizomas típicos, o caule aparece segmentado uma vez que é composto por nós e entre-nós.

Uma folha similar a uma bainha é ligada a cada nó. Estas recobrem o caule e originam a folhagem. Quando as folhas e bainhas desintegram, uma cicatriz é deixada no ponto de ligação, dando uma aparência de segmentação. Raízes adventícias e laterais crescem na vizinhança dos nós. Dois tipos de rizoma são encontrados. Os paquimórficos, que apresentam crescimento determinado, cujo exemplo é observado em *Iris*. Esses rizomas tendem a ser horizontalmente orientados e as raízes originam do lado de baixo. Nos rizomas leptomórficos, como os do Lírio-do-Vale, o crescimento é indeterminado com disseminação por toda a área. Tipos intermediários também existem sendo denominados mesomórficos.

A divisão é o procedimento usual de propagação das estruturas rizomatosas, variando de acordo com o tipo de rizoma. Nos rizomas paquimórficos seções individuais são cortadas no ponto de ligação com o rizoma. O topo é cortado e pedaços deste são transplantados. Nos rizomas leptomórficos a propagação se processa pela remoção de ramificações laterais do rizoma e subsequente transplântio. A propagação pode ser realizada pelo corte de seções do rizoma, tomando-se o cuidado para que cada porção permaneça com uma gema lateral. As bananeiras são propagadas dessa maneira. Esse método apresenta melhor adaptação em rizomas leptomórficos, nos quais gemas laterais dormentes são encontradas em quase todos os nós. Os rizomas quebrados ou cortados formam raízes e brotações adventícias a partir dos nós. Em plantas que apresentam grandes rizomas, tais como o bambu, as brotações aéreas (colmos), com três a quatro nós, podem ser utilizadas como estacas, que são colocadas horizontalmente no solo, originando novas ramificações a partir dos nós.

Pseudo-bulbos: São estruturas de armazenamento especializadas produzidas por muitas espécies de orquídeas, consistindo de uma seção carnosa e alargada apresentando um ou vários nós. Os pseudobulbos originam durante a estação de crescimento nos ápices das brotações ou terminalmente a partir de rizomas horizontais. Folhas ou flores formam-se ou na porção terminal ou na base dos pseudobulbos, dependendo da espécie. Durante a estação de crescimento eles

acumulam materiais de reserva e água, disponibilizados para a planta durante o período de dormência subsequente. Em algumas espécies de orquídea como *Dendrobium*, os pseudobulbos são longos e ligados, apresentando vários nós. Na base dos pseudobulbos ramificam-se raízes. Os ramos enraizados são cortados e plantados. Algumas das mais importantes espécies de orquídea, como *Cattleya*, *Laelia*, *Miltonia* e *Odontoglossum*, podem ser propagadas por divisão de rizomas. *Cymbidium* é propagada por um sistema em que as folhas são retiradas e o pseudobulbo é mantido durante o período de brotação e enraizamento em sementeira. Após algum tempo, em seguida à formação das raízes, o pseudobulbo cortado pode ser retirado e o material é definitivamente envasado. O pseudobulbo pode ser novamente utilizado para a propagação.

Xilopódios: Em algumas formações vegetais brasileiras, principalmente nos cerrados, caatinga e nos campos rupestres, ocorrem, com certa frequência, sistemas subterrâneos espessados com certo grau de lignificação e de natureza caulinar ou radicular, além das formas mais comuns de cormos e bulbos. Os primeiros relatos a respeito dessas estruturas foram feitos por Lindman, em 1906, quando ele descreveu a presença dessas estruturas nos campos “Amarantáceos” do Brasil, denominando-as xilopódios. Tais órgãos garantem às espécies que os possui sobrevivência nos períodos desfavoráveis e possibilitam a recuperação da parte aérea morta durante uma seca prolongada ou sob a ação do fogo. Outros autores sugerem a separação dos xilopódios em divisões de acordo com o tipo de desenvolvimento desses sistemas, se caulinar ou se radicular, enquadrando-os, de um modo geral como estruturas para multiplicação vegetativa. Alguns autores detalham a caracterização desses sistemas, como no caso de *Selaginella*, em que o sistema caulinar não apresenta correlação com os estabelecidos. Por suas características de órgãos portadores de raízes, embora aparentemente também acumulem reservas, e pela peculiaridade de se tratar de um caule com crescimento geotrópico positivo, tais estruturas foram denominadas *rizóforos*. Embora apresentem variações, na maioria dos casos a origem dos rizóforos é caulinar. O eixo espessado dos rizóforos, embora

possa ser frágil, pode alcançar profundidades consideráveis no solo, apresentando regiões tuberizadas que quando bem desenvolvidas, evidenciam nós e entre-nós. Quando uma tuberosidade é formada na extremidade terminal desse eixo o crescimento longitudinal cessa. Dessas formações, e somente delas, partem as raízes favorecendo à hipótese de que uma importante função dessas estruturas caulinares subterrâneas seja a de “portadoras de raízes” ou rizóforos.

Segundo a hipótese de Raunkiaer, de 1937, a evolução dos vegetais se deu com a finalidade de esconder e proteger as gemas para que a planta sobreviva às estações desfavoráveis. Ele sugere que tenha ocorrido uma evolução de sistemas caulinares aéreos passando a subterrâneos que, por sua vez, devido à diminuição dos entre-nós tornaram-se mais e mais reduzidos formando rizomas, cormos e bulbos, nesta ordem. Os bulbos seriam os mais derivados de todos.

4. Cultivo *in vitro* e suas aplicações:

Os princípios teóricos da cultura de tecidos de plantas foram propostos ainda no século XIX com as teorias da totipotência das células vegetais, mas somente no início do século XX, em 1902, é que realmente apareceram os primeiros trabalhos de Haberlandt, com o cultivo de tecidos somáticos de várias espécies de plantas. Haberlandt não obteve sucesso com seus experimentos, porém previu o uso da cultura de células como um meio elegante para o estudo de problemas fisiológicos e morfológicos.

Hannig, em 1904, utilizando algumas espécies de crucíferas foi o primeiro a descrever na literatura o cultivo de embriões imaturos *in vitro*. Mais tarde, Knudson, em 1922, também obteve sucesso com embriões de orquídeas e, em 1925, Laibach, conseguiu recuperar embriões de híbridos incompatíveis de plantas do gênero *Linum*, dando os primeiros passos para a utilização da técnica no melhoramento genético de plantas. Desde então, inúmeras conquistas foram alcançadas. White, em seus estudos em 1934, elaborou um meio líquido para o cultivo de ápices radiculares de

tomate que permitia o cultivo dos tecidos por longos períodos. Esse meio apresentava em sua composição sais inorgânicos, sacarose e extrato de levedura, que eram responsáveis pela manutenção do desenvolvimento das plantas. Ainda hoje, apesar de ter sofrido algumas modificações na sua composição inicial, como a troca do extrato de levedura por vitaminas, o meio White (White, 1937) é utilizado em vários trabalhos de cultura de tecidos de plantas. Murashige & Skoog (1962) desenvolveram um meio nutritivo denominado meio “MS”, em que os níveis de nutrientes inorgânicos tiveram como base a constituição do extrato de folhas de fumo. Dessa forma, esses autores conseguiram reproduzir com maior fidelidade os níveis de nutrientes naturalmente necessários para o desenvolvimento das plantas. Atualmente, o meio MS é um dos mais utilizados em trabalhos de cultura de tecidos, mostrando-se adequado para as mais diversas finalidades. O descobrimento e a utilização dos fitormônios (reguladores de crescimento), tais como as auxinas e as citocininas, também tiveram papel preponderante para o avanço da cultura de tecidos. Essas substâncias, como foi observado mais tarde, possuem grande influência no padrão de desenvolvimento de órgãos, tecidos e células vegetais. Hoje, sabe-se que o correto balanço desses fitormônios, assim como o fornecimento adequado de nutrientes, pode determinar o sucesso ou o fracasso de um cultivo em particular. Com o passar dos anos, a função de cada constituinte do meio nutritivo foi intensamente estudada, sendo bem conhecida atualmente. Devido à existência de diversas formulações de meios utilizadas de forma geral em cultura de tecidos, a composição dos meios nutritivos pode variar enormemente, dependendo da proposta a que se destina o cultivo *in vitro*. Sendo assim, estudos prévios sobre as exigências nutritivas das plantas são necessários, sobretudo quando se trata do cultivo *in vitro* de novas espécies.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Dentre todas as aplicações da cultura de tecidos de plantas, sem dúvida, as de maior impacto foram relacionadas à sua utilização no melhoramento genético e na recuperação de genótipos livres de vírus e de outros agentes fitopatogênicos. No primeiro caso, a utilização da cultura de tecidos no desenvolvimento de novas

cultivares ocorre das mais diversas formas, algumas vezes, sendo responsável diretamente pelo processo de melhoramento e, em outras, apenas contribuindo em alguma etapa do processo. A utilização da *micropropagação* para limpeza clonal ganhou força ainda na década de 60, principalmente devido à inexistência de produtos que pudessem controlar viroses em plantas. No passado, muitos genótipos de plantas de grande potencial agrônômico caíram em desuso devido à baixa produção ocasionada pelas altas taxas de contaminação por vírus, principalmente em espécies propagadas vegetativamente. Atualmente, a produção de matrizes a partir de meristemas isolados, em paralelo ao uso de cultivares resistentes, é a forma mais efetiva de evitar os danos causados pelas viroses. O cultivo *in vitro* também tem sido utilizado para a formação e intercâmbio de germoplasmas, produção de sementes sintéticas, microenxertia e estudos de biologia vegetal, além de outras inúmeras aplicações.

A produção comercial de plantas *in vitro* é uma prática bastante utilizada em diversos países da Europa, Ásia, Estados Unidos e também no Brasil. A técnica da clonagem tem se mostrado de enorme importância prática e potencial na agroindústria de flores, espécies frutíferas, florestais e olerícolas. O método se baseia na produção de plantas mais uniformes, saudáveis e a uma velocidade muito maior do que nos métodos convencionais, sem considerar a manutenção de quantidades consideráveis de plantas por metro quadrado dentro dos frascos em laboratórios protegidas do ataque de pragas, doenças e intempéries. Laboratórios que se dedicam à multiplicação de plantas em larga escala são denominados biofábricas. O processo de biofabricação de plantas envolve basicamente cinco etapas: - a) a seleção e desinfestação dos materiais que servirão como fonte de explante; b) o estabelecimento do explante em meio de cultura; c) a multiplicação dos propágulos através de sucessivos subcultivos; d) o alongamento e enraizamento das plântulas *in vitro*; e) o transplante para casa de vegetação e aclimatização.

Na área de plantas ornamentais, onde predominam plantas híbridas como gérbera, cravo, tulipa, orquídea etc., a clonagem *in vitro* de matrizes selecionadas

tem permitido a compatibilização de demandas específicas dos mercados interno e externo, com atributos importantes, como época de floração, coloração, tamanho e forma das flores, número de flores por planta, comprimento e resistência das hastes florais, tamanho e vigor das plantas. No caso de espécies frutíferas, particularmente abacaxi e banana, por exemplo, a expansão para novas áreas de cultivo tem sido possibilitada principalmente pela oferta suficiente de mudas, assim como pelo alto padrão fitossanitário das mudas obtidas pelas técnicas de cultivo *in vitro*.

Um problema comumente observado em plantas cultivadas *in vitro*, principalmente quando estas sofrem excessivo número de repicagens ou quando passam pela fase de calo, é o surgimento de plantas com características morfológicas distintas da planta-matriz. O cultivo *in vitro* ocasiona uma condição de estresse nos tecidos, o que provoca distúrbios durante a divisão celular, denominados *variações somaclonais*. A princípio, o fenômeno foi encarado como um problema para a produção de mudas micropropagadas, no qual se deseja que todos os clones preservem com fidelidade as características da planta-matriz. Porém, mais tarde, a variação somaclonal foi vista pelos melhoristas de plantas como uma forma de explorar melhor a variabilidade genética. As cultivares comerciais de tomate “DNAP 9”, com alto teor de sólido solúveis, e a cultivar de pimentão “Bell Sweet”, com menor número de sementes no fruto, são exemplos típicos de seleção de variantes somaclonais obtidos *in vitro*. Em ambas as cultivares, apesar da ocorrência da variação genética em seu genoma, todas as características agrônômicas originais foram preservadas.

A maioria das variações somaclonais origina-se de distúrbios ocorridos durante o processo de separação dos cromossomos duplicados na anáfase mitótica, ocasionando poliploidias, aneuploidias, quebras e pontes cromossômicas. Entretanto, algumas vezes, essas alterações não são herdáveis, por não se manterem estáveis durante as divisões mitóticas, sendo denominadas alterações *epigenéticas*. Alterações na sequência de nucleotídeos na fita de DNA, denominadas mutação de ponto, também já foram descritas como sendo fruto da variação somaclonal. Da

mesma forma que o cultivo *in vitro* proporciona o aparecimento de variantes genéticas, mutações podem ser induzidas artificialmente por outros fatores. A incidência de raios ultravioletas e a aplicação de substâncias mutagênicas diretamente sobre células, tecidos ou órgãos de plantas, podem elevar consideravelmente a taxa de mutações gênicas, cromossômicas e extranucleares. Apesar de a indução artificial de mutações ser utilizada *in vivo* há bastante tempo, sua aplicação *in vitro* mostrou-se mais atraente, pois permite manipular em pequenos espaços grandes quantidade de células vegetais, o que reduz consideravelmente os riscos dessa prática, visto que agentes mutagênicos podem causar problemas em humanos. Além disso, soma-se o fato de redução nas chances de aparecimento de quimeras, ou seja, a presença no mesmo indivíduo de tecidos geneticamente distintos. É interessante ressaltar que mesmo a ocorrência de mutações deletérias pode ser de grande valia, quando estas são utilizadas em estudos de metabolismo vegetal e de expressão de genes. O uso de agentes mutagênicos combinado com sistemas de seleção em cultura de tecidos vegetais, seja para localizar mutações em cadeias biossintéticas específicas, seja para identificar genótipos resistentes ou tolerantes a fatores causadores de estresse, oferece amplas perspectivas para reduzir os custos de determinados programas de melhoramento.

Uma variação bastante interessante da técnica de cultura de tecidos vegetais é a regeneração de plantas a partir de protoplastos. O protoplasto nada mais é do que a célula vegetal individualizada, desprovida das paredes celulares. *A priori*, protoplastos podem ser isolados de qualquer tecido vegetal, mas geralmente tecidos como os do mesófilo foliar ou de calos friáveis são mais indicados. Em tecidos tenros e não lignificados, há uma maior facilidade de isolamento, obtendo-se um maior rendimento no número de protoplastos viáveis. A eliminação das paredes celulares dá-se pela ação de enzimas pectocelulolíticas, que digerem os componentes das paredes celulares, liberando a célula vegetal que fica envolta apenas pela membrana celular. As células vegetais, nessa condição, podem ser manipuladas de várias formas,

com aplicações em diversas áreas da pesquisa em vegetais, mas é principalmente no melhoramento de plantas que vislumbram as maiores potencialidades da utilização de protoplastos. A variação somaclonal, descrita anteriormente, também é observada nas culturas de protoplastos, pois o próprio fato de manter em cultura um tecido desorganizado durante um longo período favorece o surgimento de variações genéticas. Nesse caso, a seleção de determinada característica torna-se mais simples, devido à facilidade de impor uma pressão seletiva mais homogênea. Fica fácil, portanto, selecionar em meio de cultura linhagens de células tolerantes a herbicidas, patógenos ou a outros estresses, tais como toxidez provocada por metais tóxicos ou uma baixa disponibilidade de nutrientes. A mutação artificial também pode ser empregada em protoplastos, da mesma forma que é utilizada em tecidos e órgãos, sendo que, nesse caso, praticamente ficam anuladas as chances de surgirem quimeras, já que as novas plantas originam-se de uma única célula.

Uma utilização de protoplastos no melhoramento de plantas está relacionada à produção de híbridos somáticos entre espécies diferentes. Inúmeros mecanismos naturais impedem a formação de híbridos entre espécies por cruzamento sexual. Com a possibilidade de fundir duas células distintas, originando uma nova célula que contenha os genes de ambas, todas as barreiras pré- e pós-zigóticas são eliminadas. A fusão de protoplastos cria a possibilidade de formação de híbridos até entre gêneros diferentes. No Quadro 1 estão relacionados exemplos de hibridações interespecíficas e intergenéricas que foram realizadas com sucesso.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Quadro 3 – Híbridos somáticos produzidos por fusões de protoplastos

Entre gêneros	Entre espécies
<i>Solanum tuberosum</i> + <i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Nicotiana tabacum</i> + <i>N. repanda</i>
<i>Daucus carota</i> + <i>Aegopodium padagraria</i>	<i>N. tabacum</i> + <i>N. rustica</i>
<i>D. carota</i> + <i>Petroselinum hortense</i>	<i>Solanum tuberosum</i> + <i>S. nigrum</i>
<i>Citrus sinensis</i> + <i>Poncirus trifoliata</i>	<i>Datura innoxia</i> + <i>D. discolor</i>
<i>Brassica oleracea</i> + <i>Sinapis turgida</i>	<i>Brassica oleracea</i> + <i>B. campestris</i>
<i>B. oleracea</i> + <i>Moricandia arvensis</i>	<i>B. napus</i> + <i>B. campestris</i>
<i>Nicotiana tabacum</i> + <i>Hyoscyamus muticus</i>	<i>Oryza sativa</i> + <i>O. officinalis</i>
<i>Lycopersicon peruvianum</i> + <i>Petunia hybrida</i>	<i>O. sativa</i> + <i>O. eichingeri</i>
<i>Oryza sativa</i> + <i>Echinochloa oryzicola</i>	<i>O. sativa</i> + <i>O. brachyantha</i> .

FONTE: Dados básicos: Carneiro et al. (1998).

Diferentes mecanismos podem ser utilizados para que ocorra a fusão de protoplastos, quer seja por choques de corrente elétrica, eletrofusão ou mediado por um agente químico, como polietilenoglicol. No caso da eletrofusão, os protoplastos são submetidos a um campo elétrico de corrente alternada de alta frequência, que promove uma polarização, isto é, um hemisfério positivo e o outro negativo, criando uma força de atração entre as células adjacentes. Uma vez alinhados, os protoplastos podem se fundir, devido ao surgimento de poros na membrana plasmática, ocasionados pela aplicação de pulsos rápidos de corrente contínua de alta voltagem (500 V/cm). Embora essa fusão já tenha sido descrita na literatura, até o momento, não foi obtido um híbrido entre duas espécies que seja capaz de produzir, ao mesmo tempo, frutos e tubérculos. Outra forma usada para promover a fusão de protoplastos é a utilização de soluções com elevada concentração de cátions, 50 a 100 mM de Ca^{2+} , e polietilenoglicol (PEG). A solução salina neutraliza a repulsão causada pelas cargas negativas da membrana, enquanto o PEG aumenta a viscosidade do meio, promovendo a agregação dos protoplastos. Após a fusão dos protoplastos, obtêm-se vários tipos de células em cultura: protoplastos não fundidos, híbridos entre dois tipos de células e fusões de células idênticas. Por meio de corantes específicos, consegue-se separar os híbridos de interesse dos outros protoplastos. Embora a técnica de hibridação somática seja bastante promissora, ela

ainda apresenta limitações que inviabilizam seu uso de forma generalizada. Para muitos dos cruzamentos testados, verificam-se dificuldades para a regeneração do híbrido e para manter a estabilidade genética. Além disso, muitos dos híbridos regenerados são infertéis, só se multiplicando vegetativamente. De modo geral, as limitações tendem a ser maiores, à medida que aumenta a divergência genética entre os indivíduos envolvidos.

Uma das aplicações da cultura de tecidos que têm auxiliado muito programas de melhoramento de plantas é a de *resgate de embriões*. Devido ao intenso processo de domesticação imposto pelo homem às espécies de plantas cultivadas, muitos dos genes que conferiam tolerância e resistência a estresses bióticos e abióticos foram perdidos. Uma das consequências da redução da variabilidade genética foi a dificuldade, por parte dos melhoristas, em localizar fontes de resistência ou tolerância em acessos de uma mesma espécie. Frequentemente, é necessário que o melhorista recorra à variabilidade existente em espécies silvestres para obter novos genes de tolerância e resistência. Muito embora, em alguns casos, o cruzamento sexual entre espécies diferentes seja possível, ocorrendo fusão dos gametas e formação do embrião, não é raro o abortamento desse embrião, devido a uma má formação do endosperma ou por barreira pós-zigótica. A técnica de resgate de embriões em meio de cultura permite que estes se desenvolvam normalmente, possibilitando a obtenção de híbridos inespecíficos, intraespecíficos, intergenéricos e, em alguns casos, até mesmo entre espécies de famílias distintas, facilitando, sobremaneira, a busca do melhorista por genes de interesse.

Para que o meio artificial utilizado em cultura de tecidos possa substituir o endosperma na sua função de nutrir o embrião, é necessário que todas as exigências nutricionais do embrião sejam bem conhecidas. Dependendo do estágio de desenvolvimento, o embrião pode requerer apenas os nutrientes inorgânicos e uma fonte de carboidrato no meio de cultura, mas para embriões muito jovens, frequentemente, há necessidade de suplementação do meio com fitormônios, antioxidantes, vitaminas, além de outras substâncias necessárias ao

desenvolvimento. O cultivo de embriões em meio artificial também é utilizado frequentemente, quando existem dificuldades na ocasião da fecundação. Nesse caso, a fertilização se dá *in vitro*, com a eliminação das barreiras pré-zigóticas e do estigma, com a deposição do pólen diretamente sobre o saco embrionário. O óvulo fecundado é, então, cultivado artificialmente dando origem ao embrião. De modo geral, o que se observa com maior frequência é o cultivo do óvulo fecundado em associação ao ovário ou a partes dele. O tecido do ovário é responsável pela produção e fornecimento em quantidade adequada de várias substâncias essenciais para o desenvolvimento do embrião. Dessa forma, evita-se o labor de testar composições de meio.

A produção de linhagens superiores, para formação de híbridos, necessita de um longo período para que se possa atingir a condição de homozigose. Essa homozigose, geralmente, é alcançada após sete a nove gerações de autofecundação, correspondendo de sete a nove anos de trabalho para o melhorista. Quando se trata de espécies perenes, a expectativa de tempo para obtenção de linhagens em homozigose é muito maior. Uma forma de acelerar a produção de linhagens em homozigose seria por meio da produção de plantas *haplóides* seguida da duplicação dos cromossomos, num processo denominado haplodiploidização. Com o uso dessa técnica, a partir de uma população F1, podem-se obter, em apenas uma geração, populações de linhagens em homozigose perfeita, ou seja, que apresentam todos os *loci* em homozigose. Isso corresponde a um ganho de tempo fantástico para o melhoramento, facilitando enormemente a obtenção de novas cultivares.

A aquisição do tecido haplóide dá-se pelo cultivo de células germinativas, que apresentam apenas a metade da constituição genética da espécie. No caso de uma planta diplóide, como o milho, cujo genoma é composto por 20 cromossomos, suas células germinativas só apresentam metade desse número, ou seja, dez cromossomos. Consequentemente, as plantas haplóides, originadas dessa célula germinativa, também terão apenas dez cromossomos. Após a obtenção da planta haplóide, o restabelecimento da diploidia ocorre de forma natural ou por indução

com colchicina, substância que inibe a polimerização das fibras do fuso durante a divisão mitótica, impedindo a migração dos cromossomos. Dessa forma, plantas haplóides podem se originar por dois processos diferentes: processo gimnogenético, quando se originam de células reprodutivas do sistema feminino e processo androgenético, quando se originam de células reprodutivas do sistema masculino. Para a produção de plantas haplóides, o *cultivo de anteras* é mais utilizado do que o cultivo de ovários. As anteras possuem um grande número de micrósporos, podendo gerar centenas de novos indivíduos a partir de uma única antera, enquanto os óvulos apresentam apenas um saco embrionário, podendo gerar apenas um indivíduo por óvulo. Além disso, a resposta *in vitro* da cultura de óvulo ou ovário é menos eficiente do que a cultura de anteras e micrósporos.

A possibilidade de produção de semente sintéticas foi encarada com maior seriedade a partir do momento que os estudos de *embriogênese somática in vitro* começaram a evoluir. O termo *embriogênese somática* é utilizado para descrever o processo de formação de embriões a partir de células somáticas ou haplóides. De forma semelhante aos embriões zigóticos, embriões somáticos apresentam uma estrutura bipolar, constituída de um ápice caulinar e de um ápice radicular, além de apresentarem um sistema vascular fechado, sem conexão com o tecido do explante inicial. Essas características diferenciam embriões somáticos dos propágulos resultantes do processo de micropropagação e de organogênese. Entretanto embriões zigóticos diferem de embriões somáticos pela ausência nestes últimos da recombinação genética proporcionada pela união dos gametas e pela ausência do endosperma. Dessa forma, a embriogênese somática caracteriza-se por ser uma propagação vegetativa. A formação de embriões somáticos ocorre de forma natural e um exemplo típico é a formação de embriões nucelares em citros. Esses embriões, por serem geneticamente idênticos à planta que lhes deu origem, permitem a perpetuação de populações clonais por meio de sementes.

No processo de fabricação de *sementes sintéticas*, os embriões somáticos são *encapsulados em hidrogel*. Num esquema de produção de sementes sintéticas

utilizando o processo de embriogênese direta, os embriões surgem diretamente do tecido original. Na embriogênese indireta, os embriões originam-se do tecido que se diferenciou na forma de calos. O material mais utilizado para encapsular os embriões é o *alginato de sódio*, devido as suas propriedades gelificantes, baixo custo, facilidade de uso e ausência de fitotoxidez. Há ainda, a possibilidade de adicionar vários componentes ao gel, tais como sais minerais, carboidratos, reguladores de crescimento, pigmentos opacos etc., simulando a constituição do endosperma. Como vantagens do uso de sementes sintéticas, podemos destacar a produção de um grande número de embriões somáticos dentro de um curto período, a necessidade de um espaço físico reduzido, a manutenção da identidade clonal, a produção das sementes independente de efeitos sazonais e a ausência de estruturas para aclimação das plântulas. Entretanto, a técnica ainda possui algumas limitações, tais como a baixa resistência à dessecação, intolerância aos danos mecânicos do processo e as baixas taxas de difusão do oxigênio e do CO₂.

As técnicas de cultura de tecidos de plantas *in vitro* podem contribuir em todas as etapas do processo de conservação de germoplasma, incluindo a coleta, indexação para doenças, quarentena, multiplicação, caracterização, avaliação, armazenamento e distribuição. Para espécies que se propagam vegetativamente, a conservação de germoplasma requer altos custos com mão-de-obra e disponibilidade de grandes áreas. Além disso, essas coleções estão sujeitas ao ataque de pragas e doenças. Para espécies que se propagam através de sementes, apesar de ser a maneira mais eficiente de conservação, esta nem sempre é adequada, uma vez que algumas plantas não produzem sementes facilmente, algumas sementes permanecerem viáveis por apenas um curto período, algumas sementes são altamente heterozigotas e, dessa forma, não são adequadas para a manutenção dos mesmos genótipos. Além disso, as sementes de algumas espécies deterioram-se rapidamente, devido à ocorrência de patógenos internos.

Embora para algumas culturas esta seja uma alternativa adequada, para muitas outras a conservação de germoplasma *in vitro* talvez não seja uma boa opção.

Os problemas vão desde o custo e volume de trabalho elevado até o comprometimento da integridade genética, devido à ocorrência de variações somaclonais. Entretanto, devido aos grandes benefícios que esta técnica oferece, um intenso volume de pesquisa na área de recursos genéticos está sendo desenvolvido com o objetivo de viabilizar a conservação de germoplasmas *in vitro*.

A cultura de tecidos também é um passo quase obrigatório para a obtenção de plantas geneticamente modificadas. Apesar de recentemente estar sendo desenvolvidos métodos de transformação que não necessitam passar pela cultura de tecidos, até o momento, a grande maioria das plantas geneticamente manipuladas que já estão sendo utilizadas pelo homem, fez uso da cultura de tecidos. No caso de transformação via bactéria *Agrobacterium tumefaciens*, há uma etapa de co-cultivo do tecido vegetal (discos foliares ou embriões são cultivados na presença da bactéria que contém o gene a ser transferido). A bactéria infecta o tecido e transfere o DNA plasmidial, contendo o gene de interesse para o genoma da planta. Posteriormente, o tecido vegetal é regenerado em meio de cultura na presença de antibióticos ou herbicidas que permitem apenas o crescimento das plantas transformadas. No caso da transformação por biobalística, partículas microscópicas de ouro ou tungstênio contendo DNA aderido a sua superfície, são disparadas a grande velocidade contra o tecido vegetal. Posteriormente, as células que tiveram as moléculas de DNA incorporadas ao seu genoma são recuperadas em meio de cultura seletivo. No processo de transformação por eletroporação em protoplastos ou micrósporos (célula precursora do grão de pólen), pulsos elétricos ou uma solução de PEG proporcionam o aparecimento de poros na membrana plasmática, permitindo que as moléculas de DNA penetrem no interior celular.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

5. Literatura Consultada:

BRICKELL, C. **American horticultural society encyclopedia of plants and flowers**. American Horticultural Society. DK. 2011, 744 p.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G-J. **Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background**. 3rd Ed., Springer. Dordrecht, 2008, 501 p.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. **Plant propagation: principles and practice**. 8th. Edition. Pearson New International Edition, Pearson Education Limited, Essex, 2013, 928 p.

HOFFMAN, A.; CHALFUN, N. N. J; ANTUNES, L. E. C.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M. REZENDE e SILVA, C. R. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. UFLA-FAEPE, Lavras, 1996, 319 p.

JACKSON, M.B. (ed) **New root formation in plants and cuttings**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1986, 265 p.

LISEI de SÁ, M.E.; CANÇADO, G.M.A.; SOUZA, C.M. Cultivo de plantas *in vitro* e suas aplicações. **Informe Agropecuário**, v. 21, p. 116123, 2000.

MACDONALD, P. T. **The manual of plant grafting: practical techniques for ornamentals, vegetables, and fruit**. Timber Press. Portland, 2014, 232 p.

MENEZES, N.L.; MULLER, C.; SAJO, MG. Um novo e peculiar tipo de sistema subterrâneo em espécies de *Vernonia* da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil). **Boletim Botânica da USP**, n. 7, p. 33-38, 1979.

PAIVA, H. N.; GOMES, J.M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Apostila 322, UFV, Viçosa, 1993, 40 p.

Plantas: Série Atlas Visuais. 4^a ed., Editora Ática S.A., São Paulo, 1995, 63 p.

ROCHA, D.C.; MENEZES, N.L. O sistema subterrâneo de *Dioscorea kunthiana* Uline ex R. Knuth (Dioscoreaceae). **Boletim Botânica da USP**, n. 16, p. 1-13, 1997.

TOOGOOD, A. **Enciclopedia de la propagacion de plantas**. Leopold Blume, Barcelona, 2000, 320 p.

TOOGOOD, A. R. **The royal horticultural society propagating plants**. Series RHS, DK Publisher, London, 2006, 320 p.